

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

**FORMULACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE
ANTIFÚNGICO A BASE DE GELATINA, GLICEROL Y NATAMICINA
ENCAPSULADA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA PARA
SU APLICACIÓN EN FRESA (*Fragaria vesca*).**

**PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA
AGROINDUSTRIAL**

RAYSA DALILA ORTIZ MACAS
raysaortizmacas@yahoo.com.ar

DIRECTOR: ING. MAURICIO ESTEBAN MOSQUERA JORDÁN, Ph. D.
mauricio.mosquera@epn.edu.ec

Quito, abril 2017

© Escuela Politécnica Nacional (2017)
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo, Raysa Dalila Ortiz Macas, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Raysa Dalila Ortiz Macas

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la Srta. Raysa Dalila Ortiz Macas, bajo mi supervisión.

Ing. Mauricio Mosquera Jordán, Ph. D.
DIRECTOR DE PROYECTO

AGRADECIMIENTO

Al Padre todopoderoso, por iluminar mi camino y bendecirlo.

A mis padres y hermanos, por enseñarme que todo es posible con constancia y dedicación.

A mi director, el doctor Mauricio Mosquera por brindarme su guía y apoyo para la culminación de este trabajo. A todo el personal de Bioprocesos por brindarme las facilidades necesarias por la culminación de este proyecto y a todos mis compañeros de laboratorio por su apoyo.

A mis amigos Tatiana, Willian y Maribel por darme una mano en momentos difíciles y no permitirme abandonar este sueño; y a todas y cada una de las personas que aportaron con un granito de arena para dar por culminado este trabajo.

Por último pero no por eso menos importante, les agradezco a Fernando y sus padres por toda la ayuda brindada, que a pesar de todo, su apoyo y palabras de aliento fueron de mucha importancia para culminar este trabajo.

DEDICATORIA

*A mi hija Antonella, el tesoro máspreciado de mi vida,
que ha sido la fuente de mi inspiración y
el motor para seguir luchando y no dejarme desmayar.
A mis padres por el apoyo recibido para seguir adelante,
a pesar de los múltiples equivocaciones cometidas.*

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	ix
INTRODUCCIÓN	x
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 Importancia del consumo de frutos frescos en el Ecuador	1
1.1.1 Frutos frescos en el Ecuador	1
1.1.1.1 Fruta	1
1.1.1.2 Producción mundial de frutas frescas	2
1.1.1.3 Producción de frutas en Ecuador	3
1.1.2 Importancia del consumo de frutas	3
1.1.3 Ventajas de las frutas frescas sobre las frutas procesadas	6
1.1.4 La fresa	8
1.1.4.1 Origen	8
1.1.4.2 Taxonomía	9
1.1.4.3 Morfología	9
1.1.4.4 Aspectos agronómicos	10
1.1.4.5 Manejo agronómico	11
1.1.5 Manejo postcosecha de la fresa	15
1.1.5.1 Factores internos y externos que intervienen en el deterioro de la fresa	15
1.1.6 Tratamientos postcosecha aplicados a la fresa	18
1.1.6.1 Tratamientos térmicos	18
1.1.6.2 Irradiación	18
1.1.6.3 Recubrimientos	18
1.1.6.4 Atmósferas controladas	19
1.2 Recubrimientos comestibles para frutas	19
1.2.1 Recubrimientos comestibles	20
1.2.1.1 Componentes de los recubrimientos	21
1.2.1.2 Recubrimientos comestibles compuestos	25
1.2.2 Compuestos antimicrobianos aplicados a recubrimientos	25
1.3 Encapsulación de sustancias en fosfolípidos	26
1.3.1 Método de encapsulación	28
1.3.2 Caracterización	28
1.3.2.1 Tamaño	28
1.3.2.2 Índice de Polidispersión	29
1.3.2.3 Potencial zeta	30
1.3.3 Aplicaciones de los liposomas en la industria de alimentos	31
2. PARTE EXPERIMENTAL	32

2.1	Evaluación del efecto de la concentración de natamicina y fosfatidilcolina en la encapsulación de natamicina en liposomas de fosfatidilcolina	32
2.1.1	Materiales	32
	2.1.1.1 Reactivos	32
	2.1.1.2 Equipos	33
2.1.2	Producción de fosfatidilcolina	35
2.1.3	Encapsulación de natamicina en liposomas de fosfatidilcolina	35
2.1.4	Aislamiento del hongo patógeno	36
2.1.5	Inhibición del crecimiento del hongo	36
2.1.6	Tamaño, índice de polidispersidad y potencial Z de los liposomas	37
2.1.7	Análisis estadístico	37
2.2	Determinación de la mejor formulación para la elaboración de un recubrimiento a base de gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina	38
2.2.1	Formulación del recubrimiento	38
2.2.2	Evaluación de la actividad antifúngica	38
2.2.3	Análisis estadístico	39
2.3	Evaluación del efecto del recubrimiento en la calidad postcosecha de la fresa (<i>Fragaria vesca</i>)	39
2.3.1	Pérdida de peso	40
2.3.2	Firmeza	40
2.3.3	Color	40
2.3.4	Sólidos solubles totales, pH y acidez titulable	41
2.3.5	Polifenoles totales	42
2.3.6	Capacidad antioxidante	42
2.3.7	Análisis microbiológico	43
2.3.8	Análisis sensorial	43
2.3.9	Análisis estadístico	43
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
3.1	Evaluación del efecto de la concentración de natamicina y fosfatidilcolina en la encapsulación de natamicina en liposomas de fosfatidilcolina	44
3.1.1	Tamaño de liposomas de fosfatidilcolina	45
3.1.2	Índice de polidispersión	49
3.1.3	Potencial zeta	50
3.1.4	Aislamiento del hongo patógeno	54
3.1.5	Inhibición de <i>Botrytis spp.</i>	57
3.2	Determinación de la mejor formulación para la elaboración de un recubrimiento a base de gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina	62
3.3	Evaluación del efecto del recubrimiento en la calidad postcosecha de la fresa (<i>Fragaria vesca</i>)	65
3.3.1	Pérdida de peso	67
3.3.2	Firmeza	69
3.3.3	Color	72

3.3.4	Acidez titulable, pH y sólidos solubles totales	75
3.3.4.1	Sólidos solubles totales (SST)	76
3.3.4.2	Potencial hidrógeno (pH)	78
3.3.4.3	Acidez titulable	79
3.3.5	Polifenoles totales	81
3.3.6	Capacidad antioxidante	84
3.3.7	Análisis microbiológico	86
3.3.8	Sensorial	88
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	92
4.1	Conclusiones	92
4.2	Recomendaciones	93
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
	ANEXOS	115

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1.1. Composición química de la fresa	8
Tabla 1.2. Control de plagas y enfermedades de la fresa	13
Tabla 3.1. Capacidad antifúngica en función de la concentración de la natamicina	44
Tabla 3.2. Tamaño promedio de liposomas de fosfatidilcolina	45
Tabla 3.3. Análisis estadístico de varianza para el tamaño de los liposomas	46
Tabla 3.4. Índice de polidispersión para liposomas de fosfatidilcolina	49
Tabla 3.5. Promedio de potencial zeta de los liposomas	50
Tabla 3.6. Análisis estadístico de varianza para el potencial Z	51
Tabla 3.7. Porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo <i>Botrytis spp.</i>	57
Tabla 3.8. Análisis estadístico de varianza para porcentaje de inhibición	58
Tabla 3.9. Porcentaje de la actividad antifúngica de las formulaciones	62
Tabla 3.10. Análisis estadístico de varianza para determinar la mejor formulación	63
Tabla 3.11. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza respecto al tiempo de almacenamiento	66
Tabla 3.12. Variación de parámetros de color (Método CIELab) para las fresas con y sin recubrimiento en función del tiempo de almacenamiento	72
Tabla 3.13. Sólidos solubles totales, pH y acidez titulable en función del tiempo de almacenamiento	76
Tabla 3.14. Valores de polifenoles totales en mg equivalentes de ácido gálico (AG) por cada 100 g de fresa, durante el tiempo de almacenamiento. Para fresas sin recubrimiento (SR) y con recubrimiento (CR)	82
Tabla 3.15. Análisis estadístico de varianza para el contenido de polifenoles totales en fresas sin recubrir y recubiertas	83
Tabla 3.16. VCEAC mg/100 g de muestra respecto al tiempo de almacenamiento	85
Tabla 3.17. Análisis estadístico de varianza para la capacidad antioxidante en fresa con recubrimiento y sin recubrimiento	85

Tabla 3.18. Valores de hongos y levaduras expresadas en UFC/g de fresas para fresas recubiertas y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento	87
Tabla 3.19. Tabla ANOVA para mohos de fresas con recubrimiento y sin recubrimiento	87
Tabla AIII.1. Prueba de múltiple rangos por método LSD con 95 % de confianza para tamaño de liposomas	120
Tabla AIII.2. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para actividad antifúngica de formulaciones	120
Tabla AIII.3. ANOVA para la pérdida de peso	121
Tabla AIII.4. ANOVA para la firmeza	121
Tabla AIII.5. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para la firmeza	121
Tabla AIII.6. ANOVA para la luminosidad	122
Tabla AIII.7. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para la luminosidad	122
Tabla AIII.8. ANOVA para el parámetro a*	122
Tabla AIII.9. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % de confianza para cromaticidad a*	123
Tabla AIII.10. ANOVA para sólidos solubles totales	123
Tabla AIII.11. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para sólidos solubles totales	123
Tabla AIII.12. Análisis de varianza para el pH	124
Tabla AIII.13. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para pH	124
Tabla AIII.14. ANOVA para la acidez titulable	124
Tabla AIII.15. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para acidez titulable	125
Tabla AIII.16. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para apariencia general de la fresa	125
Tabla AIII.17. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para textura de fresa	125

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1.1. Promedio de consumo a escala nacional de verduras y frutas, por edad y sexo, (g/día)	5
Figura 1.2. Morfología de la fresa (<i>Fragaria vesca</i> .)	10
Figura 1.3. Funcionalidad de un recubrimiento comestible	21
Figura 1.4. Estructura de un liposoma con una sustancia acuosa encapsulada, bicapa conformada por moléculas de fosfatidilcolina	27
Figura 1.5. Doble capa eléctrica, derecha distribución de iones positivos y negativos alrededor del coloide cargado e izquierda densidad de carga alrededor del coloide	30
Figura 3.1. Diagrama de Pareto para el tamaño de liposomas	46
Figura 3.2. Diámetro medio de los liposomas entre los distintos tratamientos	47
Figura 3.3. Efecto de los factores (A y B) e interacciones estadísticamente significativas sobre el potencial Z	51
Figura 3.4. Interacción de la concentración de fosfatidilcolina y natamicina para el potencial Z	52
Figura 3.5. Potencial Z en función de la concentración de fosfatidilcolina y natamicina	53
Figura 3.6. Fresas (<i>Fragaria vesca</i>) con ataque de <i>Botrytis spp.</i>	55
Figura 3.7. Conidios e hifas aéreas de <i>Botrytis cinerea</i> . Derecha (a y b) bibliografía izquierda fotos de hongo aislado	56
Figura 3.8. Diagrama de Pareto para el porcentaje de inhibición del crecimiento	58
Figura 3.9. Superficie de respuesta para el porcentaje de inhibición de crecimiento	59
Figura 3.10. Porcentaje de actividad antifúngica vs formulaciones	63
Figura 3.11. Pérdida de peso en fresas respecto al tiempo de almacenamiento. Líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)	68
Figura 3.12. Firmeza de fresas con recubrimiento (CR) y sin recubrimiento (SR) resto al tiempo de almacenamiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)	71

Figura 3.13. Variación de la luminosidad en función del tiempo de almacenamiento para fresas con recubrimiento (CR) y sin recubrimiento (SR). Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)	73
Figura 3.14. Variación del parámetro a* respecto a días de almacenamiento para fresas con y sin recubrimiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)	75
Figura 3.15. Sólidos solubles totales de fresas con y sin recubrimiento, expresado en ° Brix en función del tiempo de almacenamiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=10)	77
Figura 3.16. Potencial hidrógeno (pH) en función del tiempo de almacenamiento para fresas con recubrimiento y sin recubrimiento. Líneas verticales muestran la desviación estándar (n=10)	79
Figura 3.17. Acidez titulable en % respecto al tiempo para fresas recubiertas y sin recubrir	80
Figura 3.18. Fresa sin recubrimiento y fresa con recubrimiento	89
Figura 3.19. Gráfica de medias para la apariencia de fresas recubiertas y sin recubrir	89
Figura 3.20. Gráfico de medias para fresa con recubrimiento y sin recubrimiento	90
Figura AI. 1. Izquierda halo de inhibición para 5 concentraciones entre 0,3121 a 5 g/L; derecha 8 concentraciones de natamicina entre 0,625 a 1,25 g/L	118
Figura AI.2. Pruebas de inhibición para las tres formulaciones probadas con sus réplicas	118
Figura AII.1. Perfil de humedad y temperatura para el almacenamiento de fresas	118
Figura AIV.1. Curva de calibración para polifenoles totales	125
Figura AV.1. Curva de calibración para capacidad antioxidante	126

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	
Placas de inhibición de natamicina a diferentes concentraciones	117
ANEXO II	
Perfil de temperaturas y humedad relativa en la cámara de almacenamiento	118
ANEXO III	
Resultado de análisis estadístico de diferentes parámetros	119
ANEXO IV	
Curva de calibración para polifenoles totales	125
ANEXO V	
Curva de calibración para la capacidad antioxidante	126
ANEXO VI	
Formato de la evaluación sensorial	127

RESUMEN

La fresa es una fruta bastante apreciada, en nuestro medio, por su olor, color y de manera especial, por su valor nutricional, el cual trae muchos beneficios para la salud de los consumidores. Por desgracia, es una fruta muy perecible debido a su alto contenido de agua y fragilidad de su piel, por tanto es susceptible a cualquier tipo de daño físico, mecánico o microbiológico. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un recubrimiento comestible preparado con base en gelatina (8 % p/v), glicerol (1 % v/v), como plastificante y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina (50 % v/v), como agente antifúngico; en la calidad fisicoquímica, organoléptica y microbiológica de la fresa (*Fragaria vesca*) mediante métodos estandarizados. La fruta provino del mercado San Roque de la Ciudad de Quito, se procedió a seleccionarla, lavarla con agua para quitarle impurezas y escurrirla. Se inoculó el hongo *Botrytis spp.*, en los frutos, por medio de aspersion y se aplicó el recubrimiento mediante inmersión de la fruta en el mismo. Finalmente se empacaron las frutas en tarrinas de polietileno tereftalato (PET) y se almacenaron por 11 días, a condiciones ambientales ($T 21 \pm 2,6$ °C y HR de $75 \pm 8,4$ %).

De acuerdo con el análisis ANOVA realizado, se determinó una diferencia estadísticamente significativa, con un nivel de 95 % de confianza, entre las fresas con recubrimiento y las sin recubrir. Para la mayoría de los parámetros analizados como: porcentaje de pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles totales, pH, acidez titulable, polifenoles totales y capacidad antioxidante; la aplicación del recubrimiento presentó un efecto positivo. No presentó un efecto significativo sobre el color de la fruta tanto en luminosidad como en el color rojo. Respecto a la actividad antifúngica, se evidenció que disminuyó en un 99 % la concentración tanto de mohos como de levaduras. La encapsulación de natamicina en liposomas de fosfatidilcolina dio como resultado liposomas estables por su tamaño y potencial zeta. De manera general, se puede decir que el recubrimiento aportó significativamente a la reducción de la maduración y senescencia de la fruta y sus consecuentes cambios fisiológicos. Finalmente, se evaluó la aceptabilidad del recubrimiento, que mostró poca aceptación en cuanto a la apariencia en general y textura; aunque el sabor residual agradó levemente.

INTRODUCCIÓN

Existen datos donde se muestra que el Ecuador, pierde alrededor del 40 % de toda la producción agrícola, en la etapa de postcosecha, debido a las malas condiciones de almacenamiento y transporte (Carvajal, 2012, p. 4). Debido a esto, se buscan alternativas para disminuir o contrarrestar estas pérdidas; estudios han demostrado que los recubrimientos son una alternativa para conservar los alimentos por mayor tiempo, ya que éstos pueden disminuir la pérdida de humedad, contrarrestar la pérdida de turgencia, disminuir el intercambio gaseoso y de esta manera incrementar el tiempo de vida útil de los alimentos, además que puede servir como soporte para otros aditivos como antifúngicos, vitaminas, saborizantes y colorantes, que ayudan a mejorar las propiedades funcionales del recubrimiento (Han y Gennadios, 2005, p. 254). La desventaja de los recubrimientos es su alto costo de implementación comercial y el uso de materiales costosos por su poca disponibilidad; es por ello que se buscan alternativas menos costosas y más saludables (Lacroix y Vu, 2014, p. 278). Por esta razón la incorporación de aditivos, junto con matrices-soporte comestibles de bajo costo, permitiría una mayor persistencia tras su aplicación y a la vez permitiría la disminución de las dosis efectivas de los compuestos bioactivos (Burt, 2004, p. 232). Estudios realizados han demostrado la utilidad de los liposomas como matrices-soporte de compuestos bioactivos, por su parecido a las membranas biológicas (Mozafari, 2005, p. 715). Además al usar los recubrimientos se disminuye la contaminación por los envases de polietileno convencionales, ya que los recubrimientos son biodegradables (Arvanitoyannis y Gorris, 1999, p. 358).

La fresa es muy apreciada por su dulce sabor y agradable color, pero es un producto muy perecible debido a que tiene una piel tan delgada que la hace muy susceptible a daños mecánicos y posterior ataque de microorganismos patógenos. Acuña y Llerena identificaron al hongo *Botrytis cinerea* como el causante de las pérdidas más importantes en la postcosecha de la fresa. La natamicina es un antifúngico natural que proviene de la bacteria *Streptomyces nateiensis*, posee un alto espectro de acción contra levaduras, mohos y hongos; además, no tiene ningún efecto negativo sobre el sabor o apariencia del alimento (Delves-Broughton,

Thomas y Williams, 2006, p. 19).

Con la realización de este proyecto se pretende disminuir las pérdidas económicas por la pérdida postcosecha de la fresa, con la obtención de un recubrimiento comestible que mejore la vida útil de la fruta y mantenga su calidad.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el uso de liposomas de fosfatidilcolina como matriz de soporte de la natamicina y medir su eficiencia antifúngica, mediante la elaboración de un recubrimiento comestible, por lo tanto se definieron los siguientes objetivos específicos: evaluar el efecto de la concentración de natamicina y fosfatidilcolina en la encapsulación de natamicina en liposomas de fosfatidilcolina; determinar la mejor formulación para la elaboración de un recubrimiento preparado con base en gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina y evaluar el efecto del recubrimiento en la calidad postcosecha de la fresa (*Fragaria vesca*).

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 IMPORTANCIA DEL CONSUMO DE FRUTOS FRESCOS EN EL ECUADOR

Las frutas debido a su diversidad de formas, colores y sabores son muy llamativas, pero además de eso contienen muchos nutrientes que son muy beneficiosos para la salud de quien las consume (Astiasarán y Martínez, 2000, p. 191).

1.1.1 FRUTOS FRESCOS EN EL ECUADOR

En el Ecuador, la fruticultura es una actividad ampliamente difundida, ya que permite a pequeños y medianos agricultores asegurar la comercialización de sus variados productos. Existen cultivos frutales en la región costa, sierra y amazonía; pero la fruticultura ecuatoriana se centra en la sierra por sus condiciones climáticas, edáficas y sociales. Esta actividad ha ido incrementando gradualmente en las últimas décadas, gracias al aumento del consumo de frutas frescas en la ingesta diaria de la población (Agustí, 2010, p. 2).

La gran variedad de especies frutales existentes en el Ecuador, hace que sean un producto ampliamente aceptado por el consumidor, esto se debe a que cada fruta cuenta con sus características propias y gracias a estas diferencias, no solo pueden degustar de ellas como fruta frescas, sino también en distintas preparaciones (Astiasarán y Martínez, 2000, p. 191).

1.1.1.1 Fruta

La definición que da el código Alimentario Español para la fruta es: “fruto, infrutescencia, semilla o parte carnosa de órganos florales que han alcanzado un grado apropiado de madurez y sean adecuadas para el consumo humano”

(Astiasarán y Martínez, 2000, p. 191).

Para una adecuada caracterización química de las frutas se toma en cuenta dos aspectos: el tipo de fruta (frescas, secas, deshidratadas, carnosas, oleaginosas) y grado de madurez (madurez fisiológica o madurez de cosecha). La parte comestible de una fruta fresca carnosas está compuesta generalmente de agua (75 % - 90 %), azúcares (5 % - 18 %), ácidos orgánicos y polisacáridos (0,5 % - 6 %) y grasas y proteínas en pequeñas cantidades. Algunas frutas contienen grasas (0,1 % - 0,5 %) proteínas (0,1 % - 1,5 %) en las semillas. Los aromas, colorantes y compuestos fenólicos astringentes se encuentran en mínima cantidad pero son fundamentales para la aceptación organoléptica de la fruta. Otros componentes como la fibra, minerales (potasio y magnesio) y vitaminas (C, A) se encuentran en cantidades mínimas, según cada fruta, además producen efectos favorables a la salud.

Los frutos secos están compuestos de agua (< 10 %, con excepción del coco 48 % y castañas 47 %), proteínas alrededor del 20 %, lípidos alrededor del 50 % y carbohidratos variando desde un 5 % en coco hasta un 41% en castañas (Astiasarán y Martínez, 2000, p. 192).

1.1.1.2 Producción mundial de frutas frescas

De acuerdo con las estadísticas realizadas por la FAO (2012, p. 1), en el mundo se producen 636,5 millones de toneladas de frutas (exceptuando melones y tubérculos). El país con mayor producción de frutas es China, con 137 millones de toneladas que corresponden al 22 % del total de la producción mundial (FAOSTAT, 2012).

Los melones y bananas son los cultivos más cosechados a nivel mundial, estos en conjunto llegaron a 100 millones de toneladas; las manzanas, naranjas y uvas obtuvieron un total de 70 millones de toneladas; las cinco frutas mencionadas conforman el 60 % de la producción total (Tecnología de Horticultura Mediterránea, 2012, p. 1).

1.1.1.3 Producción de frutas en Ecuador

El Ecuador, es privilegiado por su ubicación geográfica y coexistencia de diversos microclimas, esto favorece la producción de una gran variedad de cultivos frutales, tanto templados como tropicales cuyo resultado son frutas de excelente calidad (PROECUADOR, 2012, p.1).

Según el INEC, el uso del suelo para labores agropecuarias (cultivos permanentes, cultivos transitorios y barbechos, pastos naturales y cultivados) fue de 19,4 % de la superficie total en el 2014; es decir, 5,5 millones de ha de acuerdo con la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC), de las cuales el 50,18 % corresponden a la superficie hortofrutícola, esto representa 2 756,610 ha y de estas 1 092,094 ha para hortalizas y 1 664,516 ha para frutas (INEC, 2014, p. 11).

Manabí, Guayas y Los Ríos poseen el 43,85 % del total nacional de actividad agropecuaria, por tanto, la región Costa tiene la actividad agropecuaria más alta a nivel nacional (INEC, 2014, p. 62).

Ecuador produce frutas tropicales y de clima templado, dentro de las cuales están: el banano, piña, mango, pitahaya, papaya, naranjilla, limón (tahití, sutil), tomate de árbol, mora, maracuyá, uvilla, kiwi, guanábana, guayaba, granadilla, pera, fresa, manzana, uva, ciruela, entre otras. Aunque existen una mayor variedad de frutas, las mencionadas son las más conocidas y de mayor importancia económica (PROECUADOR, 2012, p.1).

1.1.2 IMPORTANCIA DEL CONSUMO DE FRUTAS

Las frutas son indispensables dentro de una dieta saludable para los humanos, ya que aportan vitaminas y fibra, esenciales para un buen estado de salud (Astiasarán y Martínez, 2000, p. 191).

El aporte de los carbohidratos, como la fructosa y en menor cantidad la glucosa y

sacarosa, es esencial, debido a que son fácilmente absorbidos por el cuerpo, es por esto que el consumo de frutas es indispensable en la dieta diaria, ya que estas aportan mayor cantidad de energía que las verduras. Además, poseen alto contenido de fibra localizada en su mayoría en la piel, son ricas en potasio, su aporte lipídico es mínimo y son una buena fuente de vitaminas: C, E y betacarotenos. Las frutas también cumplen una función antioxidante en el cuerpo (Astiasarán, Martínez y Muñoz, 2015, p. 37).

Los frutos frescos, además de su exquisito sabor y refrescante aroma, son capaces de aportar importantes minerales, vitaminas y otros compuestos bioactivo a la alimentación humana. Recientes estudios han mostrado que existe una correlación directa entre la ingesta de frutas y la disminución del riesgo de sufrir enfermedades crónicas (Vasco, Ruales y Kamal-Eldin, 2008, p. 816).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala, que la ingesta diaria de frutas y verduras debe ser al menos de 400 g por persona (no consideran tubérculos con mucho contenido de almidón incluido la papa) (World Health Organization, 2003, p. 56). El informe presentado sobre la salud en el mundo, elaborado por la OMS y publicado en el 2002, revela que se podrían salvar cerca de 1,7 millones de vidas por año con el consumo óptimo de frutas y verduras. El escaso consumo de frutas y verduras se encuentra entre los 10 factores más importantes de riesgo que favorecen a la mortalidad atribuible; por tanto, favorece a la mortalidad por enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), como las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (WHO, 2004, p. 1).

Una gran cantidad de países de ingresos medios y bajos han ido modificando su dieta alimenticia en las últimas décadas (Monteiro, Benicio, Conde y Popkin, 2000, p. 342; Rivera, Barquera, González, Olaiz y Sepúlveda, 2004, p. 150), han pasado de dietas altas en fibras y carbohidratos complejos a dietas altas en azúcares simples y grasas saturadas (Popkin, 2006, p. 291). Este fenómeno se ha incrementado por una elevada tasa de urbanización existente en los diferentes países (Steyn, Nel, Parker, Ayah y Mbithe, 2012, p. 230), lo cual con frecuencia va de la mano con un aumento en la inactividad física, además de incrementar el

número de habitantes con sobrepeso y obesidad (Bauman et al., 2012, p. 263; Hallal et al., 2012, p. 248). Según el INEC, en un estudio realizado en el 2011, en Ecuador las principales causas de muerte fueron la diabetes mellitus tipo 2, enfermedades hipertensivas y cerebrovasculares. Varios estudios realizados en distintos países han evidenciado que la baja actividad física, el consumo de tabaco y el consumo de dietas altas en azúcares, sal y grasas incrementan la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles (OMS, 2003, p. 13).

Actualmente, la ingesta de frutas y verduras es muy variable alrededor del mundo. En países con pocos recursos y en vías de desarrollo, el consumo per cápita tiene un promedio de 100 g / día; mientras que, en los países europeos occidentales es de 450 g / día aproximadamente (WHO, 2004, p. 1).

Latinoamérica y el Caribe tienen un consumo de frutas y verduras deficiente, está por debajo de los 400 g per cápita (recomendado); es por esta razón que la OMS ha lanzado múltiples campañas alrededor del mundo para fomentar el incremento del consumo de frutas y verduras (WHO/FAO, 2005, p. 14). En Ecuador, de acuerdo con la encuesta nacional de salud y nutrición realizada por el INEC, el consumo medio de verduras y frutas, en mujeres y hombres de los diferentes grupos étnicos, está por debajo de los 400 g diarios recomendados por la OMS, lo que equivale a consumir 5 raciones diarias de verduras y frutas (Freire et al., 2013, p. 54).

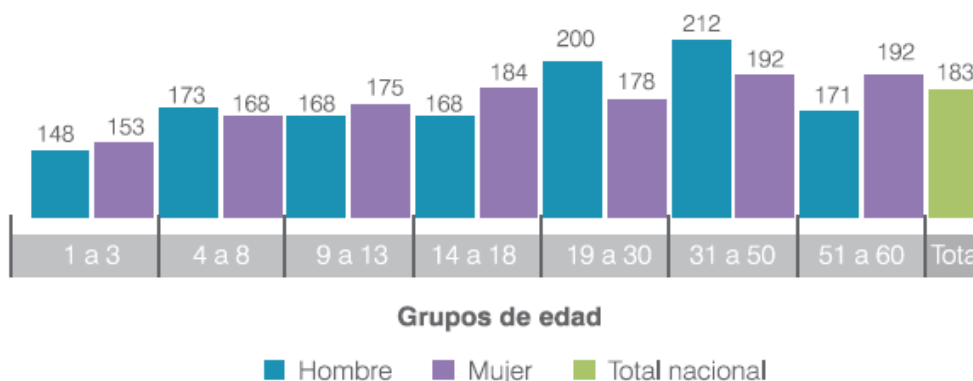


Figura 1.1. Promedio de consumo a escala nacional de verduras y frutas, por edad y sexo, (g/día)

(Freire et al., 2013, p. 54)

1.1.3 VENTAJAS DE LAS FRUTAS FRESCAS SOBRE LAS FRUTAS PROCESADAS

En décadas recientes, la forma de vida urbana, la lejanía entre el lugar de trabajo y la casa, la mujer insertada en el mercado laboral, ha provocado cambios en la alimentación; por ende, el tipo de alimentos que se consume también ha tenido que cambiar. Hoy en día se buscan alimentos de fácil preparación, consumo inmediato y de larga duración, por lo que los alimentos procesados son la mejor opción (FAO, 2013). A más de que los alimentos sean de fácil preparación y consumo inmediato los consumidores demandan que los alimentos posean: buen sabor y textura, garanticen una alta calidad, sean seguros para consumirlos y proporcionen beneficios para la salud (Caballero, Finglas y Toldrá, 2016, p. 767).

Ecuador tubo un significativo desarrollo económico en los últimos años lo que ha permitido un aumento en los ingresos de sus habitantes, esto se ha evidenciado en el aumento del consumo de alimentos procesados. En el 2013 Ecuador incrementó en un 8 % el consumo de frutas y hortalizas procesadas respecto al consumo en 2011, alcanzando \$ 1 200 millones. (PRO-ECUADOR, 2013).

Las frutas procesadas son el resultado de someter a una fruta fresca a una serie de operaciones como: selección, lavado, desinfección, pelado, entre otras; las operaciones dependerán del producto que se desea obtener. Además para procesar una fruta ésta debe poseer las mejores características como: madurez óptima, calidad fisicoquímica, microbiológica y organoléptica (Castro, 2010, p. 71).

El procesamiento de alimentos es el conjunto de operaciones necesarias para obtener un determinado producto, con el objetivo de incrementar la vida útil en los mismos, procurando minimizar la pérdida de sus propiedades naturales principalmente su valor nutricional. (CISAN, 2010, p. 1; Rodríguez, 2011, p. 154).

El procesamiento de alimentos crea productos llamativos y exquisitos para los consumidores (CISAN, 2010, p. 1). Además, permite la disponibilidad no estacional de los alimentos y esto hace posible el abastecimiento de los mismos para las

poblaciones urbanas (CISAN, 2010, p. 1). Entre los productos de frutas procesadas se encuentran: mermeladas, confituras y jaleas (el azúcar es el mayor aportante energético), jugos (se obtiene al exprimir frutas frescas y limpias), néctares (contienen azúcar y agua su concentración final de fruta es del 25 al 50 %), concentrados (mejor estabilidad que los zumos; contenido de extracto seco 60 – 75 %), frutas en conserva (usan jarabe de azúcar), frutas congeladas (presentan pérdida de vitaminas) y encurtidos (conservas por acidificación) (Castro, 2010, pp. 78-79; Astiasarán y Martínez, 2000, pp. 202-210).

Los aditivos y conservantes de los alimentos procesados, representan un gran problema para la salud de los consumidores; el problema se agrava cuando la ingesta de productos procesados es frecuente, ya que se ha demostrado que esto provoca irascibilidad, envejecimiento prematuro e inflamación corporal en los consumidores (Meilán, 2014, p. 1; Warjri, 2016, p. 1).

Las frutas poseen carbohidratos de manera natural; pero, al procesarlas el contenido de azúcar aumenta; ingerir azúcar en elevada cantidad (presente en la mayoría de las frutas procesadas) puede provocar un incremento del riesgo de sufrir enfermedades del corazón, caries en los niños, obesidad y diabetes tipo 2. Según la American Heart Association, el consumo diario de azúcar en las mujeres no debe ser mayor a 100 cal o 25 g y en los hombres no debe pasar de 155 cal o 38,75 g (Bruso, 2008, p. 1).

En el procesamiento de frutas, los aditivos más utilizados son: benzoatos, sulfitos, sorbatos, fosfatos, ácido cítrico y ascórbico, colorantes y saborizantes artificiales. Se ha referido que pueden provocar deterioro en la salud de algunas personas, a pesar de ser catalogados como seguros para el consumo (Bruso, 2008, p. 1; Castro, 2010, p. 72).

Las frutas frescas contienen muchos nutrientes, entre ellos vitaminas, minerales, fibras y antioxidantes, los cuales se mantienen intactos a diferencia de las frutas procesadas, las cuales pierden estos nutrientes debido a los múltiples tratamientos a los que son sometidos (Bruso, 2008, p. 1; Warjri, 2016, p. 1).

1.1.4 LA FRESA

La fresa es un fruto ampliamente difundida en el mundo debido a su delicioso sabor, alto contenido de vitaminas A y C e intenso aroma (Barquero et al., 2007, p. 4). Es parte de la dieta diaria de miles de personas por todos los beneficios a la salud que esta brinda (Kalt, Forney, Martin y Prior, 1999, p. 4 638).

Tabla 1.1. Composición química de la fresa

Constituyente	Promedio
Sólidos totales (%)	7,0 - 12,7
Sólidos solubles totales (%)	4,6 - 11,9
Azúcares totales (%)	4,1 - 6,6
Sacarosa (%)	0,2 - 2,5
Fructosa (%)	1,7 - 3,5
Glucosa (%)	1,4 - 3,1
Pectinas solubles (%)	0,2 - 0,9
pH	3,18 - 4,10
Acidez titulable (%)	0,50 - 1,87
Ácido cítrico (%)	0,42 - 1,24
Acido málico (%)	0,09 - 0,68
Ácido ascórbico total o vitamina C (mg/100g)	26 - 120
Fenoles totales (mg/100 g)	58 - 210
Antocianinas totales (mg/100 g)	55-145

(Kader, 1991, p. 146)

1.1.4.1 Origen

En el mundo existe una gran cantidad de especies de fresas, por ello no se conoce su origen exacto. Algunos coinciden en que tiene origen Europeo en la zona de los Alpes; mientras que, otros mencionan que es de origen chileno (Ávila, 2015, p. 10).

En Europa y Rusia, se cultivaron por siglos las fresas silvestres o del bosque (*Fragaria vesca*) y fresas de almizcle (*Fragaria mostacha*). En Chile se cultivó fresón chileno (*Fragaria chiloensis*). A inicios de 1700 se sembró *Fragaria virginiana* (macho) del Este de Estados Unidos y *Fragaria chiloensis* (hembra), el cruce de éstas dio como resultado al híbrido *Fragaria x ananassa*, fresa que se cultiva en la

actualidad, es una planta perenne, pequeña y herbácea (Angulo, 2009, p. 5; FAO, 2009, p. 1; Rieger, 2006, p. 1; ZIPMEC, 2013).

1.1.4.2 Taxonomía

Según Palomino (2008), la fresa se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera (p. 62):

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Género: *Fragaria*

Especie: sp.

1.1.4.3 Morfología

Raíz: es fibrosa y fasciculada, se compone de raíces estructurales y raicillas. Las raíces estructurales salen de la corona a nivel del suelo y sirven de soporte mientras que las raicillas absorben agua y nutrientes. Profundizan máximo a 30 cm, pero su máxima actividad es a los 20 a 25 cm. Debido a la cantidad de raicillas deben tener un suelo drenado y suelto (Ávila, 2015, p. 12; Angulo, 2009, p. 6).

Tallo: es una roseta de aproximadamente 2,5 cm, de forma cónica denominado corona. Contiene tejidos vasculares de los cuales brotan diferentes tipos de yemas que forman peciolas que soportan las hojas, flores y estolones (Angulo, 2009, p. 7; Ávila, 2015, p. 12; Miserendino, 2012, p. 2).

Estolón: es una yema auxiliar vegetativa de las hojas, tallo rastrero que forma una planta hija (Angulo, 2009, p. 7; Ávila, 2015, p. 12).

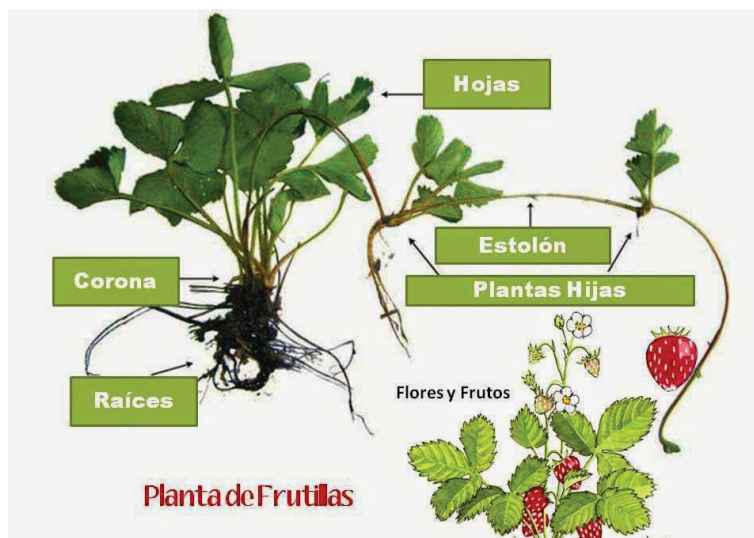


Figura 1.2. Morfología de la fresa (*Fragaria vesca*.)
(Angulo, 2009, p. 6)

Hoja: está conformada en roseta trifoliada largamente peciolada de borde aserrado con gran cantidad de estomas (300-400/mm²), por lo que pierde agua con facilidad por transpiración (Angulo, 2009, p. 7).

Flores: es una inflorescencia con ramificación basal o distal formada a partir de yemas terminales de la corona o yemas auxiliares de las hojas, las flores son de color blanco con 5-6 pétalos (Ávila, 2015, p. 12; Miserendino, 2012, p. 2).

Fruta: es la parte comestible de color rojo intenso o pálido de forma cónica globosa o de corazón; pero, en realidad es un falso fruto que resulta del crecimiento del receptáculo floral, el verdadero fruto son los pequeños puntos que se aprecian circundando la misma fresa llamados aquenios y que generalmente son erróneamente llamados semillas. Los aquenios son frutos monocárpico, secos, indehiscentes y con una sola semilla (ZIPMEC, 2013; Angulo, 2009, p. 8).

1.1.4.4 Aspectos agronómicos

La fresa puede cultivarse a una altura de 0 a 3 000 m.s.n.m., requiere temperaturas entre 18 – 25 ° C en el día, aunque la temperatura diurna óptima es de 15 – 18 ° C

y por las noches entre 8 – 10 ° C, temperaturas menores a 5 ° C ocasionan problemas de crecimiento y temperaturas bajo cero pueden provocar incluso la muerte de la planta (Miserendino, 2012, p. 3). La humedad relativa óptima para el cultivo varía entre 60 – 70 %, su pluviometría está entre los 400 – 600 mm/año. Se siembra en cualquier época del año, de preferencia en época lluviosa (Barquero et al., 2007, p. 5; Ávila, 2015, p. 14). Además, necesita suelos de tipo arenoso o franco arenoso con alto contenido de material orgánico, bien drenados y sueltos, con pH de 5,7 – 6,5 (Barquero et al., 2007, p. 5; Angulo, 2009, p. 13). La luz solar requerida es de 8 a 14 h dependiendo de la variedad sembrada (Miserendino, 2012, p. 3; Ávila, 2015, p. 11). Se puede reproducir de manera sexual con semillas y/o asexual de tres formas: estolones, división de corona y micropropagación o in vitro. En la actualidad se cultiva *Fragaria x ananassa* la cual, por ser un híbrido, no se puede producir de manera sexual (Angulo, 2009, p. 15).

En Ecuador las variedades que más se cultivan son: oso grande, diamante, monterrey y albión. La diferencia entre ellas es su tamaño y textura, en peso son semejantes (INEC, 2014; FAO, 2009).

1.1.4.5 Manejo Agronómico

Preparación del terreno: El terreno debe ser de preferencia plano o de poca pendiente. La preparación del terreno debe realizarse con anticipación a la siembra y con un previo análisis de suelo, para conocer las verdaderas necesidades de cada suelo y para mantener el suelo con las mejores características, que permitan una apropiada correlación entre suelo-planta-disponibilidad de agua y aire (Ávila, 2015, p. 21; Undurraga y Vargas, 2013, p. 11).

El rastraje, subsolado y arado son algunas de las labores que se realizan para soltar y remover el suelo, eliminar las malezas, aumentar el drenaje y también la retención de agua. Desinfectar el suelo es otro paso importante en la preparación del terreno (Angulo, 2009, pp. 14-15; Undurraga y Vargas, 2013, p. 11). Una vez que el suelo se encuentre listo para sembrar, se procede a elaborar las platabandas, camas o

eras, instalar el riego por medio de las hileras y colocar el plástico o polietileno (Angulo, 2009, p. 15; Undurraga y Vargas, 2013, pp. 11-15).

Siembra: Para realizar la siembra se debe hidratar el suelo unos días antes. La humedad debe ser óptima para evitar el desmoronamiento o la compactación del suelo. Se realiza orificios en la platabanda donde se coloca la planta, en sistema de doble hilera de “tresbolillo o quincunce” (Undurraga y Vargas, 2013, p. 16).

La siembra se puede hacer con plantines frescos o frigoconservados, los plantines deben verse sanos, vigorosos, tener una buena cantidad de raíces, tamaño similar y un diámetro de corona mayor a 10 mm, para disminuir pérdidas de los plantines luego de la siembra (Miserendino, 2012, p. 4; Angulo, 2009, p. 21). La forma correcta de sembrar los plantines es cubriendo todas las raíces, pero sin cubrir la corona ya que esto puede provocar pudrición de la corona y disminuir la producción de hojas y coronas secundarias; si se dejan las raíces expuestas se retrasa el crecimiento del plantín y aumenta la susceptibilidad al ataque por patógenos. Luego de la siembra de los plantines es necesario el riego continuo, pero no abundante (Angulo, 2009, p. 21).

Fertilización: Previo a realizar la fertilización, se debe tomar en cuenta las exigencias nutricionales de la fresa y realizar un análisis de suelo para conocer el estado del mismo y con base a estos hacer un plan de fertilización (Ávila, 2015, p. 21). El pH del suelo debe estar entre 6,0 y 6,5 para facilitar la disponibilidad de los nutrientes, algunos nutrientes se incorporan al suelo antes de realizar las platabandas de 2 a 3 semanas antes de la siembra, otros se incorporan luego de la siembra mediante el riego (Lantz, Swartz, Demchak y Frick, 2010, p. 19).

La fresa requiere de 100 a 200 ppm de nitrógeno total, de 4 a 6 % de materia orgánica, de 20 a 30 ppm de fósforo (P_2O_5) y de 120 a 180 ppm de potasio (K_2O), entre otros. Los nutrientes pueden provenir de fuentes inorgánicas u orgánicas, como estiércol, compost, abonos y abonos verdes (Lantz et al., 2010, pp. 20-22).

Riego: Es fundamental para una buena producción en el cultivo de fresa. Para

implantar el riego, es preciso saber los requerimientos de agua de la planta y la precipitación del sitio donde se va a sembrar, para así tener el agua necesaria durante toda la producción (Ávila, 2015, p. 30). Al tener un sistema radicular muy superficial, la fresa requiere de riego constante, pero no abundante, que puede ser por goteo o por surco. El agua proporcionada debe ser solo la necesaria, el exceso o la falta puede provocar estrés hídrico y esto ocasionar pérdidas en la producción (Undurraga y Vargas, 2013, p. 48).

El sistema de riego por goteo es más recomendable por distintas ventajas, como la reducción de enfermedades ocasionadas por la humedad en el follaje, la aplicación de fertilizantes solubles, el caudal bajo y la entrega de agua puntual que desperdicia menos agua (Lantz et al., 2010, p. 24).

Poda: Ayuda en el desarrollo de la planta. Se realiza podas de hojas, estolones, flores, peciolo y pedúnculos. La poda debe realizarse adecuadamente para evitar daños en la planta, como desprendimiento de corona, desgarres, ralladuras. La poda de flores o desfloración se hace con las primeras flores, para estimular el desarrollo de las raíces. La poda de hojas se realiza con frecuencia, se lleva a cabo cuando las hojas ya están secas o tienen problemas de ataque de hongos o bacterias, esta poda ayuda también a la aireación y renovación de la planta e induce a la floración. La poda de estolones es necesaria para evitar el retraso del desarrollo de la planta madre y evitar el desgaste energético en la producción del fruto, esta debe realizarse de forma periódica (Angulo, 2009, pp. 21-22; Ávila, 2015, p. 22; Undurraga y Vargas, 2013, pp. 31-32).

Control de plagas y enfermedades: a continuación se presenta una tabla de las plagas y enfermedades más importantes del cultivo de fresa.

Tabla 1.2. Control de plagas y enfermedades de la fresa

PLAGAS	DAÑO	CONTROL
Araña roja <i>Tetranychus sp</i>	Destrucción del tejido verde, en el envés de las hojas	Químico: Abamectina. Biológico: <i>Phytoseiulus persimilis</i>

Tabla 1.2. Control de plagas y enfermedades de la fresa (continuación...)

PLAGAS	DAÑO	CONTROL
Mosca blanca <i>Bemisia tabaci</i> <i>Trialeurodes vaporariorum</i> .	Daño por succión de savia. Daño indirecto por fumagina, donde puede crecer los hongos <i>Cladosporium</i> sp., o <i>Capnodium</i> sp Daño indirecto al transmitir virus	Químico: Imidacloprid, Buprofezin, Beta-Cyflutrin + Imidacloprid, Spiromesifen Biológico: parasitoides como <i>Encarsia formosa</i> y <i>Amitus fuscipennis</i> , y avispas del orden Himenóptera.
Pulgones <i>Mizus persicae</i> y <i>Aphis</i> sp	Causa amarillamiento de hojas disminuyendo la fotosíntesis, transmiten virus	Dimetoato, Garlic
Trips <i>Frankliniella occidentalis</i>	Daño a las flores y meristemas	Químico: Fipronil, Methiocarb Biológico: <i>Chrysoperla externa</i>
Gusano de tierra <i>Agrotis</i> sp y <i>Feltia</i> sp.	Larvas cortan cuello de la raíz, ocasionalmente consume hojas	Cebos tóxicos(carbaryl+melaza+afrecho)
Gusano Blanco o Sacho <i>Bothynus</i> sp.	Ataca la raíz porque se alimenta de ella provocando debilidad de la planta o causando su muerte	Cebos tóxicos
Babosas y Caracoles <i>Agriolimax</i> <i>lavéis</i> , <i>Helix</i> sp.	Se alimentan de los frutos, creando orificios dando origen a su putrefacción	Cebos tóxicos
ENFERMEDADES	DAÑO	CONTROL
Podredumbre gris, moho gris <i>Botrytis cinerea</i>	Afecta fruto, flores y en menos medida a hojas; los frutos ya cosechados y maduros sufren ablandamiento y se cubren de vello gris	Aplicar funguicidas tan pronto se observa los botones florales
Pudrición blanda <i>Rhizopus</i> sp.	En frutos ya cosechados y maduros sufren ablandamiento y se produce exudaciones, se cubre de vello blanco que luego se torna negro	Funguicidas protectores amplio espectro o mezclas durante madurez
Antracnosis <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Provoca daño en tallos hojas, flores y frutas, provoca manchas redondas con círculos concéntricos	Funguicidas que protejan la floración hasta la cosecha Trifloxystrobin + Tebuconazole, Carbendazin + Iprodione
Oídium <i>Spheroteka macularis</i>	Enrollamiento del borde de las hojas hacia adentro, también provoca deformación en frutos	Azufre micronizado
Mancha de la hoja <i>Mycosphaerella fragariae</i>	Provoca manchas pequeñas tamaño de forma circular de color rojo a púrpura, causando destrucción de hojas	Aplicar Mancozeb, Agrilife de manera preventiva y eliminar hojas atacadas
Podredumbre negra de la raíz <i>Phitoptora</i> sp <i>Rizoctoniasp</i>	Raíces muestran manchas de color marrón y de forma ovaladas	Usar plantines sanos o tratar el material a propagar con Thiran y/o Agrilife

(Lantz, et al., 2010, pp. 57-67; Domoto, Gleason, y Lewis, 2008, pp. 6-9).

Cosecha: La fresa es una fruta no climatérica; por lo tanto no mejora la calidad organoléptica luego de cosechada, solo mejora el color y pierde firmeza (Angulo, 2009, p. 39). Es recomendable realizar la cosecha temprano en la mañana, para aprovechar las bajas temperaturas y mantener la calidad de la fruta. La fresa se cosecha cuando tiene la mitad o la tercera parte de su superficie roja o rosa, la recolección puede realizarse cada tres días en la época de producción, ya que si se recolecta completamente madura se deteriora rápidamente (Barquero et al., 2007, p. 14; Undurraga y Vargas, 2013, p. 105; Ávila, 2015, p. 32).

1.1.5 MANEJO POSTCOSECHA DE LA FRESA

La postcosecha de la fresa, inicia inmediatamente luego de la cosecha. La temperatura es el factor más importante a controlar, para mantener la calidad de la fruta, ya que las altas temperaturas dañan el fruto en corto tiempo. Por esta razón el proceso inicial en postcosecha es un pre-enfriamiento de la fruta (Acuña y Llerena, 2001, pp. 19-29). Además, la fresa al poseer un alto contenido de agua (90 %) y una elevada tasa de respiración, es muy susceptible a sufrir daños y tener una vida útil bastante corta (Angulo, 2009, p. 39).

1.1.5.1 Factores internos y externos que intervienen en el deterioro de la fresa

Luego de la cosecha se realiza otras labores como: seleccionar (desechar fruta dañada o deforme), clasificar de acuerdo al mercado de destino, empacar, transportar y almacenar las fresas (Undurraga y Vargas, 2013, p. 106).

Las fresas son empacadas en el momento de la cosecha por su alta perecibilidad y se deben trasladar en un medio de transporte con las condiciones adecuadas de temperatura, humedad y ventilación; además debe evitar la radiación solar y presencia de polvo (Kitinoja y Kader, 2002, p. 24).

Para almacenar las fresas las cámaras deben tener una temperatura de 0 a 0,5 °C,

90 a 95 % de humedad relativa, 5 – 10 % de O₂ y 10 - 20 % CO₂ (Kitinoja y Kader, 2002, p. 137). La fresa a diferencia de otras frutas no climatéricas sufre cambios drásticos en la postcosecha que afectan el sabor y textura de la fruta, dentro de éstos cambios tenemos: ablandamiento o pérdida de firmeza e inicio de senescencia, síntesis de antocianinas, aumento del contenido de vitamina C, sólidos solubles y pH, también presenta disminución en acidez, contenido de fenoles totales y celulosa (Agustí, 2010, p. 149).

La pérdida de firmeza de la fresas está directamente relacionado con el grado de madurez de la fruta, es decir las fresas tienen menos firmeza cuando está completamente madura, esto se da por degradación de la lamela media de la pared celular. Por este motivo la textura o firmeza de la fresa es otro factor importante a tomar en cuenta para la calidad de la fruta (Velickova et al., 2013, p. 88).

El índice de madurez de la fresa se utiliza para la recolección de los frutos basado en la coloración de la superficie de la fruta. Se considera una fruta madura cuando muestra más de la mitad o 3/4 partes de la superficie de la fresa de color rojo o rosado (Ávila, 2015, p. 32). La fruta con coloración rosada o roja en 2/3 o 3/4 de la superficie se destina a mercados distantes para consumo en fresco, mientras que la fruta con rosado en su totalidad se destina a mercados cercanos para consumo en fresco. La fruta con coloración roja a roja oscura se destina para consumo inmediato o para uso industrial (Undurraga y Vargas, 2013, p. 104).

El color rojo atractivo característico de esta fruta, se lo debe a unos compuestos que contiene llamados antocianinas, estos compuesto además de dar el color son muy beneficiosos para la salud. Estudios realizados refieren que estos pigmentos tienen un efecto antioxidante y ayuda a eliminar los radicales libres y de esta manera previenen enfermedades como el cáncer y enfermedades del corazón (Moreno, Petzold, Pavez, y Zúñiga, 2014, pp. 190-191). Las antocianinas 3-glucósido pelargonidina (Pg 3-gl) (color naranja) y la 3-glucósido cianidina (Cy 3-gl) (color magenta) son las responsables casi de manera exclusiva del color rojo de las fresas, las proporciones de éstas dos son las que dan el color a cada fresa (Kalt et al., 1999, p. 4 639).

Los sólidos solubles totales en una fruta, es la medición del contenido de azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, compuestos fenólicos y pectinas solubles, pero los principales sólidos solubles en un jugo de frutas son los azúcares por tanto la medición de sólidos solubles es la cuantificación del contenido de azúcares (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 365). Los principales azúcares presentes en la fresa son sacarosa, glucosa y fructosa los cuales se almacenan durante la maduración de la fruta, la glucosa y fructosa representan el 83 % de todos los azúcares (Woodward, 1972, p. 466).

La acidez titulable es la medida del contenido de ácidos presentes en la composición de los alimentos, la valoración se la hace a través de la titulación (jugo de fruta + hidróxido de sodio) donde se mide el contenido del ácido más predominante de la fruta generalmente ácido cítrico. El ácido más representativo en la fresa es el cítrico, seguido del malónico, ascórbico y succínico (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 365)

Los polifenoles o compuestos fenólicos son una clase de metabolitos secundarios sintetizados en las plantas a lo largo de todo su desarrollo, en respuesta a condiciones adversas como infecciones, heridas, etc. En la actualidad se conocen más 8 000, que poseen estructuras, propiedades químicas y actividad biológica diferentes entre sí, químicamente los polifenoles son sustancias con un anillo aromático que posee uno o más grupo hidroxilo. La mayoría de estos compuestos son solubles en agua y están presentes en casi todas las plantas; estos compuestos son vitales en el desarrollo de una planta porque también posee propiedades anti patógenas. (Dixon y Paiva, 1995, p. 1085).

Existen dos grupos de fenoles los flavonoides (estructura química C6-C3-C6 unida a moléculas de azúcar generalmente) y no flavonoides. A su vez los flavonoides se dividen en flavonoles, isoflavonas, flavanoles, flavanonas, flavonas y antocianos dentro de éstos últimos se encuentra las antocianinas, pigmentos que dan color a las frutas de rojo, azul hasta púrpura dependiendo del pH del medio (Meyers, Watkins, Pritts, y Liu, 2003, pp. 6888-6889).

1.1.6 TRATAMIENTOS POSTCOSECHA APLICADOS A LA FRESA

1.1.6.1 Tratamientos térmicos

Este tipo de tratamientos son comúnmente usados en la industria de alimentos para aumentar la vida útil. En el estudio publicado por Civello, Martínez, Chaves, y Añon, se usó aire caliente de 42 o 48 ° C por 3 h, lográndose una vida útil de 2 y 3 días respectivamente a temperatura ambiente sin cambios significativos en la fruta (1997, pp. 89-94). Vicente, Martínez, Chaves, y Civello (2002) aplicó aire a 45 ° C por 3 h seguido de refrigeración a 0 ° C más 24 h a 20 ° C y logro obtener una vida útil de 14 días a 0 ° C más 24 h a 20 ° C sin cambios significativos en la fresa.

Todos estos tratamientos ocasionan pérdida de antocianinas por su larga exposición a temperaturas relativamente altas por lo que el uso de calentamiento dieléctrico como microondas y radio frecuencia se hacen una alternativa atractiva porque necesita menos tiempo para llegar a dichas temperatura (Timberlake, 1980, p. 73).

1.1.6.2 Irradiación

Según Kader (1986) es una alternativa fitosanitaria con una dosis máxima de 2,5 kGy o se puede entender por un tratamiento combinado de tratamiento térmico, hidrotérmico o atmósfera modificada con menor dosis (pp. 117-121). En Ecuador estudios han demostrado que al usar la irradiación se logra aumentar la vida útil del producto hasta 8 días en condiciones normales de refrigeración, y de 18 días almacenadas a 4 ° C (Acuña y Llerena, 2001, pp. 29-30).

1.1.6.3 Recubrimientos

Los recubrimientos sirven para minimizar la pérdida de humedad y posterior ablandamiento de las frutas por la pérdida de turgencia; también ayuda a mejorar su apariencia por el brillo (Baldwin, Hagenmaier, y Bai, 2012, pp. 2-3). Los recubrimientos suelen ser soluciones que se adhieren a la superficie de las frutas

también sirven como medio de soporte de aditivos para el control de la maduración, alargue de vida útil y retrasan cambios físico-químicos en la fruta (Ulloa, Ulloa, y Romero, 2007, p. 32).

1.1.6.4 Atmósferas controladas

Este método busca tener valores deseados en la concentración de los gases (CO_2 y O_2) que rodean la fruta para así tener una mayor vida útil de la misma. Con una atmósfera controlada se reduce el ritmo metabólico de la fruta y manteniéndolas en buen estado por mayor tiempo que el de refrigeración (Belloso, Rojas, y Oms, 2005, pp. 5-6).

La modificación de la atmosfera es parcial o total, es decir en cada empaque o en el ambiente (cámaras de atmósferas controladas). Para modificar la atmósfera en el empaque se usa recubrimientos para impedir la transferencia de los gases y no perder la concentración deseada dentro del mismo, para modificación en cámara se añaden compuestos que interactúan con la respiración hasta alcanzar un equilibrio con el medio que les rodea; las cámaras deben estar herméticamente cerradas (Kader, 2011, p. 158-159).

1.2 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA FRUTAS

A mediados del siglo XX, los recubrimientos fueron usados para prevenir tanto en frutas como en verduras la pérdida de agua y proporcionar brillo (Baldwin et al., 2012, p. 5). El uso de recubrimientos comestibles data del siglo XII en China, el recubrimiento servía para disminuir la respiración y senescencia de manzanas y cítricos (Belloso et al., 2005, p. 5; Ulloa et al., 2007, p. 55).

A partir de los años 70 se inicia el estudio de los biopolímeros como medida para disminuir el uso de polímeros sintéticos en el desarrollo de recubrimientos y además disminuir la contaminación ambiental y crear recubrimientos que al ser consumidos

no causen daño a la salud de los consumidores (Zaritzky, 2002, p. 1).

1.2.1 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

El actual ritmo de vida de nuestra sociedad ha obligado a los consumidores a buscar productos que posean mayor vida útil y conserven su calidad, entre los diferentes métodos aplicados para conseguir este objetivo, se da el uso de recubrimientos comestibles para frutas y verduras (Belloso, et al., 2005, pp. 1-3; Zaritzky, 2010, p. 640).

Los recubrimientos ayudan a disminuir la pérdida de humedad del fruto hacia el ambiente y la disponibilidad de oxígeno del ambiente para la fruta y de esta manera reducir su tasa de respiración y aumentar el tiempo de vida útil de la fruta o verdura (Mehyar y Han, 2006, p. E449). Otros efectos producidos por la aplicación de recubrimientos son la pérdida de aroma, sabor y la modificación de la atmósfera interna del producto ya que los recubrimientos disminuyen la transferencia de gases O₂ y CO₂ (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005, p. 659).

Los recubrimientos para que se cataloguen como recubrimientos comestibles deben usar compuestos comestibles en su formulación, es decir, componentes generalmente reconocidos como seguros (GRAS) (Zaritzky, 2010, p. 631).

Los recubrimientos para ser aceptados como tal deben cumplir algunos requisitos básicos como: impedir la acumulación de CO₂, reducir la disponibilidad de O₂, disminuir la permeabilidad al vapor de agua, detener la transferencia de compuestos volátiles, mejorar apariencia visual general, conservar la estructura inicial, optimizar las propiedades mecánicas, no interferir con las características iniciales del producto. Además no deben ser pegajosos, poseer una tasa de secado rápido y ser fácilmente emulsionable (Arvanitoyannis y Gorris, 1999, p. 363).

Kester y Fennema (1986) señalaron que la resistencia a la migración de humedad es la funcionalidad más importante de un recubrimiento comestible (p. 47). En la

Figura 1.2 se observa la función de un recubrimiento comestible para frutas y verduras.

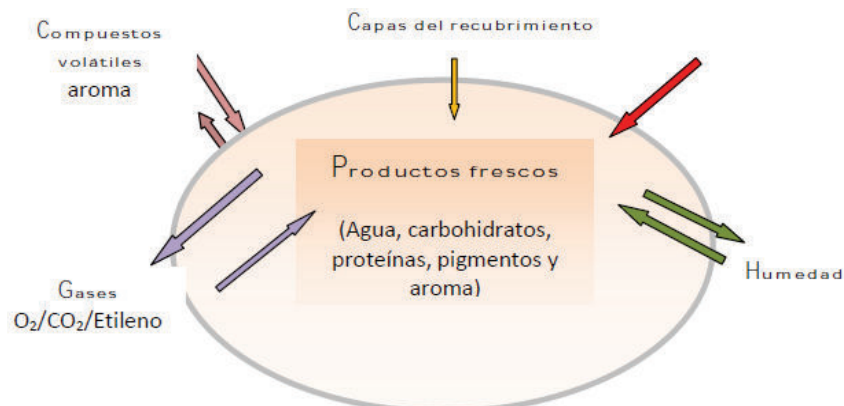


Figura 1.3. Funcionalidad de un recubrimiento comestible
(Falguera, Quintero, Jiménez, J, y Ibarz, 2011, p. 295)

En un recubrimiento la composición química, el método de elaboración, la estructura, las condiciones de almacenamiento y en especial las características propias del producto a recubrir son los factores más importantes a tomar en cuenta para formular un recubrimiento (Zaritzky, 2010, p. 640).

El uso de los recubrimientos brinda una gran ventaja por encima de los envases plásticos tradicionales ya que generan menor contaminación ambiental, debido a que estos están compuestos de materiales biodegradables (Dhall, 2013, p. 437). La desventaja de los mismos es la costosa implementación a escala comercial, debido a que la mayoría de las materias primas usadas para su elaboración proceden de fuentes poco usadas y con elevados costos de purificación (Lacroix y Vu, 2014, p. 278).

1.2.1.1 Componentes de los recubrimientos

Dentro de la formulación de un recubrimiento se encuentran: lípidos, proteínas, polisacáridos o pueden ser la mezcla de todos los anteriores (Dhall, 2013, p. 437). Dentro de los lípidos usados en la formulación de recubrimientos están ceras,

resinas, ácidos grasos y glicéridos, dentro de las proteínas la caseína, proteína de soya, gelatina, gluten de trigo, queratina, ceína de maíz, seroproteínas y los polisacáridos más comúnmente utilizados son almidones modificados, almidones y gomas (Dhall, 2013, pp. 437-438; Falguera, Quintero, Jiménez, J, y Ibarz, 2011, p. 293). Adicional a cualquiera de los componentes ya mencionados se añade plastificantes, emulsionantes y demás aditivos para optimizar las propiedades físicas y funcionales de los recubrimientos. Estos compuestos tienen diversos mecanismos de formar un recubrimiento donde intervienen las fuerzas intermoleculares, electrostática, interacciones iónicas e hidrofóbicas (Han, 2014, p. 214).

Lípidos: Los recubrimientos que contienen lípidos en su formulación poseen propiedades hidrófobas, por ello ayudan a que los frutos no se deshidraten de forma rápida, con la reducción de transferencia de vapor de agua hacia el ambiente además aporta brillo al producto, pero tienen propiedades mecánicas deficientes, es decir, debido a su tensión superficial forma recubiertos gruesos y frágiles por ello se lo debe mezclar con otros compuestos (Ramos, Baños, Necha, Molina, y Carrillo, 2010, pp. 7-8; Gennadios, 2002, pp. 7-8).

Las ceras son los lípidos más comúnmente usados en la formulación de recubrimientos comestibles (Zaritzky, 2010, p. 633). La cera es un éster de un ácido orgánico con un alcohol alifático de cadena larga, además la presencia de grupos polares hace que se reduzca la permeabilidad de vapor de agua, a temperatura ambiente son sólidos y su polimorfismo afecta a las propiedades funcionales de los recubrimientos (Bravin, Peressini, y Sensidoni, 2004, p. 6 448).

Proteínas: Los recubrimientos con proteínas en su formulación tienden a ser rígidos y quebradizos debido a la interacción de las cadenas proteicas con los enlaces de hidrógeno (Gennadios, 2002, pp. 6-7). La ventaja de utilizar proteínas en los recubrimientos es que proporciona mayor dureza y disminuye la difusión de gases O₂ y CO₂, la desventaja es que su capacidad de barrera para la pérdida de humedad es baja (Quintero, Falguera, y Muñoz, 2010, p. 96; Ramos et al., 2010, pp. 46-47).

Las proteínas en estado original se divide en proteínas globulares y fibrosas; las proteínas globulares son muy solubles en agua y de origen vegetal y las proteínas fibrosas son de origen animal y presentan baja solubilidad en agua (Dhall, 2013, p. 439).

La gelatina es una proteína fibrosa, su red de gel tridimensional está compuesta de microcristales interconectados con regiones amorfas en espiral, la gelatina es muy utilizada por su capacidad de formar geles termorreversibles con punto de fusión alrededor de 35 ° C (Arvanitoyannis, Nakayama, y Aiba, 1998, p. 371).

Polisacáridos: Los polisacáridos contribuyen a que los recubrimientos tengan buenas propiedades mecánicas y estructurales como adherencia y flexibilidad, pero tienen una capacidad reducida para evitar la pérdida de humedad y tienden a formar recubrimientos opacos y quebradizos. Constituyen una buena barrera para los gases (O₂ y CO₂) e inhibición de migración de aromas y lípidos (Ramos et al., 2010, p. 47; Zhang, Rempel, y McLaren, 2014, p. 305).

Los almidones son los polisacáridos más utilizado en la formación de recubrimientos debido a su capacidad de formar una buena matriz estructural y su bajo costo comparado con otros, pero el almidón por sí solo no puede formar un buen recubrimiento necesita la adición de un plastificante (Dhall, 2013, p. 438; Zaritzky, 2010, p. 632) . El almidón es un hidrato de carbono conformado por un polímero lineal de amilosa y un ramificado llamado amilopectina, ambos polímeros de la glucosa, pero la amilosa es más fundamental porque es la encargada de formar películas con buenas propiedades mecánicas (Dhall, 2013, p. 438).

Plastificantes: Proporcionan al recubrimiento una mayor flexibilidad y extensibilidad debido a que estos compuestos aumentan el movimiento de las cadenas de polímeros (Han y Gennadios, 2005, p. 244). Los plastificantes tienen la capacidad de incrustarse entre las moléculas de los polímeros y de esta manera interferir en las interacciones intermoleculares, debido a esto la adición del plastificante modifica algunas propiedades mecánicas incluyendo el módulo de elasticidad, la resistencia a la transferencia de humedad y gases, entre otras (Han,

2014, p. 222). El tipo de plastificante y la cantidad usada es trascendental para el grado de gelatinización del recubrimiento (Plackett, 2011, p. 18).

Los plastificantes más usados en la formulación de un recubrimiento son: glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, sacarosa, sorbitol, ácidos grasos y agua, esta última no es recomendada porque se pierde por deshidratación (Han, 2014, p. 223; Ramos et al., 2010, p. 46).

El glicerol es un plastificante hidrofílico por lo tanto atrae la humedad pero brinda distintas ventajas como aportar brillo al producto a recubrir, mejora la plasticidad del recubrimiento, reduce la pérdida de firmeza y de peso (Gennadios, 2002, pp. 8-9).

Aditivos: Los recubrimientos pueden servir de soporte de otros compuestos en cantidades mínimas, dentro de los aditivos que se adicionan generalmente están: antimicrobianos, vitaminas, antioxidantes, nutraceuticos, saborizantes, colorantes pero los más utilizados son plastificantes y emulsificantes (Han y Gennadios, 2005, p. 244; Zaritzky, 2010, pp. 633-634).

Los aditivos contribuyen a que los recubrimientos posean mejores propiedades funcionales, sensoriales, nutricionales y mayor calidad esto les proporciona las características de un envase activo (Pérez-Gago y Krochta, 2000, p. 941).

Los aditivos a añadir deben tener compatibilidad y homogeneidad con el resto de la formulación del recubrimiento, además los componentes deben ser de grado alimenticio en su totalidad (Zaritzky, 2010, p. 633).

Los emulsificantes son agentes surfactantes que contribuyen a la formación de la emulsión debido a su naturaleza anfifílica, es decir, reduce la tensión superficial entre el lípido y el agua (Han y Gennadios, 2005, p. 245). Es recomendable usar un emulsificante para tener un recubrimiento estable, pero en el caso de recubrimiento de proteínas no es necesario (Han, 2014, p. 223).

1.2.1.2 Recubrimientos comestibles compuestos

Los recubrimientos compuestos utilizan en su formulación tanto lípidos como hidrocoloides, para así mejorar sus propiedades estructurales y de barrera (García, Marino, y Zaritzky, 2000, p. 941). Generalmente se mezcla una matriz estructural con un lípido, puede ser en monocapa o bicapa; monocapa en base a una emulsión estable del lípido, bicapa cuando se recubre la película con otra capa más de lípido (Pérez-Gago y Krochta, 2000, p. 2687). Cuando se parte de una emulsión estable, el lípido se esparce y la matriz polimérica del polisacárido o proteína lo atrapa (Dhall, 2013, p. 442; García et al., 2000, p. 941).

1.2.2 COMPUESTOS ANTIMICROBIANOS APLICADOS A RECUBRIMIENTOS

Los recubrimientos antimicrobianos han transformado el concepto de envases activos no solo porque ayudan a alargar la vida útil del producto sino que gracias a los compuestos antimicrobianos que se pueden añadir previenen, reducen o inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos que pueden producir perjuicio en la salud de los consumidores (Appendini y Hotchkiss, 2002, p. 114). Además los compuestos antimicrobianos contenidos en los recubrimientos pueden liberarse de forma gradual en la superficie del producto, lo cual es una ventaja porque se requiere de menos cantidad del compuesto para tener el mismo tiempo de almacenamiento (Ponce, Roura, del Valle, y Moreira, 2008, p. 294).

En la actualidad existen numerosos agentes antimicrobianos que se pueden adicionar a la formulación de un recubrimiento entre ellos están: benzoato de sodio, ácido sórbico, ácido cítrico, ácido benzoico, sorbato de potasio, nisina, pediocina y natamicina (Ozdemir y Floros, 2008, p. 119; Quintavalla y Vicini, 2002, p. 375; Sebti y Coma, 2002, p. 139). Por ejemplo la natamicina fue añadida en un recubrimiento comestible a base de quitosano, lo que dio un resultado favorable para el control del crecimiento del microorganismo contaminante, provocando una liberación controlada de la natamicina y por tanto un efecto sinérgico entre ambos compuestos (Romanazzi, Nigro, Ippolito, Di Venere, y Salerno, 2002, p. 1864).

La natamicina es un antifúngico natural con principio activo de pimáricina producida por la *Streptomyces nateiensis* (bacteria), generalmente usada en la industria alimentaria por su alto espectro antimicrobiano contra levaduras, mohos y hongos pero no posee efecto alguno sobre las bacterias (Chen, Lu, y Du, 2008, p. 1862). La natamicina está catalogada como sustancia generalmente segura (GRAS), las ventajas de usar este antifúngico natural aparte de controlar la degradación por hongos y levaduras en un producto, disminuye el riesgo de micotoxinas, aumenta el tiempo de vida útil y no tiene efecto sobre el sabor o apariencia del producto (Delves-Broughton et al., 2006, p. 19). Sin embargo la natamicina al tener un gran peso molecular y en su estructura dobles enlaces conjugados, posee poca solubilidad en agua (0,052 mg/ml). La concentración permitida a usar es de 1 a 20 ppm (Oliveira, Soares, Pereira, y Fraga, 2007, p. 150). Además autores como Krause, Altenhofe y Guenter, (2012) afirman que la adición de la natamicina en la formulación de un recubrimiento disminuyó la resistencia a la tracción, y permitió el aumento de permeabilidad al vapor de agua, y la opacidad (p.20).

1.3 ENCAPSULACIÓN DE SUSTANCIAS EN FOSFOLÍPIDOS

Los liposomas son partículas esféricas que consta de una o varias bicapas, generalmente compuestas de fosfolípidos que son capaces de encapsular un volumen de medio acuoso, el medio acuoso es en el que se suspende los liposomas (Jesorka y Orwar, 2008, p. 802). Los liposomas constan de una parte hidrofílica que es la cabeza y una cola hidrofóbica su parte hidrofílica va hacia al centro del liposoma y la parte hidrofóbica hacia afuera entre ellos con un centro de medio acuoso donde se puede insertar un elemento bioactivo con un fin específico el cual se liberará (Perret, Golding, y Williams, 1991, p. 155).

Los lípidos comúnmente utilizados son los fosfolípidos; son una tecnología nueva para encapsular y entregar sustancias sin que sufran cambios. Existe un sin número de compuestos que se pueden encapsular productos farmacéuticos, cosméticos, nutracéuticos, y también productos de carácter alimenticio por su biocompatibilidad y biodegradabilidad (Mozafari, 2005, p. 711).

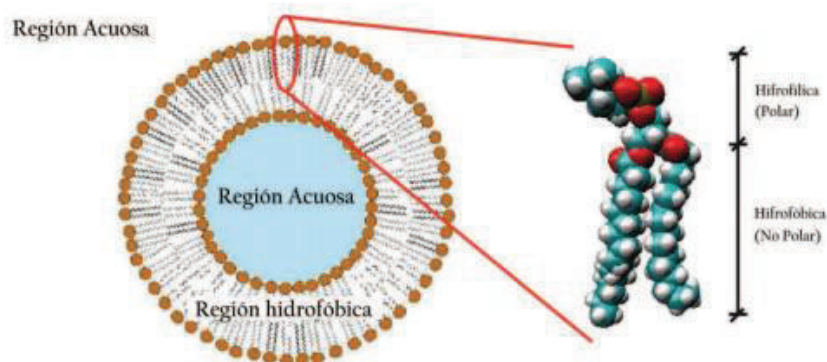


Figura 1.4. Estructura de un liposoma con una sustancia acuosa encapsulada, bicapa conformada por moléculas de fosfatidilcolina (Tinoco, Sauer, Wang, y Puglisi, 2002, p. 214)

Los liposomas presentan varias ventajas tales como la capacidad de incorporar no sólo sustancias solubles en agua, sino también agentes solubles en lípidos, gracias a su carácter magnético se puede orientar la liberación del encapsulado en el sitio requerido y su versatilidad en características como fluidez, tamaño, carga y número de laminillas o capas (Gunstone, Harwood, y A., 2007, p. 115).

El éxito de su aplicación no solo consiste en el atrapamiento y suministro de agentes bioactivos, sino también de la posibilidad técnica y económica de elaborar la formulación, es decir, deben tener alta eficiencia de atrapamiento, distribuciones estrechas de tamaño, estabilidad a largo plazo y las propiedades de liberación ideales (basadas en la aplicación deseada) (Jesorka y Orwar, 2008, p. 804).

Los liposomas más utilizados son los fosfolípidos de forma particular la fosfatidilcolina por su carga neutra, los que poseen carga negativa son ácido fosfático, fosfatidilglicerol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina cada uno de estos tienen diversas combinaciones de las cadenas de los ácidos grasos y número de dobles enlaces en la cadena. La estearilamina se usa cuando se requiere liposomas catiónicos (Gurr, Frayn, y Harwood, 2002, p. 25). Además de la carga, la naturaleza de los ácidos grasos y el número de los dobles enlaces están estrictamente ligados a las propiedades de las bicapas como el comportamiento de fase y elasticidad (Jesorka y Orwar, 2008, p. 803).

1.3.1 MÉTODO DE ENCAPSULACIÓN

Existen diversos métodos de encapsulación métodos físicos, químicos y mecánicos. Métodos físicos como el secado por atomización o lecho fluidizado, liofilización y extrusión, métodos químicos como la coacervación compleja, gelificación iónica, polimerización interfacial y cocrystalización (Madene, Jacquot, Sher, y Desobry, 2006, pp. 9-13).

Para la elaboración de liposomas existen métodos como: hidratación simple, extrusión, sonicación, secado por congelación, electroformación, inyección de chorro en fase acuosa (Hauschild, Lipprandt, Rumpflecker, Borchert, y Rank, 2005, pp. 1 177-1 779). Para elegir el método de elaboración de los liposomas se debe tener en cuenta lo siguiente: características estructurales del material a ser encapsulado, estructura del liposoma, naturaleza del medio donde se dispersa el lípido, concentración del compuesto a encapsular, tamaño y polidispersidad (Gomez-Hens y Fernandez-Romero, 2006, pp. 169-171).

Existe un método nuevo para producir liposomas sin usar químicos o procesos peligrosos, es el método de calentamiento de Mozafari, donde la principal forma de energía para formar liposomas es el calentamiento mientras se agita para facilitar la distribución homogénea de los compuestos, en presencia de glicerol (3% v / v). El glicerol es soluble en agua y fisiológicamente aceptable con la capacidad de aumentar la estabilidad de las vesículas lipídicas y no necesitar ser eliminado del producto liposomal final. El empleo del calor elimina la necesidad de llevar a cabo otros procesos, reduciendo el tiempo y coste de la producción de liposomas por el método de calentamiento (Mozafari, 2005, p. 716-717).

1.3.2 CARACTERIZACIÓN

1.3.2.1 Tamaño

Para medir el tamaño de los liposomas la técnica más utilizada es la dispersión

dinámica de luz (DLS), por su velocidad, medición de tamaño mínimo de partícula y que es un método no destructivo (Hallett, Watton, y Krygsman, 1991, p. 358). Existe otro método por el que se puede medir la distribución de tamaño de los liposomas, la microscopía electrónica por congelamiento y fractura mediante una imagen microscópica electrónica. Al comparar la distribución de los tamaños medidos con ambos métodos la diferencia entre éstos es mínima (Hallett, Nickel, Samuels, y Krygsman, 1991, p. 459).

El método DLS consiste en el re-direccionamiento de la luz o espectroscopia de correlación de fotones, es decir, cuando una onda electromagnética (rayo de luz incidente) choca contra un obstáculo (liposoma) provoca que los orbitales electrónicos se perturben periódicamente con la misma frecuencia de la onda incidente, necesita la viscosidad del medio y determina el diámetro de la partícula por medio de movimiento brownianos (Hallett et al., 1991, p. 460).

1.3.2.2 Índice de Polidispersión

La polidispersidad es la medida de la distribución de tamaños de las partículas, es decir, indica la uniformidad de un perfil de tamaños; éste se mide de manera simultánea al determinar el tamaño de la partícula. Las soluciones con una polidispersión < 0,2 se dice que son monodispersas, es decir que la distribución de tamaños es uniforme (Mason, Wilking, Chang, y Graves, 2006, p. 647). Se la calcula de la siguiente manera.

$$\text{Índice de polidispersión} = \left(\frac{\delta a}{a}\right)^2 \quad [1.1]$$

Donde:

δa : es el cuadrado de la desviación estándar

a : es la media de los diámetros

El índice de polidispersión (PDI) es una valor adimensional, el valor máximo para el PDI es 1, pero cuando más cercano es a cero, la disolución es más monodispersa,

por lo tanto tamaños uniformes (Mason et al., 2006, p. 647).

1.3.2.3 Potencial zeta

Es la medición del potencial electrocinético de sistemas coloidales, visto desde la física es el potencial eléctrico en la doble capa interfacial (punto de unión entre la capa difusa y la de Stern), el potencial zeta también se puede considerar como la diferencia del potencial entre la capa estacionaria unida a la partícula dispersa y el medio de dispersión (Bard y Faulkner, 2001, p. 54; Kralchevsky, Danov, y Denkov, 2003, p. 74).

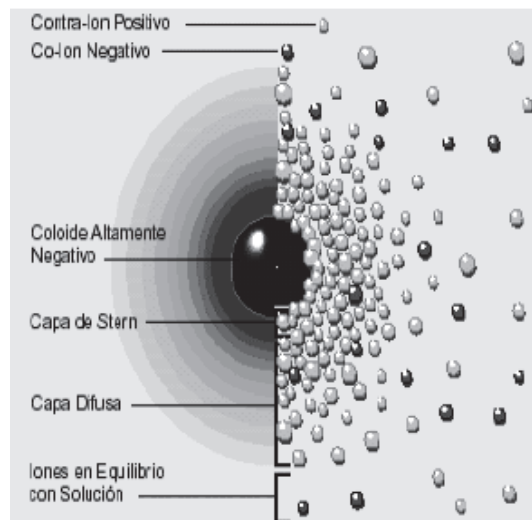


Figura 1.5. Doble capa eléctrica, derecha distribución de iones positivos y negativos alrededor del coloide cargado e izquierda densidad de carga alrededor del coloide (Mantilla, Pedraza, y Laverde, 2008, p. 66)

El valor del potencial zeta es significativo porque está relacionado con la estabilidad de la suspensión coloidal, es decir, cuantifica la magnitud de la carga eléctrica en la capa doble del liposoma entre el líquido y la partícula, dicho de otra manera es el potencial requerido para penetrar la capa de iones circundantes para poder desestabilizarla (Lyklema, 2003, p. 6; Duque, Giraldo, Martinez, Gauthier, y Villa, 2000, p. 33). Por lo tanto para las partículas pequeñas un potencial eléctrico alto da mayor estabilidad mientras que un bajo potencial eléctrico las partículas superan la

repulsión y tienden a coagular (Brian, Kirby Ernest, y Hasselbrink, 2004, p. 187).

El potencial eléctrico de las partículas se ve influenciado por la composición de las partículas y el medio donde se dispersa. Potenciales zeta mayores a + 30 mV o menores a - 30mV han demostrado ser una suspensión estable. La medida de potencial zeta también sirve para conocer si un compuesto activo cargado se encapsula dentro de los liposomas o es adsorbido en la superficie (Mohanraj y Chen, 2006, p. 5).

1.3.3 APLICACIONES DE LOS LIPOSOMAS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

En la industria alimentaria la aplicación de liposomas ha ido en aumento debido a las ventajas que representa encapsular diferentes compuestos como la protección al calor, la humedad, pH, radicales libres, enzimas; aumentar la estabilidad y viabilidad y dirigir la administración del alimento (Kirby, 1993, pp. 216-219; Huertas, 2010, p. 5 670). El encapsular ingredientes o aditivos alimenticios también presenta otras ventajas como aumentar la resistencia a los distintos procedimientos de elaboración y empaque, fortificación y mejorar en muchos de los casos las propiedades iniciales del producto como propiedades organolépticas y funcionales, aumentar el valor nutricional y apariencia en general (Sandoval, Rodríguez, y Ayala, 2004, pp. 73-74; Yañez et al., 2002, p. 315).

Entre las sustancias que se pueden encapsular están: lípidos, sabores volátiles, conservadores de tejidos, probióticos, prebióticos, nutraceuticos, colorantes, enzimas, luteína, fitoesteroles, ácidos grasos, pigmentos vegetales, antioxidantes, antifúngicos, vitaminas, minerales, componentes de aromas (Fuchs et al., 2006, p. 27; Rai, Asthana, Kant, Jaiswal, y Jaiswal, 2009, p. 672).

2. PARTE EXPERIMENTAL

La presente investigación tiene como objetivo formular un recubrimiento comestible antifúngico con base en gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina para evaluar su capacidad de controlar el ataque del hongo *Botrytis spp.* en fresa (*Fragaria vesca*).

2.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NATAMICINA Y FOSFATIDILCOLINA EN LA ENCAPSULACIÓN DE NATAMICINA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

2.1.1 MATERIALES

Para realizar este trabajo se necesitaron los siguientes reactivos y equipos.

2.1.1.1 Reactivos

- ABTS, $\geq 99,0$ %, Sigma
- Acetato de etilo, grado analítico, Sigma
- Acetona, grado analítico, Merck
- Ácido ascórbico, grado analítico, Biochemical
- Acido gálico, grado analítico, Sigma
- Carbonato de sodio, grado analítico, Mallinckrodt
- Etanol, grado analítico, J.T. Boker
- Folin- ciocalteu's phenol, grado analítico, Merck
- Gelatina, grado alimenticio, La casa de los Químicos
- Glicerol, grado alimenticio, La casa de los Químicos
- Hidróxido de sodio, grado analítico, Merck
- Lecitina cruda de soya, grado alimenticio, La casa de los Químicos
- Metanol, grado analítico, J.T. Boker

- Pimaricina, 50 % natamicina- 50 % lactosa, Pimalac
- Peroxidisulfato de potasio, grado analítico, Sigma
- Potato Dextrose Agar, grado analítico, Becton
- Solución de fenoltaleína, 1 % en etanol, preparado

2.1.1.2 Equipos

- Agitador de tubos de ensayo, Barnstead, modelo: M37615, Iowa - USA
- Agitador ultrasonido, Branson, modelo: 3210, USA
- Analizador de tamaño de partículas, NanoBrook 90 Plus, USA
- Autoclave, Boyn, modelo: LDZX – 75 KBS, USA
- Balanza analítica, BAECO, modelo: BBL 31, 1 E-05 kg, Alemania
- Balanza, Ohaus, modelo: TR6RS, USA
- Baño maría, JP Selecta, modelo: 6032011, España
- Cabina de flujo laminar, Tomas Scientific, modelo: Flow 85H, USA
- Calibrador, Stainless Hardened, modelo: 76, Japón
- Colorímetro, Minolta, modelo CR200, Osaka, Japón
- Disruptor celular ultrasónico, DAIGGER, modelo EF2010F, USA
- Espectrofotómetro, Genesys, modelo: 4001/4, USA
- Estufa, THELCO, modelo 28, Chicago- Illinois- USA
- Homogenizador de tejidos, TEKMAR TR-10, Ohio - Alemania
- Licuadora, OSTER, modelo: Osterizer, Venezuela
- Liofilizador, Lyovac, modelo: GT2, USA
- Micro-centrífuga, Fisher Scientific, modelo: D-37520 Osterode, Alemania
- Microscopio, Olympus, modelo: 41, New York – USA
- Penetrómetro manual, Mc Cormick Fruit Tech, modelo: FT 327, 1 lb ± 0,1 lb, aguja # 3, Italia
- pH-metro, VARIO pH, modelo: WTW 82362; Alemania
- Planchas de agitación, CIMAREC, modelo: SP 131325, Iowa - USA
- Refractómetro escala Brix 0 – 32 %, VEE GEE, modelo: BX – 1, China
- Termómetro, Boekel, modelo:11,51, USA

Para establecer el efecto de la concentración de natamicina y fosfatidilcolina en la encapsulación de natamicina en los liposomas de fosfatidilcolina se utilizó un diseño experimental 3 x 2, con tres repeticiones. Se llevaron a cabo 6 tratamientos con tres repeticiones es decir 18 puntos experimentales de encapsulación de natamicina en fosfatidilcolina. Los factores experimentales fueron la concentración de natamicina, que fue de 4, 7 y 10 g/L y la concentración de fosfatidilcolina la cual fue de 2 y 5 %.

Tabla 2.1. Formulación y nomenclatura de los recubrimientos comestibles

Experimentos	Nomenclatura	Formulación
1	T1	10 g/L Na – 5% Fc
2	T2	10 g/L Na – 2% Fc
3	T3	7 g/L Na – 5% Fc
4	T4	7 g/L Na – 2% Fc
5	T5	4 g/L Na – 5% Fc
6	T6	4 g/L Na – 2% Fc

T: tratamiento; Na: natamicina comercial (50 % principio activo, 50 % lactosa); Fc: fosfatidilcolina; g/L: gramos/litro

Los experimentos se llevaron a cabo en orden completamente aleatorizado, para contrarrestar los posibles efectos adversos ambientales y temporales. Las variables de respuesta fueron el tamaño del liposoma, estabilidad de los mismos determinada a través de la medición del potencial zeta (potencial Z) de la suspensión y la inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis spp.*

Para determinar la concentración de natamicina que se usó en los diferentes tratamientos, se procedió a realizar una prueba preliminar de concentración mínima inhibitoria (CMI) de la natamicina, antifúngico seleccionado para la presente investigación. La capacidad de inhibición al hongo patógeno *Botrytis spp.*, para esta prueba preliminar, se determinó mediante el criterio de evaluación propuesto por Anke, Stadler, Mayer, y Sterner (1995, p. 934) con tres repeticiones.

Criterios de evaluación:

Halo de inhibición < 7 mm: no activo

Halo de inhibición entre 7 - 11 mm: actividad leve

Halo de inhibición entre 11 - 16 mm: actividad moderada

Halo de inhibición > 16 mm: actividad alta

2.1.2 PRODUCCIÓN DE FOSFATIDILCOLINA

La fosfatidilcolina se obtuvo a partir de 100 g de lecitina cruda de soja, la misma que se disolvió en 500 mL de acetato de etilo, luego se añadieron 20 mL de agua destilada lentamente, siempre bajo agitación, como resultado se obtuvo una solución bifásica. La fase superior fue retirada de la fase inferior y descartada.

La fase inferior resultante fue mezclada con 300 mL de acetona, que se agitó con una varilla de agitación. Se obtuvo como resultado una suspensión grumosa, luego se retiró la acetona por decantación. La suspensión grumosa obtenida fue desagregada con la ayuda de una varilla de agitación, luego se añadieron 300 mL de acetona a la misma y se repitió el proceso anterior. Posteriormente, se filtró la suspensión grumosa y se situó en un desecador por 24 h para eliminar la acetona restante (Mosquera, Giménez, Mallmann da Silva, Ferreira, Montero, Gómez y Bramdelli, 2014, pp. 143-151).

2.1.3 ENCAPSULACIÓN DE NATAMICINA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

Para obtener liposomas de fosfatidilcolina se procedió de acuerdo con el método de encapsulación por calentamiento descrito por Mozafari (2010, p. 40) con varias modificaciones. La fosfatidilcolina obtenida anteriormente se trituró en un mortero de porcelana y se tamizó en un tamiz de rejilla metálica de 0,2 mm de diámetro de poro. Se disolvieron las diferentes concentraciones de natamicina y fosfatidilcolina, respectivamente en 20 mL de tampón fosfato 10 mM a pH 7, con agitación leve. La solución se calentó por 1 h a 80 °C a baño maría. Seguidamente se añadieron 5 mL de glicerol y 15 mL de tampón fosfato. La muestra se mezcló con un

homogenizador a leve agitación, luego se dejó en baño maría a 80 °C, por 1 h con agitación leve. A continuación, se mezclaron los ingredientes con un agitador de tubos durante 5 min. Finalmente, la mezcla se sonicó en un disruptor celular ultrasónico (Marca DAIGGER modelo EF2010F) de 750 W a 70 % de amplitud, por 5 ciclos de sonicación, 1 min seguido de 1 min de descanso, en un baño con hielo.

2.1.4 AISLAMIENTO DEL HONGO PATÓGENO

El aislamiento del hongo *Botrytis spp.* se realizó mediante el procedimiento descrito por Plascencia et al. (2012, p. 105). El proceso se inició con el fruto infectado con *Botrytis spp.*; se tomó aproximadamente 1 cm³ de tejido infectado, el cual se sembró en placas Petri usando el sustrato papa dextrosa agar (PDA), las placas resultantes se incubaron en una estufa por 48 h, a 18 °C. Pasada las 48 h, se procedió a observar en un microscopio óptico con la finalidad de confirmar la identidad del hongo. Se tomaron fotografías con un aumento de 40x en un microscopio Olympus, usando un adaptador fotográfico para microscopio marca Olympus PM-CBK-3 y una cámara fotográfica Canon EOS 550D; para proceder a comparar con fotografías de bibliografía del hongo. Una vez confirmada la identidad de los hongos patógenos se procedió a tomar 1 cm³ de micelio y se sembró en cajas Petri con PDA, se incubó por 48 h, a 18 °C. Transcurrido ese tiempo se procedió a purificar el hongo patógeno mediante el corte de puntas de hifas, las cuales se colocaron en PDA y se incubaron a 18 °C, por 48 h.

2.1.5 INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DEL HONGO

La inhibición del crecimiento del hongo se determinó mediante el método de difusión de disco en agar, descrito por Gómez-Guillén et al. (2010, p. 98).

Para determinar la inhibición del crecimiento del hongo, se utilizaron cajas Petri con PDA, se sembró el hongo *Botrytis spp.* y se procedió a hacer un barrido con la ayuda de una varilla de vidrio, de modo que se dé un crecimiento homogéneo en

toda la placa. Se utilizaron discos de papel filtro de 0,5 cm de diámetro, se humedecieron con una alícuota de 10 μ L de cada tratamiento y se procedió a colocarlos en la placa con PDA. Finalmente, se incubaron por 48 h, a 18 °C. La prueba se realizó por triplicado para cada tratamiento.

La zona clara que rodea a los discos de papel filtro son círculos o halos de zona de inhibición y se consideró como una medida de la actividad antifúngica. La medición del diámetro de las zonas de inhibición se realizó en la fotografía tomada de la placa luego de las 48 h. El diámetro de la zona de inhibición permitió obtener el porcentaje del efecto de inhibición y con ello se evaluó la actividad antifúngica del recubrimiento. Para el cálculo del porcentaje del efecto inhibitorio se dividió el diámetro del halo de inhibición para el diámetro de la placa.

$$\% \text{ Efecto inhibitorio} = \frac{D_o}{D_p} \times 100 \quad [2.1]$$

Donde:

D_o : Diámetro del halo de inhibición (cm)

D_p : Diámetro de la placa (cm)

2.1.6 TAMAÑO, ÍNDICE DE POLIDISPERSIDAD Y POTENCIAL Z DE LOS LIPOSOMAS

Para determinar el tamaño, índice de polidispersidad y potencial Z de los liposomas, se utilizó el método DLS (dispersión dinámica de luz) descrito por Foord et al. (1970, pp. 242-245). Se usó un analizador de tamaño de partículas NanoBrook 90 Plus Particle Size Analyzer de la Facultad de Ingeniería Mecánica, en las instalaciones del Laboratorio de Nuevos Materiales. Se diluyó la muestra a una concentración de 10 mg/mL, de cada tratamiento en agua destilada para realizar la medición. Se realizó por triplicado.

2.1.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados obtenidos en los ensayos realizados en el apartado 2.1., se realizó por medio del análisis de varianza ANOVA, con ayuda del programa Statgraphics Centurion XV, con 95% de confianza.

2.2 DETERMINACIÓN DE LA MEJOR FORMULACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE GELATINA, GLICEROL Y NATAMICINA ENCAPSULADA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

2.2.1 FORMULACIÓN DEL RECUBRIMIENTO

El recubrimiento se elaboró con la disolución de 16 g de gelatina, en 100 ml de agua destilada a pH 7. Esta solución de gelatina se sometió a un ciclo de sonicación a una amplitud de 40 % en un disruptor celular ultrasónico DAIGGER (modelo: EF2010F). La natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina se denominó solución liposomal. A continuación se mezcló la solución de gelatina con la solución liposomal en las siguientes proporciones 50 %, 30 %, y 10 % de solución liposomal con 50 %, 70 % y 90 % de solución de gelatina, respectivamente. Las soluciones de recubrimiento se mantuvieron a 30 °C y leve agitación, para evitar su solidificación. Para determinar la mejor formulación para la elaboración del recubrimiento, se utilizó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones, cuya variable de respuesta fue la actividad antifúngica.

2.2.2 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

Para evaluar la actividad antifúngica de las formulaciones con las que se elaboró el recubrimiento, se procedió de la manera descrita en la sección 2.1.5 y se usó la fórmula [2.1].

2.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos se analizaron con el software Statgraphics Centurion XV. El análisis estadístico de los datos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) con 95 % de confiabilidad.

2.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL RECUBRIMIENTO EN LA CALIDAD POSTCOSECHA DE LA FRESA (*Fragaria vesca*)

Para este estudio se utilizaron fresas (*Fragaria vesca*), provenientes del mercado San Roque de la ciudad de Quito. Las fresas fueron adquiridas el día en el que se dio el procesamiento. Se clasificaron por tamaño y grado de madurez (mínimo $\frac{3}{4}$ o el 75% de la superficie de color rojo), también se eliminaron las frutas que presentaron indicios de daño mecánico y/o signos de ataque fúngico a simple vista.

Para evaluar el efecto del recubrimiento en la calidad postcosecha de las fresas se usó fresas tratadas con el recubrimiento seleccionado en la sección 2.2. y un control que consistió en fresas sin recubrir. Antes de la aplicación del recubrimiento se procedió a inocular el hongo *Botrytis spp.*, en las fresas. Se colocaron las fresas en recipientes desechables estériles y se aplicó por aspersion 50 ml de una suspensión con esporas de *Botrytis spp.* ($2,6 \times 10^4$ esporas ml^{-1}). La suspensión se preparó trascurridos 7 días a partir de la siembra del hongo en placas de PDA, se adicionaron 5 mL de agua estéril y se procedió al lavado de la placa, el líquido resultante fue recolectado, agitado vigorosamente y filtrado, finalmente se lo colocó en un aspersor manual y se añadió 45 ml de agua estéril. La suspensión se roció en todas las fresas, es decir, las recubiertas y las que sirvieron como control.

La aplicación del recubrimiento fue mediante inmersión. Las fresas se sumergieron en la solución de recubrimiento por 15 segundos, posteriormente se colocaron los frutos ya recubiertos en unas rejillas de acero inoxidable a temperatura ambiente por 30 minutos, hasta que se sequen.

Las frutas recubiertas se almacenaron en empaques de PET perforados (30 frutos por contenedor) en una estufa a temperatura ambiente (17 a 23 °C) y humedad relativa del 75 %. La medición de los parámetros pérdida de peso, sólidos solubles, pH, acidez titulable y firmeza y análisis microbiológico, se hicieron a los 0, 4, 8 y 11 días de almacenamiento. Todos los análisis para cada uno de los tratamientos se hicieron por triplicado.

2.3.1 PÉRDIDA DE PESO

La pérdida de peso se determinó con el uso de 20 fresas, correspondientes a una muestra representativa de cada tratamiento, escogidas al azar; se usó una balanza Ohaus. La fruta fue debidamente etiquetada y pesada los días 0, 4, 8 y 11. El resultado se expresó en porcentaje de pérdida de peso.

2.3.2 FIRMEZA

Para determinar la firmeza se usaron 20 frutas, muestra representativa de cada tratamiento, con la ayuda de un penetrómetro manual y punta de 3 mm de diámetro. Se tomaron dos medidas por cada fruta en la zona ecuatorial de la misma. Los resultados se expresaron en Newton (N) (Silva, Abreu, Queiroz, Correa y Santos, 2012, pp. 353-354).

2.3.3 COLOR

La evaluación del color se realizó mediante el método CIELab, recomendado por la Commission Internationale de l' Eclairage CIE L^* a^* b^* . Donde L^* indica la luminosidad y varía del 0 (negro) al 100 (blanco), a^* y b^* son las coordenadas cromáticas, de manera que a^* varía de -60 (verde) a +60 (rojo) y b^* varía de -60 (azul) a +60 (amarillo). Con la ayuda del colorímetro Minolta se midió en tres lados diferentes de cada fruta, debido a que la fruta no tiene un color uniforme. Se utilizaron 20 fresas, muestra representativa de cada tratamiento.

La variación de color se midió a los 4, 8 y 11 días de almacenamiento y se determinó la variación de la luminosidad y la del componente cromático a^* , para ver el cambio de luminosidad o brillo y el cambio del color rojo.

2.3.4 SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES, pH Y ACIDEZ TITULABLE

Para la medición de estos parámetros se usaron 10 frutas escogidas al azar, muestra representativa por tratamiento, se trituraron las fresas en una licuadora OSTER y la suspensión se coló con la ayuda de un cedazo de malla fina. Los sólidos solubles totales se determinaron colocando una o dos gotas en un refractómetro manual y se hizo la lectura. La prueba se realizó por triplicado. La lectura resultante es el porcentaje de sólidos solubles expresados en ° Brix.

El pH se determinó mediante el método de la AOAC 942.15 (AOAC, 2005, p. 10). Se pesaron aproximadamente 10 g de fresa y se licuaron con 100 mL de agua desionizada, la suspensión se mantuvo en agitación constante durante 5 min, para homogenizar la muestra. Se introdujo el electrodo y se hizo la lectura cuando el equipo se estabilizó.

Para la medición de la acidez titulable se procedió de acuerdo con el método de la AOAC 942.15 (AOAC, 2005, p. 10). Se tomó la misma muestra preparada para medir el pH, a continuación se tituló con NaOH 0,1 N, hasta alcanzar un pH de 8,1. Los resultados se expresaron en porcentaje de ácido cítrico (mg de ácido cítrico/ 100 g de muestra) dado que este es el ácido predominante en la fresa. El porcentaje de acidez titulable se calcula de acuerdo con la ecuación 2.2.

$$A = \frac{V \times N \times f \times F}{P} \times 100 \quad [2.2]$$

Donde:

A: acidez titulable [%]

V: volumen del NaOH usado [mL]

N: normalidad del NaOH [# eq soluto/L]

f: factor de corrección del NaOH

F: factor del ácido predominante [0,064]

P: peso de la muestra [g]

2.3.5 POLIFENOLES TOTALES

Los polifenoles totales se determinaron por el método descrito por Slinkard y Singleton (1977, pp. 50-55). Este método se basa en una reacción reducción/oxidación (REDOX) entre los polifenoles contenidos en una muestra y el reactivo de FOLIN-CIOCALTEU.

Una vez preparada la muestra, se hizo la lectura de la absorbancia a 760 nm con un espectrofotómetro. Para la curva de calibración se utilizó ácido gálico entre 10 y 100 ppm. La prueba se realizó por triplicado para cada muestra.

2.3.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Para la medición de la capacidad antioxidante se usó el método ABTS, descrito por Alemán, Giménez, Pérez-Santin, Gómez-Guillén y Montero, usando como estándar ácido ascórbico. La solución madre de radical ABTS consistió en ABTS a 7 mM y peroxidisulfato de potasio 2,45 mM; se almacenó en la oscuridad a temperatura ambiente, por 16 h. Se diluyó la solución madre en agua destilada hasta que la absorbancia a 734 nm fue de $0,70 \pm 0,02$, la lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro Genesys, utilizando agua destilada como blanco; 20 μ L de la muestra se mezclaron con 980 μ L de reactivo ABTS y se procedió a la lectura a 734 nm, una vez que las muestras reposaron en la oscuridad a 30 ° C durante 10 min. La curva de calibración se realizó con diluciones entre 0 y 100 μ L de ácido ascórbico. Los resultados se presentaron como mg equivalentes de ac. ascórbico por cada 100 g de muestra (2011, p. 335). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado para cada muestra.

2.3.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El análisis microbiológico para mohos y levaduras, se realizó de acuerdo con la metodología descrita por Tournas, Stack, Mislivec, Koch y Bandler. Se tomaron como puntos de control los días 0, 4, 8 y 11 de almacenamiento (2001, pp. 1-10). El análisis se realizó en el Departamento de Ciencias de los Alimentos y Biotecnología (DECAB) de la misma institución.

2.3.8 ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial se hizo, con 12 panelistas semi-entrenados, en el día 0 para evaluar la preferencia y aceptabilidad del recubrimiento en las fresas. La evaluación se realizó mediante una escala hedónica de 9 puntos, con uno (más bajo) y nueve (más alto). Los atributos evaluados fueron: apariencia visual en general, olor, color, textura y sabor de las frutas recubiertas (Ramírez, 2012, p. 88).

La prueba se llevó a cabo en la sala de análisis sensorial del DECAB, conforme al protocolo de la norma ASTM E 1871–10 para evaluación sensorial de alimentos y bebidas (ASTM, 2010, p. 1).

A cada panelista se le entregaron 2 muestras (frutillas con y sin recubrimiento), cada muestra constó de 3 fresas escogidas al azar, codificadas con tres dígitos al azar. Las muestras se analizaron de izquierda a derecha. Se dotó a cada panelista de un vaso de agua para el enjuague bucal entre muestras.

2.3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos realizados en el apartado 2.3 se sometieron a un análisis estadístico de varianza ANOVA con 95 % de confiabilidad; mediante el uso del programa Statgraphics Centurion XV.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE NATAMICINA Y FOSFATIDILCOLINA EN LA ENCAPSULACIÓN DE NATAMICINA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

Las concentraciones de natamicina, utilizadas para conocer la capacidad mínima inhibitoria (CMI) y la capacidad antifúngica resultante para cada concentración, se muestra en la Tabla 3.1. Los ensayos realizados se pueden observar en el (Anexo I).

Tabla 3.1. Capacidad antifúngica en función de la concentración de la natamicina

Concentraciones de natamicina pura (g/L)	Halo de inhibición promedio (mm)	Capacidad antifúngica
5,0000	19,83 ± 0,55	Actividad alta
2,5000	15,53 ± 0,40	Actividad moderada
1,2500	12,35 ± 0,45	Actividad moderada
0,6250	0,00	No activo
0,3125	0,00	No activo
1,2500*	12,35 ± 0,45	Actividad moderada
1,1607	11,43 ± 0,15	Actividad moderada
1,0714	8,90 ± 0,40	Actividad leve
0,9821	0,00	No activo
0,8928	0,00	No activo
0,8035	0,00	No activo
0,7142	0,00	No activo
0,6250	0,00	No activo

Promedio ± σ (n=3)

* A partir de este dato se muestra las concentraciones para encontrar la CMI entre 1,25 y 0,625 g/L de natamicina

De los datos obtenidos se puede observar que las concentraciones de natamicina pura 0,6250 y 0,3125 g/L no poseen ninguna capacidad antifúngica, pero la

concentración de natamicina pura de 1,2500 g/L tiene una actividad moderada de acuerdo con los criterios de evaluación descritos en la sección 2.1.1. Por esto la capacidad mínima inhibitoria (CMI) de la natamicina se analizó entre las concentraciones 1,2500 y 0,6250 g/L.

De los datos obtenidos, se determinó que la CMI de natamicina pura fue de 1,0714 g/L, según lo estudiado por Mozafari (2005), los compuestos al estar encapsulados disminuyen su actividad, liberándose el compuesto paulatinamente (p. 717). Por lo tanto, se decidió duplicar la CMI, a partir de esto la concentración mínima con la que se trabajó la presente investigación fue de 2 g/L de natamicina pura. Se fijó la concentración máxima de natamicina pura en 5 g/L, es decir, el rango con el que se trabajó fue entre 10 y 4 g/L de natamicina comercial (50 % principio activo y 50 % lactosa). La duplicación de la concentración 1,25 g/L que presentó una actividad moderada para la inhibición del hongo, está dentro del rango escogido.

3.1.1 TAMAÑO DE LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

Los valores presentados en la Tabla 3.2 corresponden al promedio de los tamaños de los liposomas, registrados por el analizador de tamaño de partículas NanoBrook 90 Plus Particle Size Analyzer usando el método DLS, según lo indicado en las secciones 2.1.6 y 2.1.7.

Tabla 3.2. Tamaño promedio de liposomas de fosfatidilcolina

Tratamiento	Tamaño promedio
T1	269,77 ± 07,02
T2	350,20 ± 26,65
T3	259,37 ± 19,76
T4	321,70 ± 22,81
T5	190,37 ± 11,30
T6	369,83 ± 19,15

Promedio ± σ (n=3)

En la Tabla 3.3 se muestra el análisis de varianza, con nivel de confianza del 95 % para el tamaño de los liposomas

Tabla 3.3. Análisis estadístico de varianza para el tamaño de los liposomas

FUENTE	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:Natamicina	1	2676,05	3,34	0,0947
B:Fosfatidilcolina	1	51927,9	64,87	0,0000*
AB	1	7360,65	9,20	0,0114*
Bloques	2	48,9539	0,06	0,9410
Error total	11	800,504		
Total (corr.)	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

* Valores estadísticamente significativos

El análisis de varianza, expuesto en la Tabla 3.3 muestra que existe un efecto estadísticamente significativo de la concentración de fosfatidilcolina (FC) y la interacción de la concentración de FC y natamicina, sobre el tamaño de liposomas, con un nivel de confianza del 95 %. Para la concentración de natamicina, cuyo valor-P resultó ser 0,0947, no existe un efecto estadísticamente significativo sobre el tamaño de los liposomas.

En la Figura 3.1 se muestra la incidencia de la concentración de FC y concentración de natamicina sobre el tamaño de los liposomas.

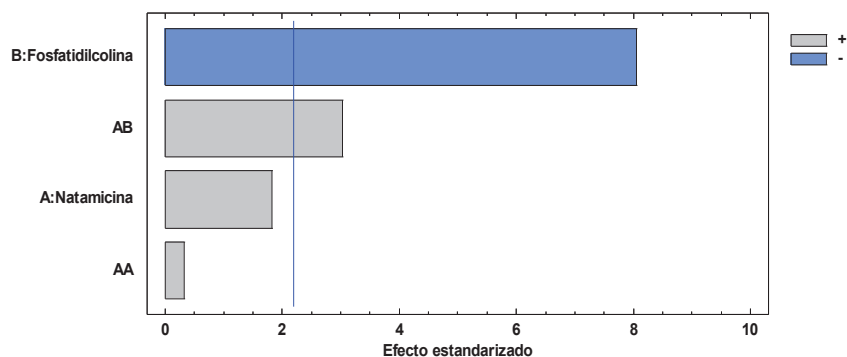


Figura 3.1. Diagrama de Pareto para el tamaño de liposomas

Según Taylor, Gaysinsky, Davidson, Bruce y Weiss. (2007), el tamaño de los liposomas no tiene una relación directa con la concentración de péptidos encapsulados (p. 5). En la presente investigación tampoco se pudo establecer una correlación entre la concentración de natamicina y el tamaño medio de los liposomas.

En la Figura 3.2 se presenta el tamaño promedio de los liposomas de todos los tratamientos.

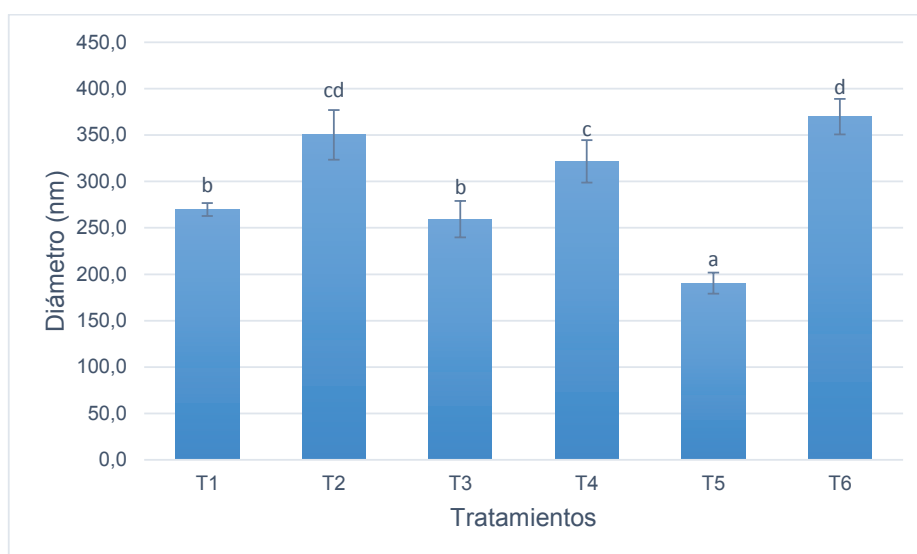


Figura 3.2. Diámetro medio de los liposomas entre los distintos tratamientos

De acuerdo con la Figura 3.2 existe una relación inversamente proporcional entre la concentración de FC y el tamaño medio de los liposomas, por tanto el tamaño de los liposomas de FC obtenidos son cercanos entre los tratamientos que tienen igual concentración de FC; es decir, para los tratamientos T1 y T3 el tamaño de los liposomas es muy cercano, con 3,85 % de diferencia entre ellos, para el T5 la diferencia de diámetros entre los tratamientos que contienen la misma concentración de FC es del 24 %, es un porcentaje considerable, pero sigue la misma tendencia por lo que se podría decir que el tamaño de liposomas para T1, T3 y T5 son cercanos, debido a que la concentración de FC 5 g/L es igual para los tres tratamientos, comparando el tamaño de los tratamientos T2, T4 y T6 que tienen una concentración de 2 % de FC con los de los tratamientos T1, T3 y T5 estos son

mayores. El tamaño de los tratamientos T2, T4 y T6 tienen una diferencia del 5,3 % entre T2 y T6, el T4 tiene una diferencia de tamaño del 10,6 % en comparación a T2 y T6, la diferencia de tamaños es baja por lo que se puede decir que los tamaños son muy cercanos entre los tratamientos que contienen la misma concentración de FC.

Según Mohanraj y Chen, las partículas con un diámetro entre 10 y 100 nm se consideran nanopartículas (2006, p. 562). Por tanto ninguno de los tratamientos evaluados dio como resultado nanopartículas.

El tamaño medio de los liposomas es una particularidad importante que se debe tomar en cuenta, ya que existe evidencia de que cuanto más pequeño sea el tamaño del liposoma, mayor será la eficiencia de liberación del compuesto encapsulado (Ramezani, Khoshhamdam, Dehshahri y Malaekheh-Nikouei, 2009, p. 4). La tendencia encontrada en la presente investigación entre el tamaño de los liposomas y la concentración de fosfatidilcolina es similar a los resultados obtenidos por Bayas y Brito (2009, p. 108), donde para concentraciones de 12,75 % y 4,25 % de fosfatidilcolina obtuvieron unos tamaños de 28,9 y 51,8 nm respectivamente, por lo tanto entre mayor sea la concentración de FC menor será el tamaño del liposoma.

El tamaño de los liposomas obtenidos en este estudio, está dentro del tamaño esperado, de acuerdo con Laouini et al. (2012) el tamaño medio de los liposomas obtenidos por el método de calentamiento oscila entre, 160 y 2 250 nm (p. 154). El tamaño de los liposomas obtenidos es mayor a los descritos por Bayas y Brito $28,9 \pm 13,6$ y $51,8 \pm 22,6$ (2009, p. 108), pero son similares a los obtenidos por Taylor, Gaysinsky, Davidson, Bruce y Weiss (2007) tras la inclusión de nisina en liposomas de FC los tamaños de partícula a 25°C fueron entre $122,7 \pm 6,2$ y $310,1 \pm 104,9$ nm, tampoco se encontró relación entre el aumento de la concentración de nisina y el tamaño medio de los liposomas (p. 5).

Se ha evidenciado que otro de los factores que tiene una influencia significativa en el tamaño de los liposomas se relaciona con las condiciones de sonicación (Silva et al., 2008; Honary y Zahir, 2012). Silva, Little, Ferreira y Cavaco-Paulo (2008)

refirieron que a mayor amplitud de sonicación, el tamaño y la polidispersidad decrecieron porque se transmitía mayor energía a la solución (p. 1 027). En la presente investigación, la amplitud y tiempo de sonicación se mantuvieron constantes para todos los tratamientos. Según los resultados obtenidos en este trabajo, se determinó que la mejor concentración para obtener el menor tamaño en los liposomas es de 5 % de FC y 4 g/L de natamicina.

3.1.2 ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN

En la Tabla 3.4 se muestra la polidispersidad de los liposomas obtenidos de cada tratamiento.

Tabla 3.4. Índice de polidispersión para liposomas de fosfatidilcolina

Tratamiento	Índice de Polidispersión
T1	0,33 ± 0,04
T2	0,35 ± 0,04
T3	0,34 ± 0,02
T4	0,31 ± 0,03
T5	0,29 ± 0,03
T6	0,35 ± 0,01

Promedio ± σ (n=3)

Respecto al índice de polidispersión, se observó a partir de los resultados obtenidos, que todos los tratamientos tienen valores cercanos, la mayor diferencia es de 17,14 % en el índice de polidispersidad del T5, es decir, la concentración tanto de FC como la de natamicina no tuvieron influencia en el índice de polidispersidad. Se puede asociar este efecto tal y como lo explica Silva et al. (2008) en su trabajo donde la amplitud de sonicación, fue la única variable que presentó un efecto significativo en la polidispersidad de los sistemas (p. 1 027).

Como ya se mencionó, la amplitud se mantuvo constante para todos los tratamientos, por lo que su índice de polidispersidad no tuvo mayor variación entre

los tratamientos. Los valores obtenidos estuvieron entre 0,26 – 0,32 y 0,31 - 0,39, estos valores fueron los esperados. De acuerdo con Da Silva Malheiros, Sant'Anna, Micheletto, Da Silveira y Brandelli (2011, p. 3 448) y Honary y Zahir (2012, p. 170), que establecieron para sistemas preparados a partir de materiales biológicos, el índice de polidispersión suele estar en un rango de 0,20 a 0,39 (p. 3 547).

Todos los valores obtenidos son mayores a 0,2 y 0,3, esto refleja que ninguno de los tratamientos es monodisperso, es decir, no poseen un solo tamaño de partículas según lo mencionado en la sección 1.3.2.2.

3.1.3 POTENCIAL ZETA

Los valores presentados en la Tabla 3.5 corresponden al promedio del potencial zeta (Z) de los liposomas, registrados por el analizador de tamaño de partículas NanoBrook 90 Plus Particle Size Analyzer.

Tabla 3.5. Promedio de potencial zeta de los liposomas

Tratamiento	Potencial Z
T1	-45,87 ± 1,58
T2	-44,02 ± 1,61
T3	-40,71 ± 0,73
T4	-40,59 ± 1,31
T5	-38,63 ± 1,03
T6	-46,46 ± 0,75

Promedio ± σ (n=3)

En la Tabla 3.6 se muestra el análisis de varianza con un nivel de confianza del 95% para el potencial Z de los liposomas.

El análisis de varianza presentado en la Tabla 3.6 muestra que existe un efecto estadísticamente significativo de la concentración de natamicina y la concentración de FC. La interacción entre las concentraciones de FC y natamicina también tiene un efecto significativo sobre el potencial Z. La interacción cuadrática de las

concentraciones de la natamicina, al tener un valor $P < 0,05$ significa que la concentración de natamicina tiene un efecto cuadrático estadísticamente significativo sobre el potencial Z de liposomas, con un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 3.6. Análisis estadístico de varianza para el potencial Z

FUENTE	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:Natamicina	1	17,232	6,93	0,0233*
B:Fosfatidilcolina	1	17,1503	6,90	0,0236*
AA	1	38,3574	15,43	0,0024*
AB	1	70,2768	28,27	0,0002*
Bloques	2	0,0740722	0,03	0,9707
Error total	11	2,48607		
Total (corr.)	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

* Valores estadísticamente significativos

En la Figura 3.3 se muestra el diagrama de Pareto para el potencial Z de los liposomas.

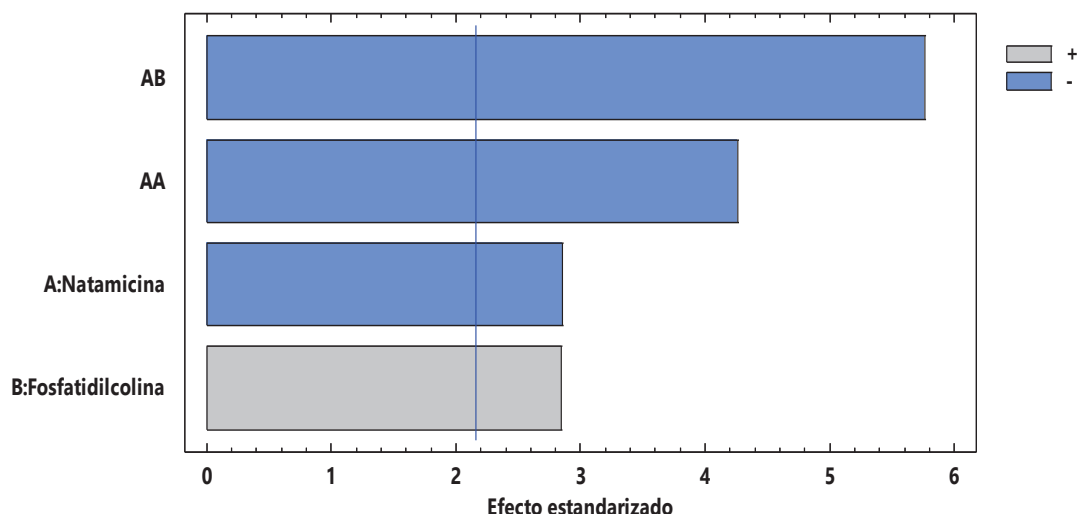


Figura 3.3. Efecto de los factores (A y B) e interacciones estadísticamente significativas sobre el potencial Z

De acuerdo con la Figura 3.3 la concentración de natamicina tiene una relación inversamente proporcional sobre el potencial Z; es decir, si la concentración de natamicina aumenta el potencial Z decrece. Tanto las concentraciones de FC y natamicina tienen una influencia similar sobre el potencial Z. Pero la relación entre la concentración de FC y natamicina tiene la mayor influencia sobre el potencial zeta, demostrando que la suspensión liposomal formada por estos dos compuestos es fundamental para una buena estabilidad de los liposomas. Además existe una relación cuadrática inversamente proporcional de la concentración de natamicina (interacción AA) respecto al potencial Z de los liposomas.

Además se evidencia que la concentración de FC tiene una relación directamente proporcional sobre la variable de respuesta potencial Z; es decir, que a medida que la concentración de FC aumenta, el potencial Z incrementa.

La Figura 3.4 muestra, de mejor manera, la interacción entre los factores sobre el potencial Z.

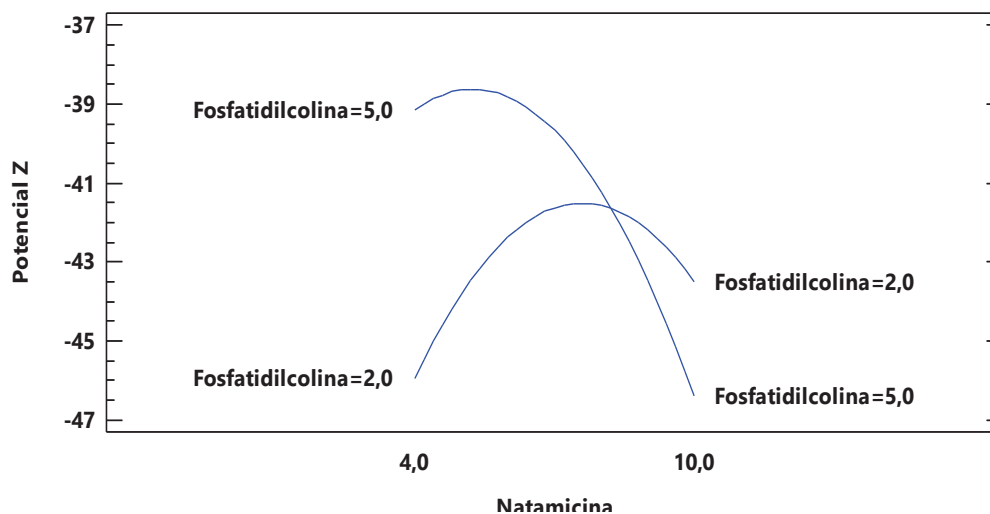


Figura 3.4. Interacción de la concentración de fosfatidilcolina y natamicina para el potencial Z

En la Figura 3.4 se puede observar que la concentración de FC tiene un efecto cuadrático inversamente proporcional sobre el potencial Z; es decir, posee un valor máximo y un valor mínimo, en un inicio tiende a subir hasta alcanzar el valor máximo

y luego desciende hasta el valor mínimo. A mayores concentraciones de natamicina, el potencial Z se incrementó al principio hasta llegar a -41,4 mV, luego fue disminuyendo a medida que la concentración de natamicina aumentaba.

Como se menciona en el apartado 1.3.2.3 para escoger el mejor tratamiento respecto al potencial Z, la medida del mismo debe ser mayor a + 30 mV o menor a - 30 mV (Mohanraj y Chen, 2006, p. 565). Todos los tratamientos dan un valor menor que - 30 mV; pero de todos los tratamientos probados el T6 (2 % de FC y 4 g/L de natamicina) y el T1 (5 % de FC y 10 g/L de natamicina) son los que presentaron los menores valores para el potencial Z. Para optimizar la respuesta de la interacción de las concentraciones de FC y natamicina, sobre el potencial Z y conocer cuál es la concentración de FC y natamicina que da el mejor valor del potencial Z; es decir el menor valor, se recurrió a la gráfica de superficie de respuesta mostrada en la Figura 3.5. La optimización del potencial Z se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Potencial Z} = -70,1683 + 6,29981 \cdot \text{Natamicina} + 4,41519 \cdot \text{Fosfatidilcolina} - 0,344074 \cdot \text{Natamicina}^2 - 0,537778 \cdot \text{Natamicina} \cdot \text{Fosfatidilcolina} \quad [3.1]$$

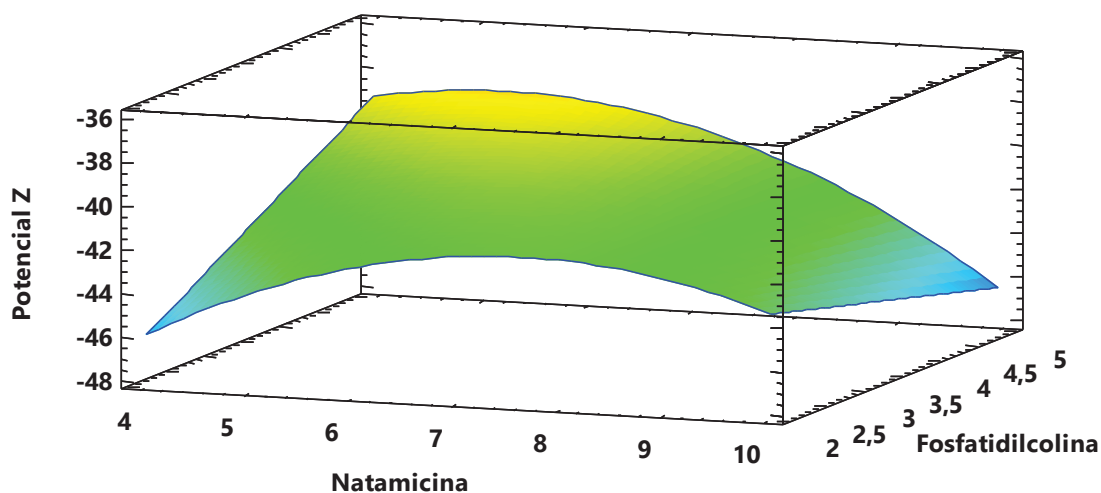


Figura 3.5. Potencial Z en función de la concentración de fosfatidilcolina y natamicina

Para encontrar el óptimo se minimizó el valor del potencial Z, de acuerdo con la Figura 3.5. Los colores fríos, como el azul, señalan el menor valor para el potencial

Z; mientras que, los colores cálidos, como el amarillo, muestran el mayor valor. La respuesta óptima para el potencial Z fue de -46,39 mV, la misma que fue la del tratamiento T1 (5 % FC y 10 g/L de natamicina). Aunque el valor obtenido por el tratamiento T6 (2 % FC y 4 g/L de natamicina) fue muy cercano, se deberá analizar todos los parámetros del diseño.

Según lo mencionado en el apartado 1.3.2.3, los liposomas con un potencial Z menor a -30 mV son estables en suspensión debido a que la carga superficial evita la agregación de las partículas. Por lo que se puede decir que los liposomas obtenidos en esta investigación son estables en cualquiera de los tratamientos analizados.

Las diferentes interacciones entre fosfolípidos y el compuesto a encapsular, pueden influir en el valor de la carga superficial de los liposomas. Según Taylor et al. (2007) se han encontrado valores de - 8,3 mV en liposomas de fosfatidilcolina vacíos (p. 5). En la presente investigación, se aumentó la concentración de glicerol generalmente usada en el método de calentamiento descrito por Mozafari para la elaboración de liposomas; el aumento de la concentración del glicerol puede ayudar en la estabilidad de los liposomas, debido a su solubilidad en agua, además no necesita ser eliminado del producto final (Mozafari, 2005, p. 716-717).

Estudios realizados con el mismo fosfolípido usado en la presente investigación, presentaron valores entre -52.28 (encapsulado de nisina) y -27.42 mV (encapsulado de péptido antimicrobiano P34) para el potencial Z (da Silva Malheiros et al., 2010, p. 1 200; da Silva Malheiros et al., 2011, p. 3 548). Los valores obtenidos, en todos los tratamientos evaluados están dentro de este rango.

3.1.4 AISLAMIENTO DEL HONGO PATÓGENO

Para el aislamiento del hongo se partió de fresas infectadas con podredumbre o moho gris (nombre común del hongo *Botrytis cinerea*.) como se puede observar en la Figura 3.6. El hongo ataca a la fresa en las distintas etapas de desarrollo de la

misma; los síntomas presentados en la fresa son: ablandamiento de tejidos con presencia de agua y aparición de masas grises de conidios del hongo (Williamson, Tudzynski, Tudzynski, y J., 2007, p. 562).



Figura 3.6. Fresas (*Fragaria vesca*) con ataque de *Botrytis spp.*
(Fuente propia)

Los aislamientos hechos a partir de fresas infectadas, en placas con medio de cultivo PDA, se compararon con datos bibliográficos donde se pudo identificar que se trataba del hongo *Botrytis spp.*, a través de las características morfológicas y de crecimiento propias del hongo.

Botrytis cinerea es un hongo haploide, filamentoso y heterotálico, las hifas son ramificadas y septadas. Produce conidios asexuales en conidióforos que se forman directamente a partir de hifas. Los conidióforos poseen generalmente una célula basal hinchada fuerte y con un alto de 2-5 mm aproximadamente; ramificada de forma irregular cerca del ápice y de color marrón oscuro. Los conidios (8-14 x 6-9 micras) pueden ser unicelular, multinucleadas o de forma ovoide o esférica (Sutton, 1998, p. 29; Shao, Zhang, Ren, y Chen, 2014, p. 1).

Las colonias pueden ser de tipo micelial, esclerocial o esporulante. Las miceliales son una colonia de crecimiento rápido, abundante y de apariencia algodonosa y color pardo; las esclerociales tienen un crecimiento más lento, el micelio es escaso inicialmente de color blanco y luego de color gris a pardo, con abundantes esclerocios de color negro. Los esclerocios poseen varias capas exteriores

formadas por células de paredes oscuras, lo que le da ese color negro. (Sutton, 1998, p. 29).

Para confirmar su identidad se procedió a tomar fotografías con el microscopio, para comparar las fotografías con fotografías de bibliografía. En la Figura 3.7 se muestra fotos de los conidios e hifas del hongo *Botrytis cinerea*. **a** y **b** son fotografías de *Botrytis cinerea*, publicadas por Wang, Zhang, Chen, Fan y Shi (2010, p. 4) y Williamson, Tudzynski, Tudzynski, y Van Kan, (2007, p. 5) respectivamente, y las fotografías a su lado derecho son las fotos tomadas del hongo aislado durante este estudio. La fotografía **a** representa la masa conidial en la ramificación de las hifas aéreas y la fotografía **b** representa la parte basal y superior de las hifas.

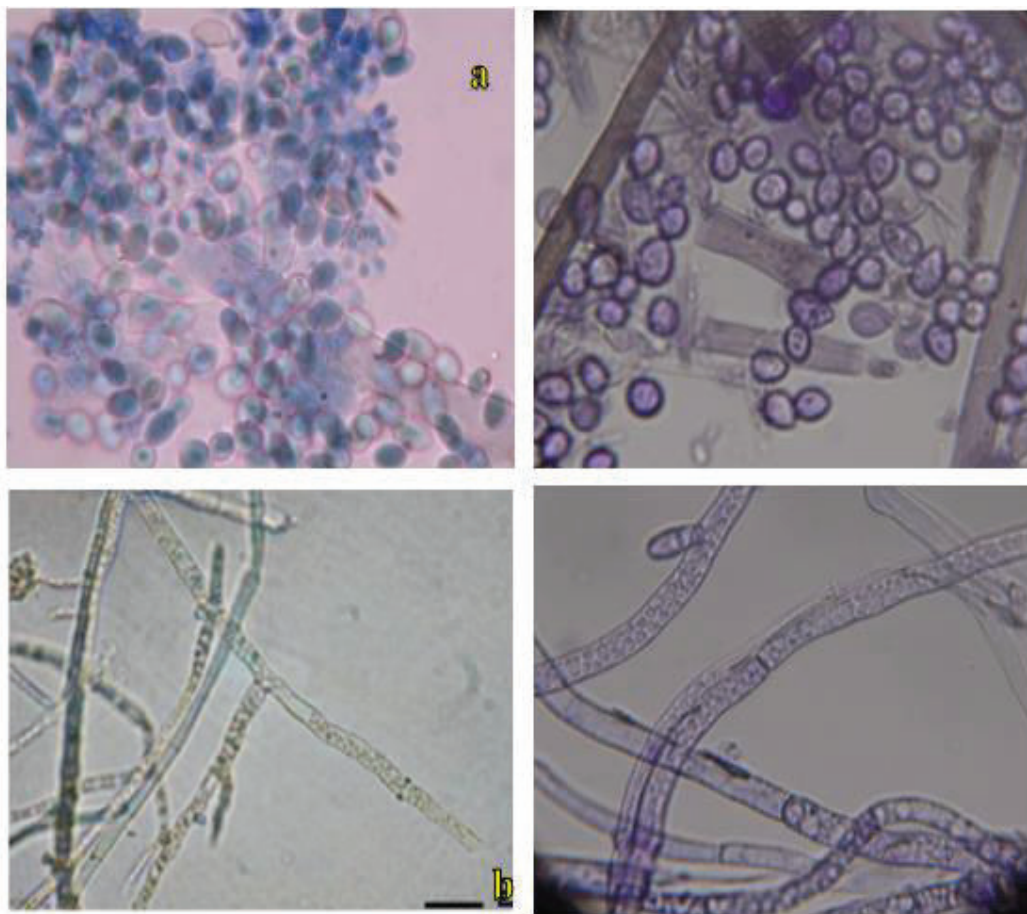


Figura 3.7. Conidios e hifas aéreas de *Botrytis cinerea*. Derecha (a y b) bibliografía, izquierda fotos de hongo aislado (Wang et al., 2010, p. 4; Williamson et al., 2007, p. 5)

Para poder visualizar el hongo de mejor manera y tomar fotografías del hongo con el microscopio, se procedió a tinturas las estructuras fúngicas, con el método de tinción fúngica con colorantes vegetales descrita por González, Diamont, y Gutiérrez (2011, pp. 66-67)

Por lo que se observa en la Figura 3.7, con ayuda un microscopio, el hongo presenta características morfológicas y de crecimiento correspondiente a *Botrytis cinerea*, como colonias algodonosas inicialmente de color blanco que luego se tornan de color pardo o gris, el hongo también presentó esclerocios cuando su estado de madurez era avanzado. Al comparar las fotografías de trabajos realizados para la identificación de *Botrytis cinerea*, se puede observar que son idénticas entre las fotografías de bibliografía y las fotografías tomadas al hongo aislado. Por lo que se puede concluir que el hongo aislado se trata del hongo *Botrytis*, pero para conocer la especie del hongo hace falta la aplicación de técnicas moleculares; por ello se denominará el hongo aislado como *Botrytis spp.*

3.1.5 INHIBICIÓN DE *Botrytis spp.*

En la Tabla 3.7 se presenta los resultados obtenidos de todos los tratamiento, para el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis spp.*, mediante el método de halo de inhibición descrito en la sección 2.1.5.

Tabla 3.7. Porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis spp.*

Tratamiento	Promedio de Inhibición (%)
T1	25,94 ± 0,57
T2	24,11 ± 0,54
T3	20,86 ± 0,45
T4	20,16 ± 0,67
T5	18,98 ± 0,31
T6	17,65 ± 0,33

Promedio ± σ (n=3)

En la Tabla 3.8 se muestra el análisis de varianza ANOVA con nivel de confianza del 95% para el porcentaje de inhibición de *Botrytis spp.*

Tabla 3.8. Análisis estadístico de varianza para porcentaje de inhibición

Fuente	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Natamicina	1	135,072	470,99	0,0000*
B:Fosfatidilcolina	1	7,42409	25,89	0,0002*
AA	1	5,35151	18,66	0,0008*
AB	1	0,1875	0,65	0,4333
Error total	13	0,286783		
Total (corr.)	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

* Valores estadísticamente significativos

El análisis de varianza presentado en la Tabla 3.8 muestra que existe un efecto estadísticamente significativo de la concentración de natamicina y la concentración de PC sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo con un valor de P de 0,000 y 0,0002 respectivamente. La interacción AA al tener un valor P < 0,05 significa que la concentración de natamicina tiene un efecto cuadrático estadísticamente significativo sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo, con un nivel de confianza del 95 %.

En la Figura 3.8 se presenta el diagrama de Pareto para la inhibición del crecimiento del hongo *Botrytis spp.*

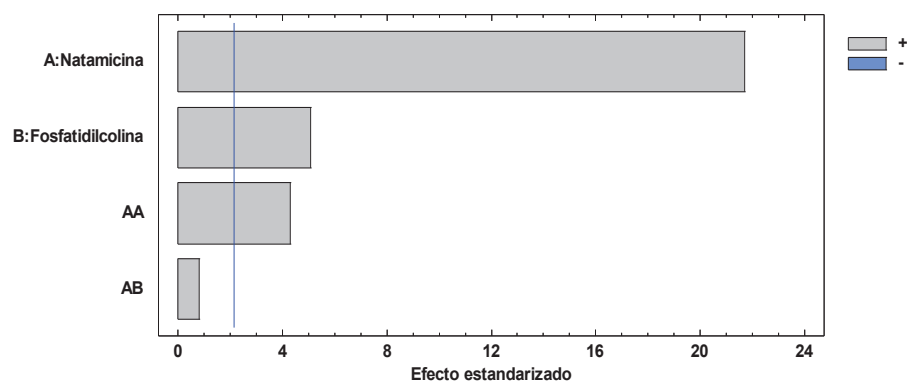


Figura 3.8. Diagrama de Pareto para el porcentaje de inhibición del crecimiento

Se muestra que la concentración de natamicina tiene el efecto más importante sobre el porcentaje de inhibición del crecimiento de *Botrytis spp.* La concentración de fosfatidilcolina y la interacción AA tienen un efecto mucho menor a la concentración de natamicina con un 95 % de confiabilidad.

Para visualizar que tratamiento propuesto tuvo el mejor porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo *Botrytis spp.*, se recurrió a la gráfica de superficie de respuesta mostrada en la Figura 3.9, donde se observa el mejor valor obtenido de todos los tratamientos probados en el diseño experimental con un nivel de confianza del 95 %.

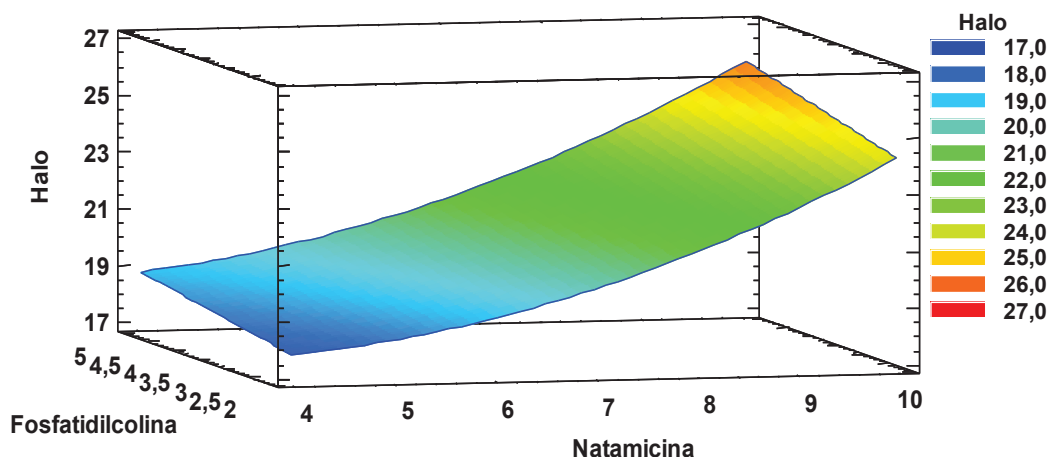


Figura 3.9. Superficie de respuesta para el porcentaje de inhibición de crecimiento

La optimización para la inhibición del crecimiento de *Botrytis spp.*, se llevó a cabo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Halo de inhibición} = 18,1611 - 0,778148 * \text{Natamicina} + 0,233704 * \text{Fosfatidilcolina} + 0,128519 * \text{Natamicina}^2 + 0,0277778 * \text{Natamicina} * \text{Fosfatidilcolina} \quad [3.2]$$

En la Figura 3.9 muestra los diferentes valores obtenidos para el porcentaje de inhibición de crecimiento de *Botrytis spp.*, los colores fríos están en la zona donde se obtuvo los menores valores, mientras que los colores cálidos son para los valores obtenidos más altos; para el porcentaje de inhibición nos interesa los valores más altos. De todos los tratamientos propuestos, el valor más alto obtenido

es de $25,94 \pm 0,6$ con el tratamiento T1 (5 % PC y 10 g/L de natamicina).

La baja solubilidad acuosa de la natamicina presenta una ventaja y una desventaja a la vez. Debido a su baja solubilidad acuosa tiende a quedarse en la superficie de los productos en que se aplica, es decir, no puede absorberse en el alimento por tanto es muy eficaz para prevenir el ataque de mohos y levaduras ; pero esta misma característica de la natamicina limita la cantidad de natamicina libre para la actividad antifúngica y disminuye la velocidad de difusión del antifúngico al sitio de acción, por lo que no se puede asegurar la concentración mínima requerida para la inhibición del crecimiento del hongo esté disponible (Bouaoud et al., 2015, p. 2).

La encapsulación del antifúngico permite una mayor biodisponibilidad del compuesto, disminuye la degradación y permite su liberación controlada, hoy en día todas estas ventajas son altamente deseada para mejorar la funcionalidad de la natamicina (Weiss, Gaysinsky, Davidson, y McClements, 2009, p. 426).

La eficiencia de encapsulación es muy variable ya que depende de la composición del liposoma y del compuesto a encapsular. Se han descrito valores de eficiencia de encapsulación menores a 20% y mayores a 90% (da Silva Malheiros et al., 2010, p. 1 201). Aunque la encapsulación en liposomas se usa generalmente para antimicóticos y antibióticos, las formulaciones liposomales han demostrado su capacidad para alcanzar mejoras significativas en la actividad antifúngica, biodisponibilidad y estabilidad de compuestos antimicrobianos a encapsular (Weiss, Gaysinsky, Davidson, y McClements, 2009, p. 427; Zhang, Pornpattananangkul, Hu, y Huang, 2010, p. 586). Los liposomas han sido ampliamente estudiados y caracterizados para otros antimicóticos, por ejemplo, anfotericina B y nistatina (Ng, Wasan, y Lopez-Berestein, 2003, p. 68). Además, la encapsulación en liposomas impide la degradación proteolítica y las interacciones con otros componentes del alimento cuando el péptido antimicrobiano es aplicado directamente en la superficie de los alimentos (da Silva Malheiros et al., 2010, p. 1 201).

En un estudio realizado por Balaguer et al. (2014), sugiere que la incorporación de

la natamicina 0,5 % (2,56 mg/g valor de natamicina pura) en las películas basadas en gliadina con cinamaldehído (1,5; 3 y 5 %), aumentó los porcentajes de inhibición del crecimiento para *Penicillium spp.* Para la película basada en gliadina con 5 % de cinamaldehído, el porcentaje de inhibición de crecimiento para *Penicillium spp.*, fue de 33% mientras que con la incorporación de natamicina aumentó el porcentaje de inhibición hasta un 73 %, es decir que la natamicina aportó con un 40 % más de inhibición al crecimiento antifúngico. Hay que notar que este estudio uso pimarcina (50 % natamicina, 50 % lactosa) como fuente de natamicina activa, pero todos los valores de natamicina se los describe como en contenido de natamicina pura sin lactosa (pp. 62-64)

El mejor resultado obtenido de los tratamientos propuestos en la presente investigación para el porcentaje de inhibición es de 26 %, para una concentración de pimarcina (natamicina 50 % y lactosa 50 %) de 10 g/L. Este es un valor menor al obtenido por Balaguer et al. (2014). Probablemente esto puede deberse a que no toda la natamicina incorporada está disponible para la actividad antifúngica y su eficiencia de encapsulación pudo haber sido baja. Este fenómeno no pudo haberse dado por la baja solubilidad de la natamicina en agua, porque cuando el compuesto es encapsulado e incorporado en un recubrimiento la solubilidad de un compuesto no influye.

La baja solubilidad de la natamicina afecta cuando la natamicina es incorporada de forma directa a películas o recubrimientos como es el caso del trabajo realizado por Balaguer et al. (2014), donde realizaron una recuperación de la natamicina disuelta en metanol antes del contacto con el agar, este fue de 0,032 mg/g, lo que representa alrededor 1,25 % de la cantidad teórica incorporada (2,56 mg/g) en la película (pp. 66-67). Otros autores como Hanušová et al., determinaron un valor similar de liberación de natamicina para películas de polietileno recubierto por cloruro de polivinilideno (PVdC) o laca de nitrocelulosa (NC) con adición de natamicina. Encontraron que la liberación de natamicina de la cantidad total incorporada fue del 2,6 % para las películas recubiertas por PVdC y 2,7 % para películas con NC (2010, p. 492).

De acuerdo con la información del fabricante de la pimaricina usada en la presente investigación, la concentración recomendada de compuesto para inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* es de 1,0 - 2,0 mg/ml, debido a su alta efectividad para combatir mohos y levaduras. La concentración de pimaricina (natamicina comercial) que dio el mejor resultado en inhibición del hongo *Botrytis spp.*, en placas de PDA fue de 10 g/L, de esta cantidad de natamicina comercial solo 5 g/L es del principio activo; por lo cual se puede decir que el porcentaje de eficiencia de encapsulación fue bajo.

Con los datos obtenidos, para el tamaño de los liposomas el mejor tratamiento es el T5 (5 % de FC y 4 g/L de natamicina); pero para potencial Z y el porcentaje de inhibición de crecimiento del hongo, el tratamiento T1 (5 % de FC y 10 g/L de natamicina) es el óptimo; siendo la inhibición de crecimiento del hongo el factor de mayor interés en la investigación, por lo tanto podemos concluir que el T1 es el óptimo para el diseño planteado en el apartado 2.1 correspondiente al primer objetivo.

3.2 DETERMINACIÓN DE LA MEJOR FORMULACIÓN PARA LA ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO A BASE DE GELATINA, GLICEROL Y NATAMICINA ENCAPSULADA EN LIPOSOMAS DE FOSFATIDILCOLINA

En la Tabla 3.9 se muestra los resultados de las formulaciones preparadas como se describe en la sección 2.2.1, para la elaboración del recubrimiento.

Tabla 3.9. Porcentaje de la actividad antifúngica de las formulaciones

Formulaciones	Actividad antifúngica (%)
F1	0,70 ± 2,13
F2	14,14 ± 0,27
F3	22,84 ± 0,23

Promedio ± σ (n=3)

En la Tabla 3.10 se muestra el análisis de varianza con nivel de confianza del 95 % para la determinación de la mejor formulación para el recubrimiento.

Tabla 3.10. Análisis estadístico de varianza para determinar la mejor formulación

Fuente	GL	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2	354,588	228,14	0,0000*
Intra grupos	6	1,55426		
Total (Corr.)	8			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

* Valores estadísticamente significativos

De acuerdo con la Tabla 3.10 se puede ver que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las formulaciones probadas con un 95 % de confiabilidad. Para visualiza mejor si los grupos son homogéneos o no, tenemos la Figura 3.12.

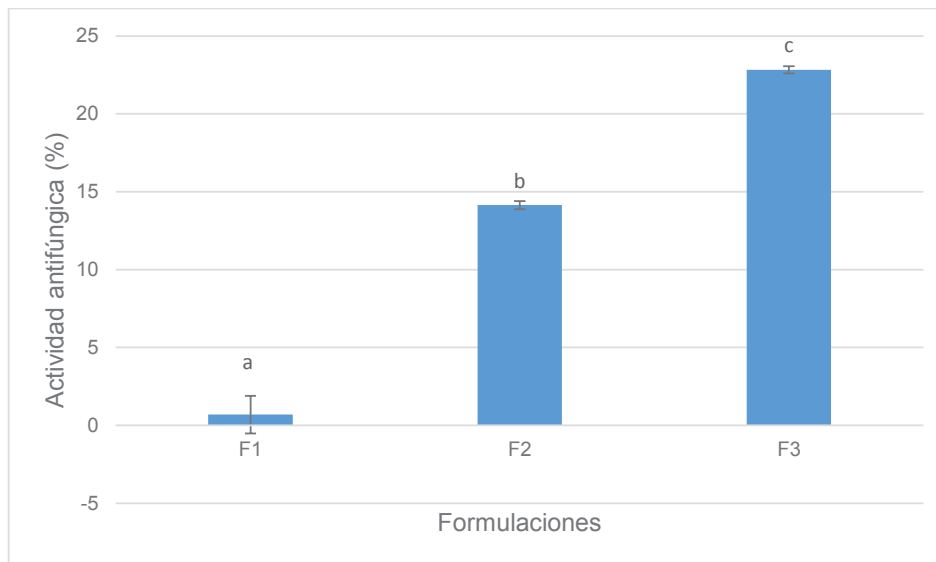


Figura 3.10. Porcentaje de actividad antifúngica vs formulaciones

En la Figura 3.12 se puede ver que se tiene grupos no homogéneos cuyos rangos están bien marcados. Se puede observar también que la formulación F3 (50% de

solución liposomal, 50 % solución de gelatina) es la mejor opción para tener la mayor actividad antifúngica del recubrimiento.

La variabilidad de la formulación 1 es mayor a las otras formulaciones, debido a que de las tres repeticiones realizadas, dos resultaron sin inhibición es decir 0 % de inhibición al crecimiento del hongo pero la tercera repetición presentó un porcentaje del 2 % aproximadamente. En dicha repetición se observó la presencia de una bacteria la cual se presume tuvo un efecto inhibitorio en el crecimiento del hongo, la contaminación de la bacteria pudo haberse presentado en el momento de la colocación de los discos en la placa con PDA (Anexo 1).

El resultado obtenido es esperado; ya que, de los tratamientos anteriormente probados, el mejor tratamiento es el que tiene mayor concentración de natamicina pura (5 g/L). Además al mezclar 50 % de solución liposomal y 50 % de solución de gelatina el principio activo está en menor concentración que la concentración inicial (5 g/L natamicina pura). Por tanto si se tiene un mayor porcentaje de solución liposomal se tendrá un mayor porcentaje en la actividad antifúngica de recubrimiento. La actividad antimicrobiana de una película o un recubrimiento es porque los liposomas se fusionan con la membrana o pared celular de los microorganismos y liberan el compuesto encapsulado en el interior de las células. Además el mecanismo de acción de la natamicina antifúngico utilizado en este estudio es alterar la permeabilidad de la pared celular del microorganismo y de esta manera inhibir su crecimiento (Chen et al., 2008, p. 5 059).

La formulación con menor actividad antifúngica es la de 10 % de solución liposomal y 90 % de solución de gelatina; es decir, mientras menor es la concentración de solución liposomal menor será la actividad antifúngica del recubrimiento, esto se debe a que mientras menor sea el porcentaje de solución liposomal menor cantidad de natamicina posee el recubrimiento.

Se utilizó una solución de gelatina al 16 %, y glicerol 1 % que fue incorporado en la solución liposomal, el glicerol se usa generalmente como plastificante en la elaboración de recubrimiento por lo que se puede decir que se trata de un

recubrimiento de tipo proteico (Gennadios, 2002, p. 7). Gol y Rao (2013), determinaron que un recubrimiento de tipo proteico a base de gelatina 10 % y zeina 5 %, dio buenos resultados para retrasar la maduración, mantener los atributos de calidad y alargar la vida útil del mango (p. 112).

Trejo, Ramos, y Pérez (2007), realizó un trabajo donde medía diferentes concentraciones de gelatina y distintos tiempos de inmersión de la fruta en el recubrimiento, donde concluyó que la gelatina usada como recubrimiento prolongó la vida útil de la fresa hasta 10 días en refrigeración; mejorando de manera notable la calidad de la fruta, debido al retraso en la senescencia del fruto por modificaciones en la atmósfera que rodea la misma. El recubrimiento comestible funcionó como barrera al oxígeno y la humedad y de esta manera aumenta la vida útil de la fresa (p. 982).

Según Chambi y Grosso (2011), la gelatina permite aumentar el contenido de proteínas en el recubrimiento, debido a que contiene entre 84 y 90 % de la misma; la gelatina utilizada en la presente investigación es de origen animal, su valor biológico es mayor en comparación a las proteínas vegetales, por la presencia de aminoácidos esenciales como la glicina y prolina, por lo que la proteína en el producto final incrementó en un 30 % (p. 63).

Las proteínas como la gelatina (proteína utilizada en la presente investigación) forman recubrimientos pobres en retención de vapor de agua por su naturaleza hidrofílica, pero presentan buena barrera para evitar el intercambio de gases entre la fruta y el ambiente y proporciona buenas propiedades mecánicas para el recubrimiento (Baldwin et al., 2012, p. 5).

3.3 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL RECUBRIMIENTO EN LA CALIDAD POSTCOSECHA DE LA FRESA (*Fragaria vesca*)

Una vez determina la mejor formulación (50 % de solución liposomal y 50 % de solución de gelatina), se recubrió 30 fresas por cada muestra por el método de

inmersión. Las fresas fueron seleccionadas para trabajar con frutas similares en tamaño, color y grado de madurez y así obtener resultados más homogéneos.

Se analizó las fresas recubiertas con la mejor formulación elegida en el objetivo anterior y las fresas sin recubrir que sirvieron como control a lo largo de 11 días de almacenamiento a una temperatura de $21 \pm 2,6$ °C y humedad relativa de $75 \pm 8,4$ %.

En la Tabla 3.11 se muestra los resultados del porcentaje de pérdida de peso y la firmeza expresada en Newton (N), de las fresas respecto al tiempo de almacenamiento a los 0, 4, 8 y 11 días. Las condiciones de almacenamiento son $21 \pm 2,6$ °C y una humedad relativa de $75 \pm 8,4$ % (ver perfil de temperatura y humedad en Anexo II), las variaciones tanto de temperatura como de humedad relativa fue debido a que la estufa usada para el almacenamiento no permitía regular ni temperatura ni humedad relativa. La humedad relativa se mantenía en ese rango con la ayuda de una bandeja de agua en el piso de la estufa, el registro de la temperatura y humedad se llevó a cabo con la ayuda de un higrómetro digital.

Tabla 3.11. Porcentaje de pérdida de peso y firmeza respecto al tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)	Tratamiento	Porcentaje de pérdida de peso (%)	Firmeza (N)
0	SR	0	$3,69 \pm 0,37$
	CR	0	$3,69 \pm 0,37$
4	SR	$11,35 \pm 0,01$	$2,56 \pm 0,2$
	CR	$3,78 \pm 0,0016$	$3,13 \pm 0,269$
8	CR	$18,52 \pm 0,0034$	$1,82 \pm 0,303$
11	CR	$38,25 \pm 0,00042$	$0,94 \pm 0,312$

Promedio \pm σ (n=20)

Para los días 8 y 11, no se pudo tomar los datos para la muestra control (fresas sin recubrimiento) en todos los ensayos realizados para evaluar el efecto del recubrimiento en la calidad de fresa (*Fragaria vesca*), debido a que al día 5 la

muestra tuvo un alto grado de ataque de *Botrytis spp.*, y se descompuso en su totalidad, motivo por el cual se procedió a eliminar esta muestra.

3.3.1 PÉRDIDA DE PESO

La disminución del peso está relacionado con la temperatura y humedad de del medio de almacenamiento, material de empaque, etc. La pérdida de peso está directamente relacionada con la pérdida de agua (Atress, El-Mogy, Aboul-Anean, y Alsanius, 2010, pp. 88-89).

La fresa al tener una piel muy delgada es muy susceptible a perder humedad en forma de agua, esto ocasiona el deterioro visible de la fruta, arrugándose y haciendo sus tejidos más blandos, es por esto que la pérdida de peso en la etapa de postcosecha es el factor más importante (Velickova, Winkelhausen, Kuzmanova, Alves, y Moldo-Martins, 2013, pág. 80).

Los recubrimientos a más de proporcionar buenas características mecánicas deben limitar el intercambio de gases entre la fruta y el medio que la rodea y disminuir la migración de vapor de agua (Dhall, 2013, p. 436). Los resultados de la presente investigación muestran que tanto las frutas recubiertas como el control tienen una pérdida de peso de forma gradual. Sin embargo las fresas recubiertas tienen una menor pérdida de peso comparadas con las fresas de control.

En la Figura 3.11 se muestra la pérdida de peso en función del tiempo de almacenamiento de los dos tratamientos analizados. El análisis se hizo en 30 frutos por cada tratamiento a los 0, 4, 8 y 11 días de almacenamiento.

De acuerdo a la Figura 3.11, el análisis ANOVA muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre la muestra con recubrimiento y la que no tiene recubrimiento para el porcentaje de pérdida de peso. Para el día 8 y 11 no se puede hacer una comparación debido a que la muestra sin recubrimiento se desechó por su pésimo estado. Análisis ANOVA en el Anexo III.

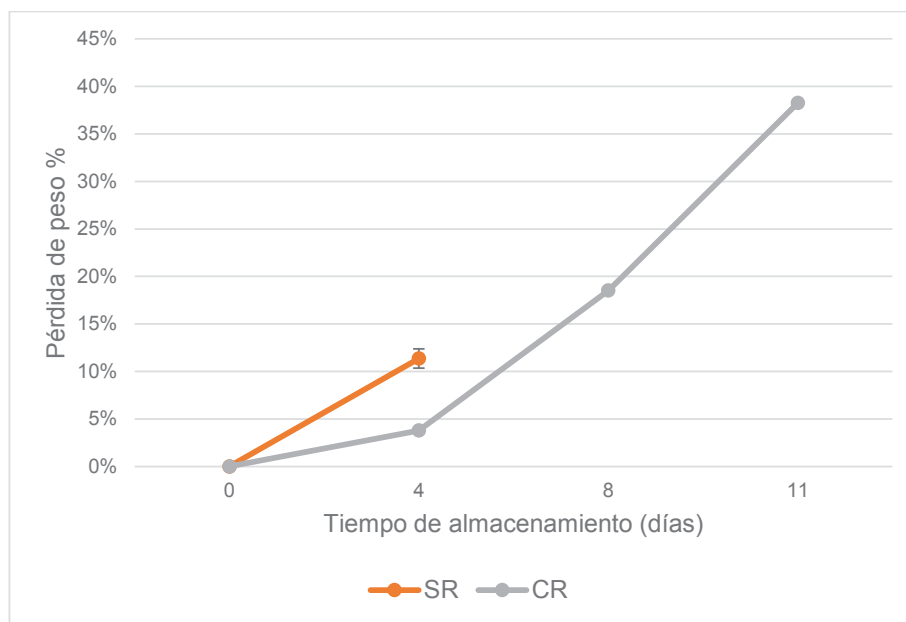


Figura 3.11. Pérdida de peso en fresas respecto al tiempo de almacenamiento. Líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)

Se observa que la pérdida de peso en el día 4 para las fresas con recubrimiento fue de 3,78 % mientras que para las fresas sin recubrimiento fue de 11,35 %. El valor del porcentaje de las fresas con recubrimiento en el día 4, está dentro de los porcentajes de pérdida de humedad aceptables para la comercialización de productos frutícolas (Wills, McGlasson, Graham, y Joyce, 1999, p. 69). Pero el porcentaje obtenido en las fresas sin recubrimiento, no está ya dentro de los límites permitidos de pérdida de humedad.

En definitiva la pérdida de peso, es el resultado de la pérdida de agua resultante del gradiente de vapor existente entre el ambiente y la fruta, la mayor migración de vapor se da por la superficie de la fresa y de daños mecánicos en la misma (Woodward, 1972, p. 467).

Los valores obtenidos el día 8 (18,52 %) y 11 (38,25 %), están fuera de los porcentajes aceptables de pérdida de humedad. Esto probablemente se dio por las condiciones de almacenamiento ($T 21 \pm 2,6$ °C, y $HR 75 \pm 8,4$ %), cuando la humedad relativa recomendada para la fresa es de 90% (Atress et al. 2010, p. 89).

Además el recubrimiento elaborado es de tipo proteico, este tipo recubrimientos (a base de proteínas y plastificadas con glicerol) presentan una excelente barrera para el O₂, CO₂, y C₂H₄ pero su desventaja es la poca barrera para la migración de vapor de agua (Gennadios, 2002, p. 7).

Los resultados obtenidos son menores a los encontrados por Fakhouri et al., (2014) en fresas recubiertas por inmersión, con gelatina 5 % con monocristales de celulosa, y glicerol 10 %, que al octavo día de almacenamiento en refrigeración la pérdida de peso en las fresas sin recubrimiento fue de alrededor del 65%, mientras que la pérdida de peso de las fresas recubiertas está en un rango 31-36% (p. 3); tomando en cuenta el porcentaje acumulado la pérdida total al día 4 en las fresas con recubrimiento es de 22,3 %, y para el día 11 se tiene una pérdida total de 61 % aproximadamente, estos valores son menores tomando en cuenta que el estudio se realizó a condiciones ambientales. Empero los resultados son mucho mayores en cuanto a la pérdida de peso a los encontrados por Trejo (2010), quien usó un recubrimiento a base de gelatina del 1 al 3%, glicerol 1% y tween 60 0,6 %; a los 10 días de almacenamiento en refrigeración, la pérdida de peso para las fresas sin recubrimiento fue de 13% y para las fresas recubiertas de aproximadamente un 6%.

Con el recubrimiento planteado por la presente investigación se logra disminuir la pérdida de peso hasta en un 66,7 % respecto a la muestra control en el día 4 bajo las siguientes condiciones T 21±2,6 °C y una HR de 75±8,4 %. La reducción de pérdida de peso encontrada por Trejo (2010) fue de hasta 50 % en condiciones de refrigeración. La pérdida de humedad tuvo un efecto negativo sobre la apariencia general de la fresa, su apariencia se tornó marchita y opaca.

3.3.2 FIRMEZA

Además de lo mencionado en el apartado 1.1.5.1., la firmeza también es un índice de resistencia a daños físicos ocasionados por medios mecánicos, esto puede ser durante la recolección, manipulación y transporte; depende de la forma y momento de recolección y temperatura de almacenamiento (Gooding, 1976, p. 72). Una de

la funciones de los recubrimientos es proporcionar protección a los alimentos de daños físicos y mecánicos.

En la Tabla 3.11 se puede observar que tanto las fresas con recubrimiento y las no recubiertas presenta disminución en la firmeza en el transcurso del tiempo de almacenamiento. La firmeza de las fresas para esta investigación se encontró en un rango entre 3 y 4,5 N, el rango está dentro de los valores típicos para diferentes cultivares (Ornelas-Paz et al., 2013, p. 375). Según Döving y Mage (2002), la dispersión de valores en las mediciones de la firmeza, puede deberse a múltiples factores: al estado de madurez de las fresas, a las condiciones climáticas y agronómicas donde fueron cultivadas y la temperatura a la que se mide la firmeza; la firmeza tiende a disminuir cuando la temperatura promedio aumenta en cualquier método usado (p.44).

En la Figura 3.12 se observa la disminución de la firmeza en las fresas con y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento (0, 4, 8 y 11 días). No existen datos para el día 8 y 11 de las fresas sin recubrimiento por que la muestra fue desecha por su pésimo estado. Para la realización de este trabajo, se seleccionaron fresas sanas, con 3/4 de maduración y de tamaño y color uniforme (el color es un índice estado de madurez), para así evitar mucha variabilidad en los datos (Ourecky y Bourne, 1968, p. 318).

De acuerdo a lo mostrado en la Figura 3.12 existe una diferencia estadísticamente significativa con un 95 % de confianza entre las fresas con recubrimiento y las sin recubrir, en la firmeza analizado en el día 4 (ver análisis ANOVA en Anexo III). Para las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento la firmeza tiende a disminuir a lo largo del tiempo de almacenamiento de forma significativa, pero en las fresas sin recubrimiento lo hace de manera más acelerada. El cambio metabólico en la respiración de los alimentos (frutas y vegetales), el ataque de microorganismos patógenos y la pérdida de agua puede estar relacionado de forma directa con la pérdida de la firmeza, debido a esto la fruta presenta una senescencia más pronunciada (Velickova et al., 2013, pág. 85).

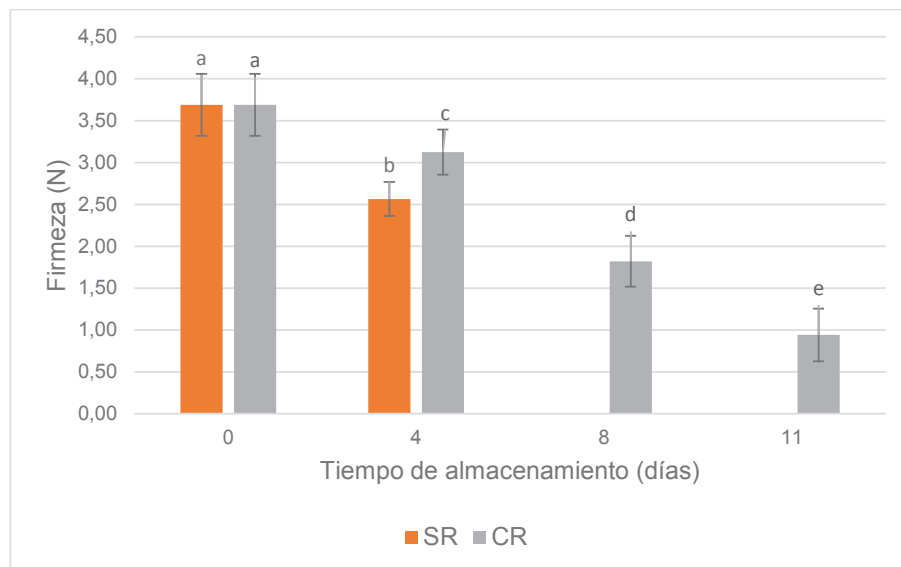


Figura 3.12. Firmeza de fresas con recubrimiento (CR) y sin recubrimiento (SR) resto al tiempo de almacenamiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)

Para el día 4 la fresas con recubrimiento tuvieron una firmeza de $3,13 \pm 1,01$ y las sin recubrir de $2,56 \pm 1,01$; se logró tener una disminución del 18,2% en la pérdida de firmeza respecto a las fresas sin recubrir. Las fresas sin recubrir presentaron una pérdida de firmeza del 28 %, mientras que las fresas con recubrimiento presentaron un 15 % en la pérdida de la firmeza. La firmeza de las fresas con recubrimiento al día 11 fue de $0,94 \pm 0,505$, valor 4 veces menor respecto al valor inicial de firmeza en las fresas.

Los resultados obtenidos son menores respecto a los descritos por Trejo (2010), donde se obtuvo que la aplicación del recubrimiento de gelatina tuvo una influencia significativa en la firmeza de las frutas, ya que las frutos sin recubrimiento presentaron una pérdida de firmeza del 62% a los 10 días de almacenamiento en refrigeración, mientras que las fresas con recubrimiento presentaron los siguientes valores para pérdida de firmeza, entre 17 % y 20 % para el recubrimiento con 1% de gelatina y distintos tiempos de inmersión, 17 a 22 % para recubrimiento de 2 % de gelatina a distintos tiempos de inmersión y de 17 a 19 % en recubrimientos de 3 % de gelatina a distintos tiempos de inmersión excepto para el tiempo 10 min, donde obtuvo un valor del 14 % en pérdida de firmeza.

Bosquez, Guerrero y Verdun (2003), afirmar que la influencia de la concentración de gelatina para mantener la firmeza, es debido a que un polímero muy ramificado eleva el nivel de cohesividad de los recubrimientos en medida de su concentración en la dispersión; mientras que un polímeros lineal poco compacto tiende a formar recubrimientos poco funcionales ya que forman estructuras poco resistentes (p. 889).

3.3.3 COLOR

En el caso de la fresa el color es un atributo muy importante ya que va asociado al estado de madurez de la fruta, por tanto si presenta el color típico de la fresa rojo intenso en la mayoría de su superficie tiene mayor grado de aceptación por el consumidor (Thompson A., 1996, p. 36).

En la Tabla 3.12 se muestra los datos obtenidos para el color de las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento 0, 4, 8 y 11 días. No existen datos de día 8 y 11 para las fresas sin recubrimiento debido a que la muestra fue desechada por su mal estado.

Tabla 3.12. Variación de parámetros de color (Método CIELab) para las fresas con y sin recubrimiento en función del tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)		L*	a*	b*
0		53,21 ± 9,46	21,29 ± 2,3	25,13 ± 6,72
4	SR	48,75 ± 11,29	25,81 ± 3,24	26,26 ± 5,01
	CR	50,01 ± 9,66	21,68 ± 2,69	22,95 ± 7,03
8	SR	-	-	-
	CR	47,42 ± 7,86	22,55 ± 2,44	21,71 ± 7,31
11	SR	-	-	-
	CR	42,34 ± 7,47	23,36 ± 3,14	20,68 ± 6,71

Promedio ± σ (n=20)

L*=luminosidad

a*= coordenadas rojo-verde (+a rojo, -a verde)

b* = coordenadas amarillo-azul (+b amarillo, -b azul)

Para el caso de las fresas se toma en cuenta la variación del parámetro luminosidad (L^*) y coordenadas rojo/verde (a^*). De acuerdo a la Tabla 3.4, para el día 4 la variación de la luminosidad para las fresas con recubrimiento fue de $50,01 \pm 9,95$ y $48,79 \pm 11,29$ para las fresas sin recubrimiento, lo cual indica que las fresas se opacaron en un 6,2 % para las fresas con recubrimiento y un 8,5 % para las fresas sin recubrimiento, de acuerdo a lo discutido anteriormente la pérdida de agua incide en el brillo de la fruta.

En cuanto al parámetro a^* la variación fue de 21,33 % para las fresas sin recubrimiento, esto se da por la maduración de la fruta que está estrechamente ligado con el color, entre mayor grado de madurez la fresa adquiere el color rojo típico de esta fruta rojo intenso; para las fresas con recubrimiento la variación en el color rojo fue de 1,4 %.

En la Figura 3.13, se muestra la variación de la luminosidad para las fresas con y sin recubrimiento a lo largo de los días de almacenamiento a $T 21 \pm 2,6$ °C y una HR de $75 \pm 8,4$ %.

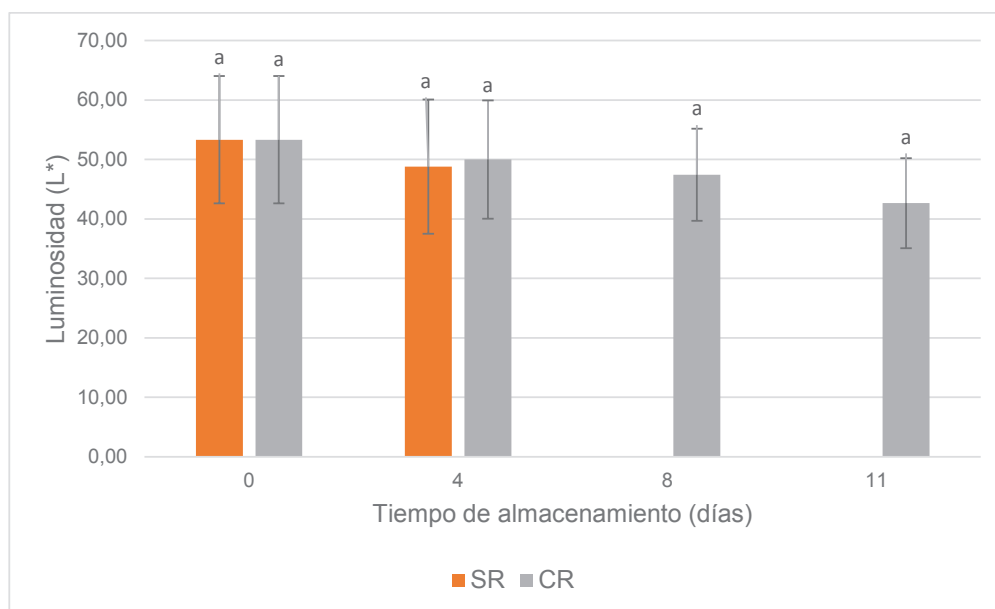


Figura 3.13. Variación de la luminosidad en función del tiempo de almacenamiento para fresas con recubrimiento (CR) y sin recubrimiento (SR). Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=20)

La Figura 3.13 muestra que no existe diferencia estadísticamente significativa con un 95 % de confiabilidad en la luminosidad tanto para las fresas con recubrimiento y las no recubiertas hasta el día 4 del tiempo de almacenamiento. La luminosidad tiende a bajar en los dos casos, pero al día 4 para las fresas sin recubrir la tendencia a disminuir la luminosidad es mayor que en las fresas sin recubrir, esta tendencia se mantiene a lo largo del tiempo de almacenamiento en las fresas con recubrimiento. Al final del de almacenamiento día 11 se tiene una disminución de luminosidad del 20% para las fresas con recubrimiento, lo cual representa una disminución baja, por lo tanto se debería tener datos de las fresas sin recubrir para conocer si el recubrimiento tiene o no un efecto significativo en la luminosidad de las fresas.

La disminución de la luminosidad de las fresas se da por la pérdida de humedad de las frutas, lo que las torna más opacas (Perdones, Sanchez, Chiralt, y Vargas, 2012, pág. 34). Las fresas analizadas en esta investigación perdieron humedad, pero su luminosidad no se vio afectada, esto puede haberse dado por el brillo que le proporcionó la gelatina. Según Del Valle, Hernández, Guarda y Galotto (2005), la concentración del glicerol y fosfatidilcolina en el recubrimiento no tiene una influencia significativa en la luminosidad L^* de la fresas (p. 752), en la presente investigación tampoco se encontró que la concentración de glicerol y fosfatidilcolina tuvieran un efecto sobre la luminosidad de las fresas.

La variación del parámetro a^* respecto al tiempo de almacenamiento 0, 4, 8 y 11 días, para las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento se lo muestra en la Figura 3.14.

En la Figura 3.14 se muestra que no existe diferencia estadísticamente significativa en el parámetro a^* entre las fresas recubiertas y las fresas sin recubrir con nivel de confianza del 95 %. La aplicación del recubrimiento disminuyó en un 16 % la variación del color en el día 4 de almacenamiento, lo cual implica que el recubrimiento no tiene una influencia significativa en la variación del parámetro a^* . El parámetro a^* tiende a subir a lo largo del tiempo de almacenamiento, en el caso de las fresas sin recubrimiento la variación del parámetro a^* es más pronunciada.

Tanto L^* y a^* varían con el tiempo de almacenamiento de la fruta debido a la síntesis de antocianinas (pigmento que contribuye en el color rojo de las fresas) durante la maduración de la fruta, por tanto la fruta se torna más roja y más oscura mientras transcurre el tiempo de almacenamiento.

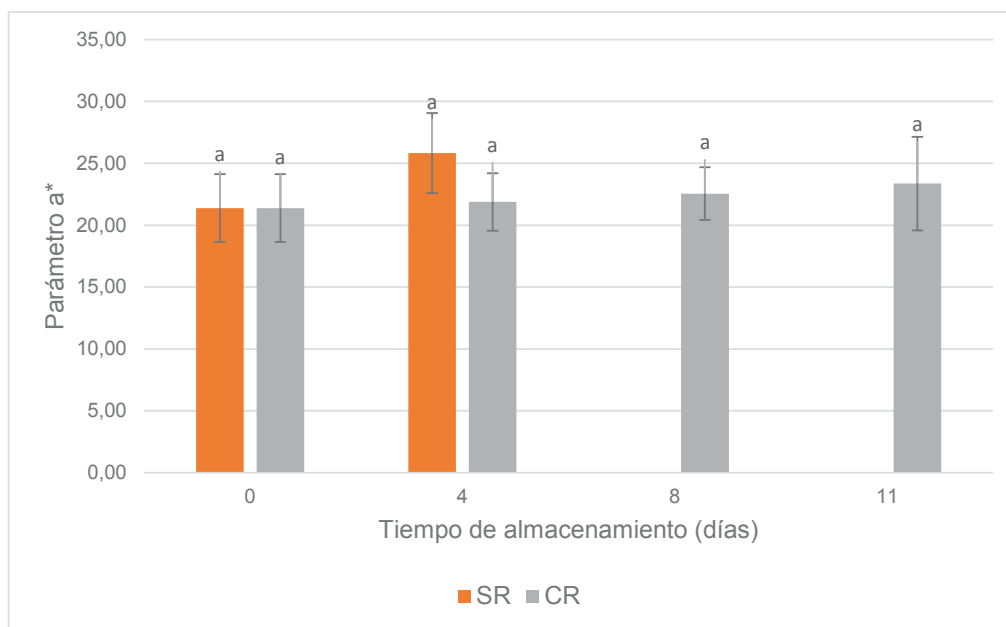


Figura 3.14. Variación del parámetro a^* respecto a días de almacenamiento para fresas con y sin recubrimiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar ($n=20$)

Los resultados obtenidos son similares a los descritos por Duran et al. (2016), el cual refiere que no existe diferencia estadísticamente significativa en la luminosidad L^* para distintos recubrimientos a base de quitosano con natamicina o nisina. Aunque para el parámetro enrojecimiento a^* hay diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, no existe diferencia significativa entre frutos recubiertos y no recubiertos (pp. 357-358).

3.3.4 ACIDEZ TITULABLE, PH Y SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

En la Tabla 3.13 se muestra los datos obtenidos para los parámetros pH, acidez titulable y sólidos solubles totales (SST) en función del tiempo de almacenamiento para las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.13. Sólidos solubles totales, pH y acidez titulable en función del tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)	Trat.	Sólidos solubles totales (° Brix)	pH	Acidez titulable (%)
0	SR	10,5 ± 0,50	3,53 ± 0,10	0,72 ± 0,046
	CR	10,5 ± 0,50	3,53 ± 0,10	0,72 ± 0,046
4	SR	12,3 ± 0,20	2,41 ± 0,07	2,13 ± 0,039
	CR	11,0 ± 0,50	2,69 ± 0,045	1,77 ± 0,043
8	CR	14,3 ± 0,64	2,64 ± 0,06	1,86 ± 0,030
11	CR	22,5 ± 0,5	3,43 ± 0,045	0,89 ± 0,061

Promedio ± σ (n=10)

Trat.: tratamiento

De acuerdo a lo mostrado en la Tabla 3.13 los valores obtenidos para pH, acidez titulable y sólidos solubles totales a lo largo del tiempo de almacenamiento están dentro de los rangos promedios aceptados para las fresas, excepto para los valores obtenidos en sólidos solubles totales a partir de día 8 y los valores de acidez titulable al día 11, que son superiores a los promedios aceptables. Los valores de pH fluctuaron entre 3,53 y 4,24, la acidez titulable oscila entre 0,43 y 0,78, los valores para sólidos solubles totales están entre 10,5 y 22,5 ° Brix. El valor de acidez titulable sale del rango promedio (0, 5- 1,87) en el día 4 (2,13) (Ornelas et al., 2013, p. 375).

Para que una fresa sea aceptable debe tener por lo mínimo de 7 % de sólidos solubles totales y 0,8 % de acidez titulable (Velickova et al., 2013, p. 90), tanto las fresas recubiertas como las sin recubrir serían aceptables para el consumo hasta el día 4.

3.3.4.1 Sólidos solubles totales (SST)

Los resultados obtenidos para los sólidos solubles totales de las fresas con y sin recubrimiento se muestran en la Tabla 3.13.

En la Figura 3.15 se muestra los datos obtenidos para sólidos solubles totales a través del tiempo de almacenamiento para fresas con recubrimiento y fresas sin recubrimiento.

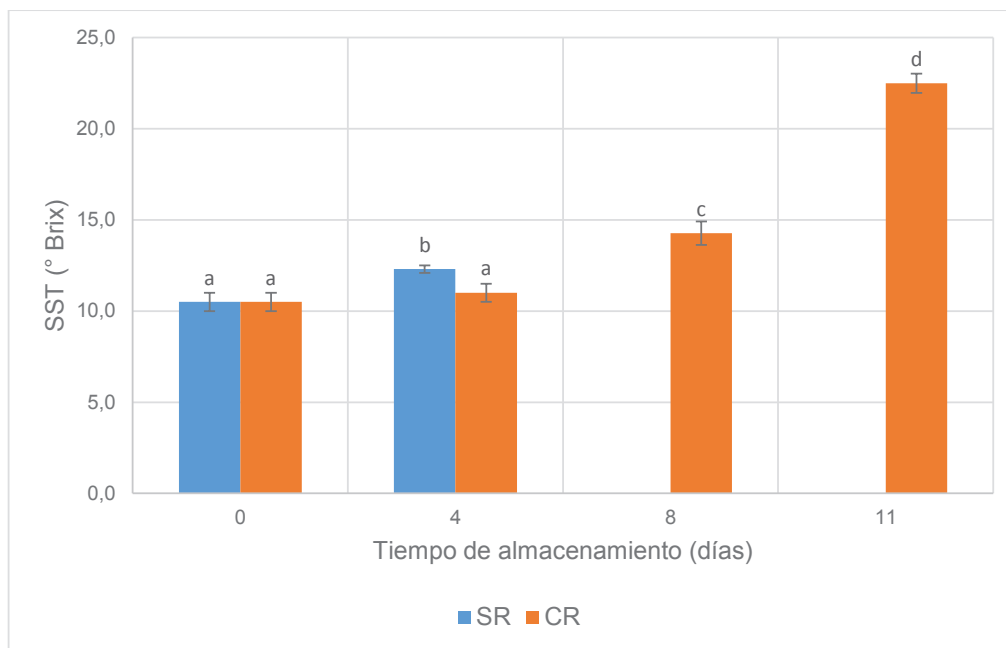


Figura 3.15. Sólidos solubles totales de fresas con y sin recubrimiento, expresado en ° Brix en función del tiempo de almacenamiento. Las líneas verticales muestran la desviación estándar (n=10)

De lo mostrado en la Figura 3.15, existen diferencias estadísticamente significativas en los valores de sólidos solubles totales hasta el día 4 para fresas con recubrimiento y sin recubrir, a partir del día 8 hasta el 11 se puede ver que el tiempo de almacenamiento tiene un efecto significativo sobre los sólidos solubles totales. Al término del tiempo de almacenamiento se tuvo un incremento del 114 % en los SST respecto a los sólidos solubles totales iniciales.

El aumento en los sólidos solubles totales puede ser por una conversión de almidón en azúcar; pero no es posible debido a que la fresa no posee almidón; el aumento significativo de los sólidos totales en el día 11 es por deshidratación de la fruta. La fresa debe su sabor dulce al fraccionamiento de la sacarosa la cual se almacena en la fruta durante la primera fase de su vida (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 365).

La fresa al ser un fruto no climatérico, los azúcares se acumulan durante la maduración de la fruta, por ello la fresa debe cosecharse madura o cerca a completarse su maduración y de esta forma garantizar su aceptabilidad por parte del consumidor (Velickova et al., 2013, pág. 91).

Para este estudio los sólidos solubles totales aumentaron con el tiempo, debido a que los azúcares se concentraron por la pérdida de agua, esta misma tendencia de aumentar el contenido de sólidos solubles con el transcurso del tiempo de almacenamiento fue reportada por Ornelas et al., (2013, p. 375). Los datos obtenidos son similares a otros trabajos como el de Trejo (2007), donde refiere que el recubriendo no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los sólidos solubles totales ya que frutas sin recubrimiento y con recubrimiento presentaron un aumento en los sólidos solubles (p. 234).

3.3.4.2 Potencial hidrógeno (pH)

El pH de una fruta es una medida en forma indirecta de la acidez de la fruta, es la medida de la concentración de iones hidrógeno (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 366). Los resultados obtenidos del pH de fresas con y sin recubrimiento se muestran en la Tabla 3.13.

En la Figura 3.16 se muestra la variación del pH en fresas con y sin recubrimiento respecto al tiempo de almacenamiento 0, 4, 8 y 11 días.

De acuerdo a la Figura 3.16, el recubrimiento existe un efecto estadísticamente significativo sobre el pH de las fresas con un 95 % de confianza analizado en el día 4. El recubrimiento redujo el incremento de pH en un 10,7 %. El pH tiende a disminuir en el transcurso del tiempo de almacenamiento. Al día 11 presenta un dato atípico que no sigue con la tendencia que se estaba presentando. Esto puede darse porque el pH aumenta cuando la fruta entra a la etapa de senescencia, debido a que la fruta usa los ácidos orgánicos presentes en la misma para la respiración.

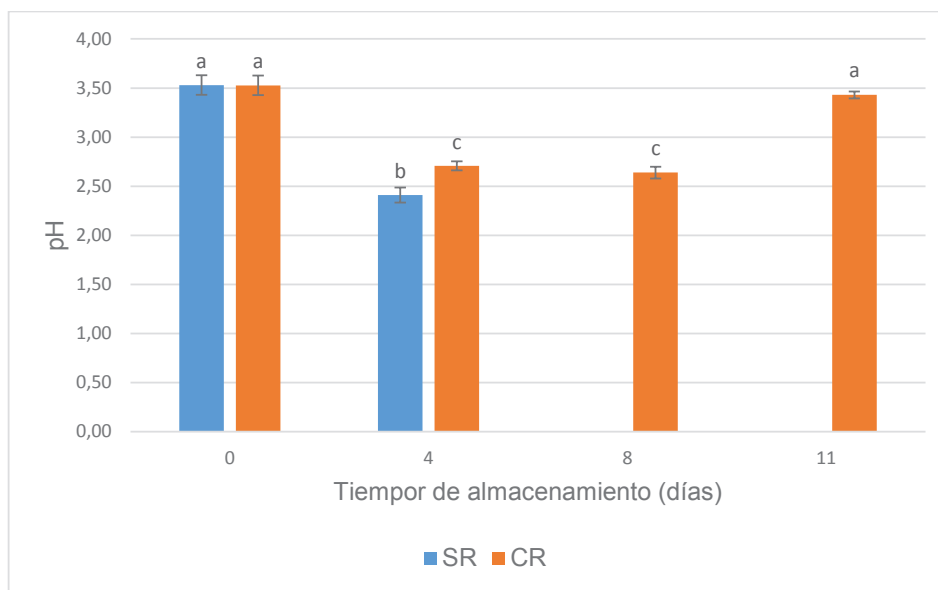


Figura 3.16. Potencial hidrógeno (pH) en función del tiempo de almacenamiento para fresas con recubrimiento y sin recubrimiento. Líneas verticales muestran la desviación estándar (n=10)

Los datos obtenidos son diferentes a los descritos por Duran et al., (2016), el pH aumento con el tiempo de almacenamiento de manera significativa para fresas con y sin recubrimiento para todos los tratamientos analizados, el recubrimiento no tiene un efecto significativo estadísticamente (p. 357).

La reducción del pH de las frutas tanto recubiertas como sin recubrir, se da por la presencia de microorganismos, los cuales al atacar la fruta producen ácidos, por lo cual el pH de las fresas disminuyó (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 369). Las fresas tenían la carga microbiana inicial que viene desde el lugar donde se cultivó por que la fruta se lavó para quitar impurezas pero no se desinfectó y además se inoculó con *Botrytis spp.*, antes de la aplicación del recubrimiento. Las condiciones de almacenamiento son favorables para que *Botrytis spp.*, se desarrolle.

3.3.4.3 Acidez titulable

La medición de acidez titulable no debe hacer mediante el pH porque el jugo de las frutas tiene una elevada capacidad reguladora. Uno de los factores más

representativos en el sabor característico de la fresas es el contenido de ácidos por esta razón es importante evaluar esta característica (Mitcham y Mitchell, 2002, p. 365).

Por lo descrito en el apartado 1.1.5.1 la medición de la acidez titulable se expresa en cantidad de ácido cítrico, un aumento en este parámetro va relacionado con una mejor conservación de la fruta en su madurez.

La medida de acidez titulable también nos indica la evolución de la madurez de la fresa mediante la relación sólidos solubles y acidez titulable que se denomina relación azúcar/acidez ($^{\circ}$ Brix/acidez) la cual indica el desarrollo de los azúcares durante la maduración y la disminución de la concentración de ácidos en la fruta (Woodward, 1972, p. 468). Los resultados de acidez titulable para fresas con y sin recubrimiento se muestran en la Tabla 3.13.

En la Figura 3.17 se muestra la variación de la acidez titulable expresada en porcentaje para las fresas recubiertas y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento 0, 4, 8 y 11 días.

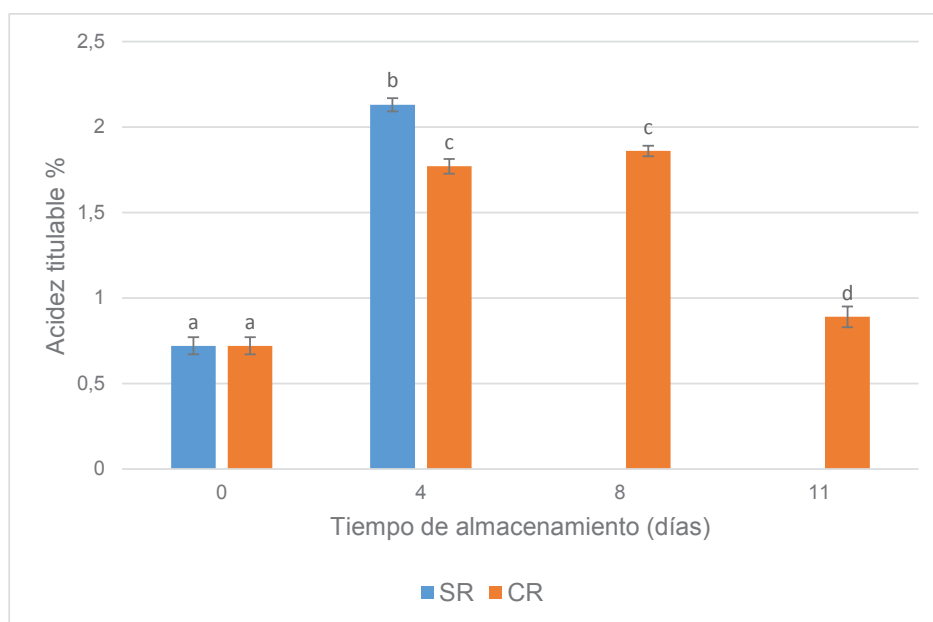


Figura 3.17. Acidez titulable en % respecto al tiempo para fresas recubiertas y sin recubrir

De acuerdo a la Figura 3.17, el recubrimiento tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la acidez titulable con un 95 % de confianza. La acidez titulable tuvo una tendencia a aumentar a lo largo del tiempo de almacenamiento hasta el día 8. El recubrimiento disminuyó en un 10,7 % el cambio de acidez titulable al día 4. En el día 11 la acidez disminuyó por lo que se observa que el pH de la fresa tiene una relación inversamente proporcional con la acidez titulable, es decir si el pH aumenta la acidez titulable disminuye. Esto se da porque la acidez titulable disminuye con la maduración de la fruta, debido al cambio de concentración de ácidos orgánicos usados en la respiración de la fruta.

Los resultados obtenidos son diferentes a los obtenidos por Trejo (2007), donde muestra que la acidez titulable tiende a disminuir durante el tiempo de almacenamiento tanto en fresa recubiertas y las sin recubrir pero al igual que la presente investigación la concentración de gelatina y tiempo de inmersión no tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la acidez titulable (p. 234).

Todos los cambios en los distintos parámetros analizados se dan de forma más rápida en las fresas sin recubrimiento, debido a que las fresas es muy perecible a condiciones ambientales pudiendo llegar a deteriorarse en 2 o 3 días (Woodward, 1972, p. 470).

3.3.5 POLIFENOLES TOTALES

Los compuestos fenólicos o polifenoles totales protegen a las células del daño oxidativo debido a su capacidad antioxidante, por esta razón el consumo de alimentos que contengan este tipo de sustancias contribuye a la disminución del riesgo de padecer enfermedades por estrés oxidativo el cual es causado por los radicales libres (Scalbert, Manach y Morand, 2005, p. 298).

De lo mencionado en el apartado 1.1.5.1 los flavonoides son de interés por su comprobada capacidad antioxidante para este trabajo, ya que a estos se les atribuye efectos medicinales como: actividad cardiotónica, antiinflamatoria,

antineoplásica, hepatoprotectora, antimicrobial, etc. Es por ello la importancia de estudiar las propiedades antioxidantes de los alimentos.

Para cuantificar los fenoles totales de un alimento, los métodos más comúnmente usados son el ensayo de la vainillina y el de Folin-Ciocalteu. El método usado en este trabajo fue el de Folin-Ciocalteu, este método se basa en la capacidad de reacción de los fenoles con agentes oxidantes (Slinkard y Singleton, 1997, p. 49). La curva de calibración con la que se trabajó se muestra en el Anexo IV.

La fresa es una fuente rica en antocianinas, vitamina C y ácidos fenólicos particularmente ácido elágico (Agustí, 2010, p. 149). En la Tabla 3.14 se observa la cantidad de polifenoles encontrados tanto en fresa con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.14. Valores de polifenoles totales en mg equivalentes de ácido gálico (AG) por cada 100 g de fresa, durante el tiempo de almacenamiento. Para fresas sin recubrimiento (SR) y con recubrimiento (CR)

Tiempo de almacenamiento (días)	SR	CR
0	110,38 ± 0,5	110,38 ± 0,5
4	136,6 ± 1,14	113,56 ± 0,52
8		120,17 ± 0,74
11		142,46 ± 0,68

Promedio ± σ (n=3)

De lo mostrado en la Tabla 3.14, se puede observar que el contenido de polifenoles varió entre 110,38 a 136,6 para fresas sin recubrimiento y de 110,38 a 142,46 mg Eqv AG/100 g de muestra en fresas con recubrimiento. Estos valores tanto en las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento están dentro del rango promedio de contenido de polifenoles totales en las fresas (58-210 mg Eqv AG/100g). El contenido de polifenoles totales tiende a aumentar conforme pasa el tiempo de almacenamiento para los dos tratamientos.

En la Tabla 3.15 se muestra el análisis de varianza ANOVA, para el contenido de

polifenoles en fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.15. Análisis estadístico de varianza para el contenido de polifenoles totales en fresas sin recubrir y recubiertas

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	798,5680667	1	798,568067	928,711506	6,9068E-06*
Dentro de los grupos	3,439466667	4	0,85986667		
Total	802,0075333	5			

* Valores estadísticamente significativos

En la tabla 3.15, se muestra que el recubrimiento tiene un efecto estadísticamente significativo en el contenido de polifenoles totales entre fresas recubiertas y las no recubiertas con el 95 % de confiabilidad.

El aumento en el contenido de polifenoles en las fresas sin recubrir fue del 23,75 % a los 4 días, mientras que las fresas recubiertas fue del 29 % a los 11 días de almacenamiento, el aumento de polifenoles en fresas con recubrimiento es más lenta, pero al final se tiene mayor cantidad de polifenoles. El contenido de polifenoles está relacionado con el desarrollo del color rojo parduzco cuando la fruta está madura por completo (Nunes, Brecht, Morais, y Sargent, 2006, p. 185).

El aumento en el contenido de polifenoles tanto en fresas sin recubrimiento, puede deberse por la acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, lo que pudo haber motivado su actividad es el estrés causado por las condiciones de almacenamiento incrementando el proceso de deterioro, lo que pudo haber generado el pudrimiento de la estructura celular (Oms, Soliva, y Martín, 2008, p. 1865). En las fresas con recubrimiento el incremento de polifenoles es menor, esto puede haberse dado porque las fresas con recubrimiento presentaron menor deterioro que las fresas sin recubrimiento y junto con esto disminuyó el incremento de polifenoles totales pero no deja de incrementar a lo largo del tiempo de almacenamiento (Macheix, Fleuriet, y Billot, 1990, p. 378).

Los datos obtenidos son similares a los encontrados por Patarroyo y Cárdenas (2014), aplicando un recubrimiento a base de goma gellan, gelatina, y caseína en mora junto con natamicina y aceite de canola como agentes antifúngicos, determinaron que para todos los tratamientos probados los polifenoles presentaron un aumento hasta el día 7, para el día 13 presentaron una disminución, siendo las fresas recubiertas las que tuvieron mayor incremento del polifenoles (p. 78). López et al. (2012), realizaron un estudio con recubrimiento de quitosano con y sin la adición de aceite esencial de canela aplicado en fresas por 15 días de almacenamiento a 5 °C, y observaron que la cantidad de polifenoles aumento con el transcurso del tiempo de almacenamiento y a partir del día 8 tienden a disminuir ligeramente (p. 39-40).

3.3.6 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante es la suma de la capacidad antioxidante de cada uno de los compuestos presentes en la fruta; es la capacidad de las moléculas redox de los alimentos y los sistemas biológicos a disminuir o eliminar los radicales libres. Este concepto considera los efectos aditivos y sinérgicos de todos los compuestos antioxidantes contenidos en un alimento en lugar del efecto individual de los compuestos, esto puede ser útil para estudiar los beneficios de los diferentes alimentos sobre la salud disminuyendo enfermedades por estrés oxidativo (Brighenti et al., 2005, p. 623).

En la Tabla 3.16 se presenta los valores obtenidos de capacidad antioxidante, tanto en fresas con recubrimiento y sin recubrimiento expresada en mg equivalente de ácido ascórbico por cada 100 g de muestra. La actividad antioxidante equivalente a vitamina C (VCEAC). La curva de calibración con la que se trabajó se muestra en el Anexo V.

De lo mostrado en la tabla 3.16, se puede ver que la capacidad antioxidante va aumentando conforme transcurre el tiempo de almacenamiento tanto para las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.16. VCEAC mg/100 g de muestra respecto al tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)	Sin Recubrimiento	Con Recubrimiento
0	112,082 ± 3,30	112,082 ± 3,30
4	135,728 ± 4,12	115,286 ± 1,15
8		121,899 ± 0,96
11		144,162 ± 1,72

Promedio ± σ (n=3)

La capacidad antioxidante de las fresas sin recubrimiento aumento en un 21,1 % al día 4 de almacenamiento, la fresas con recubrimiento aumento en un 28,62 % al finalizar el tiempo de almacenamiento día 11. La capacidad antioxidante de las fresas con recubrimiento aumenta paulatinamente pero obtiene una mayor capacidad antioxidante que las fresas sin recubrimiento.

Los valores obtenidos son menores a los obtenidos por Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, y Fett (2005), determinó VCEAC mg/100 g de pulpa de fresas en 202,5±0,5 (p. 728).

En la tabla 3.17 se tiene el análisis ANOVA para la capacidad antioxidante de fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.17. Análisis estadístico de varianza para la capacidad antioxidante en fresa con recubrimiento y sin recubrimiento

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	2507,55998	1	2507,55998	160,034125	0,00022483*
Dentro de los grupos	62,6756321	4	15,668908		
Total	2570,23561	5			

*Valores estadísticamente significativos

De lo obtenido en la tabla 3.17 se tiene que existe diferencia estadísticamente significativa en la capacidad antioxidante, entre fresas con recubrimiento y sin recubrimiento hasta el día 4 con el 95 % de confianza.

La capacidad antioxidante tiene una relación directa con el contenido total de polifenoles de un alimento. Se ha demostrado que varios flavonoles y ácidos fenólicos poseen una actividad antioxidante más fuerte que la vitamina C y E (Manach, Scalbert, Morand, Rémésy, y Jimenez, 2004, pp. 728-729).

Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Patarroyo y Cárdenas (2014), aplicando un recubrimiento a base de goma gellan, gelatina, y caseína en mora junto con natamicina y aceite de canola como agentes antifúngicos, determinaron que para todos los tratamientos probados la capacidad antioxidante aumenta hasta el final de tiempo de almacenamiento excepto para el control esta disminuyó, por lo que concluyó que el control empezó a tener un proceso de degradación de los compuestos antioxidantes (p. 76).

3.3.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Para el análisis microbiológico se realizó el análisis de mohos y levaduras; se usó el recuento total de unidades formadoras de colonia UFC/g de fresas. El hongo *Botrytis spp.*, es el hongo causante de la pudrición de moho gris, es una enfermedad muy importante en el cultivo de la fresa ya que ataca a los frutos maduros.

En la Tabla 3.18 se muestra los valores obtenidos de mohos y levaduras expresados en UFC/g de fresas para fresas con recubrimiento y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento.

En la Tabla 3.18 los valores de hongos en fresas con recubrimiento va desde 6×10^2 a $6,6 \times 10^5$, en fresas sin recubrimiento está en el rango $2,6 \times 10^4$ a $2,1 \times 10^6$ en el día 4. Por lo que se puede decir que el recubrimiento utilizado permitió disminuir el contenido de hongos y levaduras presentes en la fresa. El recubrimiento redujo en mohos y levaduras en un 99,7 % y 99 % respectivamente en el día 4. A pesar de que se pudo dar una baja eficiencia de encapsulación, la actividad antifúngica fue muy alta.

Tabla 3.18. Valores de hongos y levaduras expresadas en UFC/g de fresas para fresas recubiertas y sin recubrimiento a lo largo del tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento (días)	Hongos		Levaduras	
	SR	CR	SR	CR
0	$2,6 \times 10^4$	6×10^2	$1,7 \times 10^6$	$1,7 \times 10^4$
4	$2,1 \times 10^6$	$6,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^5$
8		$6,3 \times 10^4$		$1,7 \times 10^6$
11		$6,6 \times 10^5$		$1,1 \times 10^7$

En la tabla 3.19 se muestra el análisis de varianza ANOVA para mohos y levaduras de fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Tabla 3.19. Tabla ANOVA para mohos de fresas con recubrimiento y sin recubrimiento

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	611325625	1	611325625	1076,041	0,00092*
Dentro de los grupos	1136250	2	568125		
Total	612461875	3			

*($P < 0,05$)

El análisis ANOVA para mohos y levaduras mostrado en la Tabla 3.19 con un nivel de confianza del 95 %, indica que existe un efecto estadísticamente significativo de la aplicación del recubrimiento en las fresas. El efecto del recubrimiento tiene una alta influencia sobre los microorganismos.

La disminución en la concentración de mohos y levaduras se debe a que el compuesto antifúngico usado tiene un amplio espectro con levadura y mohos, pero no posee efecto sobre las bacterias (Chen et al., 2008, p. 5057). La natamicina es un antifúngico natural producido por la bacteria *Streptomyces nateiensis*; entre sus múltiples beneficios tenemos que además de disminuir el daño de los alimentos por mohos y levaduras, reduce el riesgo de producción de micotoxinas, incremento del tiempo de vida útil del producto y no tiene ningún efecto negativo en el sabor o

aparición del producto (Chen et al., 2008, p. 5058). Al día 6 las fresas sin recubrimiento estuvo atacada por *Botrytis spp.*, casi en su totalidad dejando la muestra inservible.

Los resultados obtenidos son similares a los referidos por Duran et al., (2016) donde los recubrimientos hechos a base de quitosán como portadores de antifúngicos como nisina (NS) y natamicina (NT), disminuyeron la concentración de mohos y levaduras de manera significativa para todos los tratamientos probados , respecto al control (pp. 360-361).

3.3.8 SENSORIAL

Para evaluar la preferencia y aceptabilidad sensorial de las muestras (fresas con recubrimiento y fresas sin recubrimiento) se contó con la ayuda de 12 panelistas semi-entrenados a través de una escala hedónica de 9 puntos, notando uno (más bajo) y nueve (más alto). El formato usado para esta evaluación se muestra en el Anexo VI.

Las escalas hedónicas o escalas afectivas miden el gusto o disgusto de un producto alimenticio. Existen tres clases de escalas afectivas: la escala hedónica de 9 puntos, de proporción y categórica de proporción. La prueba se la realizó al día 1 de almacenamiento y se midió apariencia general, olor, color, textura y sabor para las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

Existen estudios donde indican que el uso de gelatina un recubrimiento orgánico formado por biopolímeros (proteínas, cadenas formadas de carbono o polisacáridos), provoca pérdida de turgencia, modificación en la textura, pérdida de agua de los alimentos, así como el retraso de cambios químicos como color, olor y valor nutricional del producto (Arvanitoyannis y Gorris, 1999, p. 368).

En la Figura 3.18 se muestran fresa con recubrimiento y sin recubrir las mismas que se usaron para el análisis sensorial.



Figura 3.18. Fresa sin recubrimiento y fresa con recubrimiento
(Fuente propia)

En la Figura 3.19, se muestra el gráfico de medias para la apariencia general de fresas con recubrimiento y sin recubrimiento.

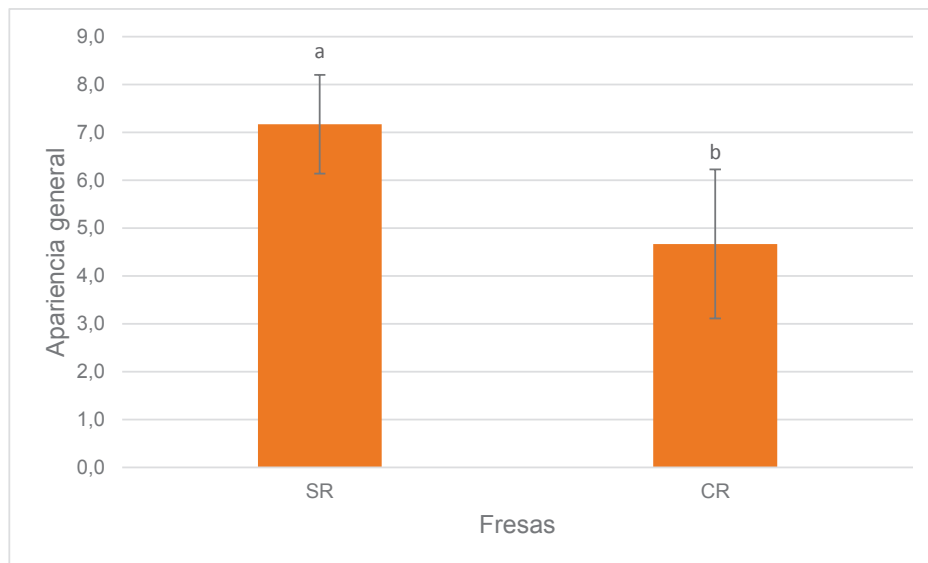


Figura 3.19. Gráfica de medias para la apariencia de fresas recubiertas y sin recubrir

En la Figura 3.19 se muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la apariencia de la fresa sin recubrimiento y con recubrimiento con un 95 % de confianza.

Se puede evidenciar que la gelatina afecto la apariencia de la fresa, debido a que el recubrimiento se notaba por su grosor.

Los jueces refirieron en cuanto a las fresas con recubrimiento que posee un brillo agradable pero su color es blanquecino, este color se le puede atribuir a la fosfatidilcolina y que debido al grosor del recubrimiento le da un aspecto menos agradable que de la fresa sin recubrir.

En cuanto al color, olor y sabor el recubrimiento no presentó una diferencia estadísticamente significativa. Respecto al color los jueces dijeron que es un poco desagradable por su color blanquecino, derivado de la fosfatidilcolina.

Respecto al olor los jueces dijeron, que tiene un olor más fuerte que las fresas sin recubrir pero ese olor es un tanto desagradable porque es similar al de la gelatina o goma.

En cuanto al sabor los jueces refirieron que tiene un sabor residual un tanto agradable respecto a las fresas sin recubrimiento.

En la Figura 3.20 se muestra el gráfico de medias para la textura en las muestras analizadas.

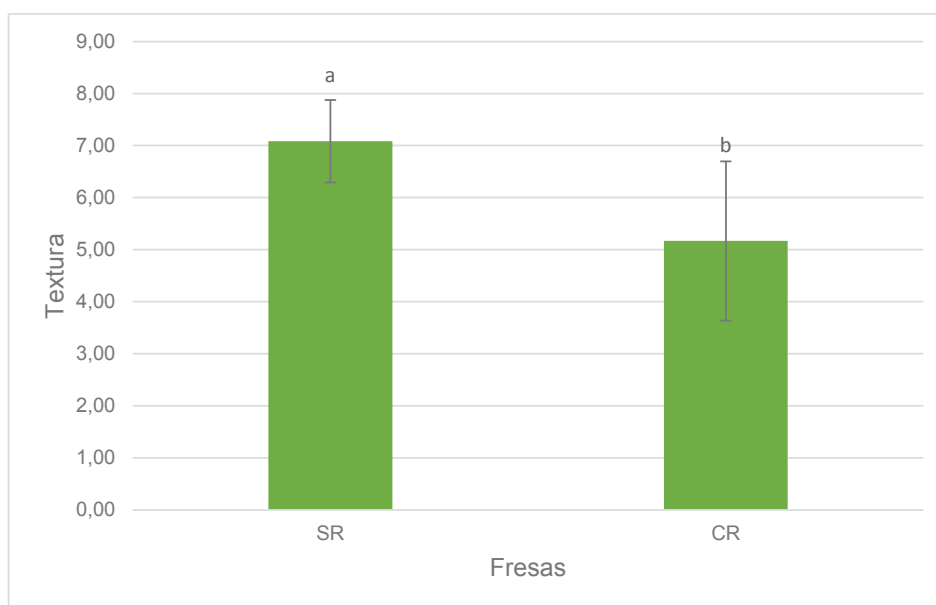


Figura 3.20. Gráfico de medias para fresa con recubrimiento y sin recubrimiento

En la Figura 3.20 se puede ver que existe una diferencia estadísticamente significativa para la textura en las fresas con recubrimiento y sin recubrimiento. Esto debido al grosor del recubrimiento.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

1. Los resultados de la presente investigación muestran que es posible incorporar natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina, en un recubrimiento preparado en base a gelatina. Los liposomas obtenidos muestran características esperadas en tamaño, potencial Z y polidispersidad comparado con trabajos realizados con materiales y métodos similares.
2. El tamaño de los liposomas obtenidos, fue afectado significativamente por la concentración de fosfatidilcolina; sin embargo, la concentración de natamicina no tiene influencia sobre el mismo. Para obtener el menor tamaño en los liposomas la mejor concentración es de 5 % de FC y 4 g/L de natamicina correspondiente al T5.
3. La concentración de fosfatidilcolina y la concentración de natamicina tienen igual influencia sobre el potencial Z, pero la interacción entre ambas concentraciones tuvo la influencia más importante sobre el potencial Z. El potencial Z óptimo fue de -46,39 mV, la misma que fue la del tratamiento T1 (5 % FC y 10 g/L de Na). El T1 también obtuvo el mejor porcentaje de inhibición para la *Botrytis* spp.
4. Para el porcentaje de actividad antifúngica contra el crecimiento del hongo, la concentración de natamicina tuvo una influencia significativa. La formulación F3 (Na encapsulada en liposomas de Fc 50 % v/v, gelatina 8 % p/v, glicerol 1 % v/v) obtuvo un 23 % aproximadamente de inhibición en placa de PDA inoculada con *Botrytis* spp.
5. El recubrimiento preparado con base en gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina ayudó a retardar cambios físico-químicos en las fresas. La pérdida de peso fue tres veces menor en una frutilla con recubrimiento; la pérdida de firmeza fue 50% más que en las frutillas con

recubrimiento, en cuanto al cambio de pH y acidez titulable fue 25 % menor a las frutillas sin recubrimiento.

6. La natamicina tuvo una eficiencia significativa en contrarrestar el ataque de *Botrytis* spp. en condiciones ambientales. La encapsulación de la natamicina aumentó su eficacia ante el crecimiento de microorganismos patógenos, con un 99,7 % para hongos y 99 % para levaduras en la fresa.
7. El recubrimiento no presentó buenas características organolépticas, debido a su grosor, color blanquecino, y olor a gelatina o goma.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Disolver la natamicina en solventes orgánicos para mejorar la solubilidad de la misma.
2. Añadir un componente lipídico, para mejorar la barrera contra la migración de vapor de agua desde la fruta hacia el medio.
3. Probar el recubrimiento a temperaturas de refrigeración para analizar su eficiencia a otras condiciones de almacenamiento.
4. Probar el recubrimiento como método de deshidratación de frutas, debido a su mayor resistencia a la podredumbre ya que se puede prolongar el tiempo de deshidratación a las mismas condiciones u otras.
5. Usar la encapsulación para incorporar diferentes aditivos que mejoren la calidad de la fruta y aumente la vida útil de la misma, como vitaminas.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acuña, O., y Llerena, T. (2001). *Manual postcosecha de fresa*. (1ra. ed.) Quito: Ecuador: Gráficas Gumar.
2. Agustí, M. (2010). *Fruticultura* (1ra ed.). Madrid: España: Mundi-Prensa.
3. Alemán, A., Giménez, B., Pérez-Santin, E., Gómez-Guillén, M., y Montero, P. (2011). Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chemistry*, 125(2), 334-341. doi:10.1016/j.foodchem.2010.08.058
4. Angulo, R. (2009). *Fresa *Fragaria ananassa**. Bogotá: Mary Luz Ángel.
5. Anke, H., Stadler, M., Mayer, A., y Sterner, O. (1995). Secondary metabolites with nematicidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes. *Can. J. Bot.*, 73, 932-939.
6. AOAC, (2005). *Official Methods of Analysis* (18va ed.). Gaithersburg, USA: Cap. 37.
7. Appendini, P., y Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food packaging. *Innovative food science and emerging technologies*, 113-126.
8. Arvanitoyannis, I., y Gorris, L. (1999). Edible and biodegradable polymeric materials for food packaging or coating. (Oliveira, Edits.) *Processing Foods*, 357-371.
9. Arvanitoyannis, I., Nakayama, A., y Aiba, S. (1998). Chitosan and gelatin based edible films : state diagrams , mechanical and permeation properties. *Carbohydrate Polymers*, 371-382.

10. Astiasarán, I., y Martínez, J. (2000). *Alimentos: composición y propiedades*. España: McGraw-Hil.
11. Astiasarán, I., Martínez, A., y Muñoz, M. (2015). *Claves para una alimentación óptima: qué nos aportan los alimentos y cómo utilizarlos a lo largo de la vida*. España: Díaz de santos.
12. ASTM, (2010). *ASTM E 1871-10 Guide for Serving Protocol for Sensory Evaluation of Foods and Beverages*. ASTM Web site: <http://www.astm.org/doiLink.cgi?E1871>. Fecha de recuperación: 23 de junio de 2016
13. Atress, A., El-Mogy, M., Aboul-Anean, H., y Alsanius, B. (2010). *Improving strawberry fruit storability by edible coating as a carrier of thymol or calcium chloride*. J. Horticult. Sci. Ornamental Plants 2: 88–97.
14. Ávila, E. (2015). *Manual fresa*. Bogotá: Cámara de comercio de Bogotá.
15. Balaguer, M., Fajardo, P., Gartner, H., Gomez-Estaca, J., Gavara, R., Almenar, E., y Hernandez-Munoz, P. (2014). Functional properties and antifungal activity of films based on gliadins containing cinnamaldehyde and natamycin. *International Journal of Food Microbiology*, 173, 62-71.
16. Baldwin, E., Hagenmaier, R., y Bai, J. (2012). *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. New York: Taylor y Francis Group, LLC.
17. Bard, A., y Faulkner, L. (2001). *Electrochemical methods: fundamentals and applications*. New York: Wiley.
18. Barquero, J., Meneses, R., Barrantes, L., Ugalde, P., Villalobos, N., y Serrano, D. (2007). *Agrocadena de Fresa* (Vol. 1). Grecia: Ministerio de Agricultura y Ganadería.

19. Bauman, A., Reis, R., Sallis, J., Wells, J., Loos, R., Martin, B., y Lancet Physical Activity Series Working Group. (2012). Correlates of physical activity: why are some people physically active and others not?. *The Lancet*, 380(9838), 258-271. doi:10.1016/S0140-6736(12)60735-1
20. Bayas, M., y Brito, D. (2009). Fabricación de liposomas para el encapsulamiento de drogas de uso médico o veterinario. *Revista politécnica*, 30(1), 105-108.
21. Belloso, O., Rojas, A., y Oms, G. (2005). *Calidad de frutas frescas cortadas y películas comestibles*. <http://www.innova-uy.info/docs/presentaciones/20050929/2005DOCOLgaMartin.pdf>.
Fecha de recuperado: 12 de Junio de 2016
22. Bosquez, M., Guerrero, L., y Verdun, E. (2003). Moisture barrier properties and morphology of mezquite gum-candelilla wax based coating. *Food Res*, 36(10), 885-893.
23. Bouaoud, C., Jérôme, G., Lebouille, G., Mendes, E., Henriette, E., De Braal, A., y Meesters, G. (2015). Formulation and antifungal performance of natamycin-loaded liposomal suspensions: the benefits of sterol-enrichment. *Journal of Liposome Research*, 1-10. doi:DOI: 10.3109/08982104.2015.1046079
24. Bravin, B., Peressini, D., y Sensidoni, A. (2004). Influence of Emulsifier Type and Content on Functional Properties of Polysaccharide Lipid-Based Edible Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6448-6455. doi:10.1021/jf040065b
25. Brian, J., Kirby Ernest, F., y Hasselbrink, J. (2004). Zeta potential of microfluidic substrates: 1. Theory, experimental techniques, and effects on separations. *Electrophoresis* 25, 187–202.

26. Brighenti, F., Valtuena, S., Pellegrini, N., Ardigo, D., Del Rio, D., Salvatore, S., Zavaroni, I. (2005). Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *The British Journal of Nutrition*, 93, 619-625.
27. Brusco, J. (2008). *Healthy Eating*. Healthy Eating Web site: <http://healthyeating.sfgate.com/disadvantages-food-processing-10900.html>. Fecha de recuperación: 15 de Abril de 2016.
28. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.
29. Caballero, B., Finglas, P., y Toldrá, F. (2016). *Encyclopedia of Food and Health* (Vol. 3). Advisory Board. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00470-0>. Fecha de recuperación: 26 de Junio de 2016
30. Cámara, M., Cortéz, M., y Torija, M. (2003). *Frutas y verduras, fuente de salud*. Madrid: Colección. Nutricion y Salud. Programa de Alimentación y Nutrición de la Consejería de sanidad y Consumo. Obtenido de Comunidad de Madrid.
31. Carvajal, G. (2012). *Evaluación de las pérdidas poscosecha tanto físicas y de calidad en el sistema de producción agrícola del Cadet. Tumbaco, Pichincha*. (U. C. Ecuador, Ed.) Quito, Ecuador: Proyecto de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo no publicado.
32. Castro, K. (2010). *Tecnología de alimentos*. Bogotá: Ediciones de la U.
33. Chambi, H., y Grosso, C. (2011). Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-polysaccharide-based films. *European Food Research and Technology*, 232(1), 63-69.

34. Chen, G., Lu, F., y Du, L. (2008). Natamycin production by *Streptomyces gilvosporeus* based on statistical optimization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 13(56), 5057-5061. doi:5057-5061. DOI: 10.1021/jf800479u
35. CISAN. (2010). *Los alimentos procesados: Historia, ventajas y métodos*. Consejo para la información sobre Seguridad de Alimentos y Nutrición. Obtenido de http://www.cisan.org.ar/articulo_ampliado.php?id=71yhash=1968577f968f269130. Fecha de recuperación: 6 de Julio de 2016
36. Civello, O., Martínez, G., Chaves, A., y Añon, M. (1997). Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*(45), 89-94.
37. Couvreur, P., Barratt, G., Fattal, E., Legrand, P., y Vauthier, C. (2002). Nanocapsule technology: a review. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 19, 99-134.
38. Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., y Cummins, E. (2012). Nanotechnologies in the food industry—Recent developments, risks and regulation. *Trends in Food Science y Technology*, 24(1), 30-46. doi:10.1016/j.tifs.2011.10.006
39. da Silva Malheiros, P., Micheletto, Y., Silveira, N., y Brandelli, A. (2010). Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles containing the antimicrobial peptide nisin. *Food Research International*, 43(4), 1198-1203.
40. da Silva Malheiros, P., Sant'Anna, V., Micheletto, Y., Da Silveira, N., y Brandelli, A. (2011). Nanovesicle encapsulation of antimicrobial peptide P34: Physicochemical characterization and mode of action on

Listeria monocytogenes. *Journal of Nanoparticle Research*, 13(8), 3545-3552.

41. Del Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., y Galotto, M. (2005). Development, of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shel-life. *Food Chem*, 91, 751–756.
42. Delves-Broughton, J., Thomas, L., y Williams, G. (2006). Natamycin as an antimycotic preservative on cheese and fermented sausages. *Food Aust*, 1/2(58), 19-21. doi:10.1016/j.foodchem.2004.07.002
43. Dhall, R. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutritions*, 53(5), 435-450. doi:10.1080/10408398.2010.541568
44. Dixon, R., y Paiva, N. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
45. Domoto, P., Gleason, M., y Lewis, D. (2008). *Iowa Commercial Fruit Production*. Ames: IOWA STATE UNIVERSITY.
46. Döving, A., y Mage, F. (2002). Methods of testing strawberry fruit firmness. *Acta Horticultura Scandinava*, 52, 43-45.
47. Duque, M., Giraldo, E., Martinez, A., Gauthier, A., y Villa, J. (2000). Uso de la lógica difusa para purificación de agua. *Universidad de los Andes, Facultado de Ingeniería*, 31-35.
48. Duran, M., Aday, M., Zorba, N., Temizkan, R., Büyükcan, M., y Caner, C. (2016). Potential of antimicrobial active packaging 'containing natamycin, nisin, pomegranate and grape seed extract in chitosan

coating to extend shelf life of fresh strawberry. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 354-363.

49. Fakhouri, F., Casari, A., Mariano, M., Yamashita, F., Mei, L., Soldi, V., y Martelli, S. (2014). Effect of a gelatin-based edible coating containing cellulose nanocrystals (CNC) on the quality and nutrient retention of fresh strawberries during storage. *IOP Conference Series Materials Science and Engineering*, 64(1), 012024. DOI: 10.1088/1757-899X/64/1/012024
50. Falguera, V., Quintero, P., Jiménez, A., J, M., y Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active function and trends in their use. *Trends in Food Science y Technology*(22), 292-303.
51. FAO. (2009). *El cultivo de la frutilla*. FAO. Obtenido de <http://www.agro.unc.edu.ar/~paginafacu/Catedras/oleo/contenidos/a-punte-frutilla.pdf>. Fecha de recuperación: 14 de Julio de 2016.
52. FAO. (2013). *Alimentos para las ciudades*. Italia: AGS.
53. FAOSTAT. (2012). *FAOSTAT*. Obtenido de FAOSTAT: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>. Fecha de recuperación: 18 de Julio de 2016.
54. Ferreira, I., Rocha, S., y Coelho, M. (2007). Encapsulation of antioxidants by spray-drying. *Chemical Engineering Transactions*(11), 713-717.
55. Foord, R., Jakeman, E., Oliver, C., Pike, E., Blagrove, R., Wood, E., y Peacocke, A. ,. (1970). Determination of diffusion coefficients of haemocyanin at low concentration by intensity fluctuation spectroscopy of scattered laser light. *Nature*, 227, 242-245.

56. Freire, W., Ramírez, M., Belmont, P., Mendieta, M., Silva, M., Romero, N., Monge, R. (2013). *RESUMEN EJECUTIVO. TOMO I. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Ecuador ENSANUT-ECU 2011-2013 Ministerio de Salud Pública/Instituto Nacional de Estadística y Censos*. Quito, Ecuador.
57. Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M., Ordonnaud, C., Peyrat, M., y Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 1(75), 27-35.
58. García, M., Marino, M., y Zaritzky, N. (2000). Lipid Addition to Improve Barrier Properties of Edible Starch-Based Films and Coatings. *Journal of Food Science*, 65(6), 941-944. doi:10.1111/j1365-2621.2000tb09397.x
59. Gennadios, A. (2002). *Protein-based films and coatings* (Primera ed.). Florida: Estados Unidos: CRC Press LLC.
60. Gol, N., y Rao, R. (2013). Influence of zein and gelatin coatings on the postharvest quality and shelf life extension of mango (*Mangifera indica L.*). *Fruits*, 69(2), 101-115.
61. Gómez - Guillén, G., López Caballero, M., Alemán, A., López de Lacey, A., Giménez, B., y Montero García, P. (2010). Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. (Bihan, Ed.) *Transworld Research Network*, 89-115.
62. Gomez-Hens, A., y Fernandez-Romero, J. (2006). Analytical methods for the control of liposomal delivery systems. *Trends Anal Chem*(25), 167–178.

63. González, M., Diamont, D., y Gutiérrez, B. (2011). Técnica de tinción de estructuras fúngicas con colorantes vegetales como una alternativa no contaminante. *Bioagro*, 23(1), 65-69.
64. Gooding, H. (. (1976). Resistance to mechanical injury and assessment of shelf- life in fruits of strawberry (*fragaria x ananassa*). *Horticultural Research*, 16(2), 71-82.
65. Gunstone, F., Harwood, J., y A., D. (2007). *The Lipid Handbook*. Boca Raton, London: New York: CRC .
66. Gurr, M., Frayn, K., y Harwood, J. (2002). *Lipid Biochemistry*. Oxford: Blackwell Sci.
67. Hallal, P., Andersen, L., Bull, F., Guthold, R., Haskell, W., y Ekelund, U. (2012). Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls and prospects. *The Lancet*, 380(9838), 247-257. doi:10.1016/S0140-6736(12)60646-1
68. Hallett, F., Nickel, B., Samuels, C., y Krygsman, P. (1991). Determination of Vesicle Size Distributions by Freeze- Fracture Electron Microscopy. *Journal of electron microscopy technique* (17), 459-466. doi:10.1002/jemt.1060170409
69. Hallett, F., Watton, J., y Krygsman, P. (1991). Vesicle sizing, Number distributions by dynamic light scattering. *Biophys. J. Biophysical Society*(59), 357-362.
70. Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., y Traber, M. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest biology and Technology*, 33(1), 67-78.

71. Han, J. (2014). Edible Films and Coatings. *Innovations in Food Packaging* (2da. Ed.), 213-255.
72. Han, J., y Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings. (J. Han, Ed.) *Innovations in Food Packaging*, 239-262.
73. Hanušová, K., Šťastná, M., Votavová, L., Klaudivsová, K., Dobiáš, J., Voldřich, M., y Marek, M. (2010). Polymer films releasing nisin and/or natamycin from polyvinylidene chloride lacquer coating: nisin and natamycin migration, efficiency in cheese packaging. *Journal of Food Engineering*, 99(4), 491-496.
74. Hauschild, S., Lipprandt, U., Rumpelcker, A., Borchert, U., y Rank, A. (2005). Direct preparation and loading of lipid and polymer vesicles using inkjets. *Small*, 1, 1177-1180.
75. Honary, S., y Zahir, F. (2012). Effect of process factors on the properties of doxycycline nanovesicles. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2), 169-175.
76. Huertas, R. (2010). Microencapsulación de Alimentos. *Food Microencapsulation: A Review*, 2(63), 669-684.
77. INEC. (2011). *Anuario de estadísticas vitales: Nacimientos y defunciones*. Obtenido de INEC:
http://www.inec.gob.ec/estadisticas_sociales/nac_def_2011/anuario.pdf. Fecha de recuperación: 30 de Julio del 2016.
78. INEC. (2014). *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) 2014*. Quito: INEC. Obtenido de www.ecuadorencifras.gob.ec. Fecha de recuperación: 3 de Julio del 2016

79. INEN. (2012). *NTE INEN 1 751:96*. Obtenido de <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/1751-1-C.pdf>. Fecha de recuperación: 20 de Julio de 2016.
80. Infoagro. (2010). *Infoagro Systems*. Obtenido de InfoAgro Systems Web site: http://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_fresa.asp. Fecha de recuperación: 26 de julio de 2016.
81. Jesorka, A., y Orwar, O. (2008). Liposomes: Technologies and Analytical Applications. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 801-82. doi:10.1146/annurev.anchem.1.031207.112747
82. Kader, a. (1986). Potential applications of ionizing radiation on postharvest hand. *Food Technology*, 40(6), 117-121.
83. Kader, A. (1991). Quality and its maintenance in relation to the postharvest physiology of strawberry. *The strawberry into the 21st century*, 145-152.
84. Kader, A. (2011). *Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortifricolas* (3ra.ed.). California: United States of America: UC Peer Reviewed.
85. Kalt, W., Forney, C., Martin, A., y Prior, R. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4638-4644.
86. Kester, J., y Fennema, O. (1986). Edible Films and Coatings: a review. *Food Technology*, 40, 47-59.
87. Kirby, C. (1993). Controlled delivery of functional food ingredients: opportunities for liposomes in the food industry. In Liposome Technology. (G. Gregoriadis, Ed.) *Entrapment of Drugs and Other Materials*, 215-232.

88. Kitinoja, L., y Kader, A. (2002). *Técnicas de Manejo Poscosecha a Pequeña Escala: Manual para los productores Hortifrutícolas* (4ta. ed.). (C. Postcosecha, Ed.) Davis: Universidad de California.
89. Kralchevsky, P., Danov, K., y Denkov, N. (2003). *Handbook of Surface and Colloid Chemistry*. Boca Raton: EUA: CRC Press.
90. Krause, A., Altenhofen, A., y Guenter, T. (2012). Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, 1(110), 18-25. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2011.12.016
91. Kuskoski, E., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), 726-732.
92. Lacroix, M., y Vu, K. (2014). Edible coating and Film Materials. *Innovations in Food Packaging*, 2da. Ed., 277-304.
93. Lantz, W., Swartz, H., Demchak, K., y Frick, S. (2010). *Strawberry Production*. Estados Unidos: Everbearers.
94. Laouini, A., Jaafar-Maalej, C., Limayem-Blouza, I., Sfar, S., Carcosset, C., y Fessi, H. (2012). Preparation, Characterization and Applications of Liposomes: State of Art. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 1(2), 147-168. doi: doi:10.1166/jcsb.2012.1020
95. López, M., Ruiz, S., Navarro, C., de Jesús Ornelas, J., Estrada, M., Gassos, L., y Rodrigo, J. (2012). Efecto de recubrimientos comestibles de Quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* , 33-44.
96. Lyklema, J. (2003). Electrokinetics after Smoluchowski. *Colloids Surf*, 5-14.

97. Macheix, J., Fleuriet, A., y Billot, J. (1990). *Fruit phenolics*. Boca Raton: Florida: CRC Press Inc.
98. Madene, A., Jacquot, M., Sher, J., y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science and Technology* (41), 1-21.
99. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., y Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727- 747.
100. Mantilla, C., Pedraza, J., y Laverde, D. (2008). Utilización de estudios de potencial zeta en el desarrollo de un proceso alternativo de flotación de mineral feldespático. *Dyna*, 75 (154), 65-71.
101. Mason, T., Wilking, J., Chang, C., y Graves, S. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 645-659.
102. Mehyar, G., y Han, J. (2006). Physical and Mechanical Properties of High-amylose Rice and Pea Starch Films as Affected by Relative Humidity and Plasticizer. *Journal of Food Science*, 69(9), E449-E454. doi:doi:10.1111/j.1365-2621.2004.tb09929.x
103. Meilán, M. (2014). *Lifestyle*. Obtenido de Lifestyle Web site: <http://www.adelgazarrapidoweb.com/adelgazar-rapido/ventajas-y-desventajas-de-los-alimentos-procesados/>. Fecha de recuperación: 15 de Abril de 2016
104. Meyers, K., Watkins, C., Pritts, M., y Liu, R. (2003). Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6887-6892.

105. Miserendino, E. (2012). *Frutillas Implantación del cultivo en Patagonia*. Patagonia: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
106. Mitcham, E., y Mitchell, F. (2002). Strawberries and cranberries. (A. Kader, Ed.) *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 3311, 364-370.
107. Mohanraj, V., y Chen, Y. (2006). (T. J. Res, Ed.) *Nanoparticles a Review*, 5(1), 561-573.
108. Monteiro, C., Benicio, M., Conde, W., y Popkin, B. (2000). Shifting obesity trends in Brazil. *European journal of clinical nutrition*, 54(4), 342-346.
109. Moreno, J., Petzold, G., Pavez, C., y Zúñiga, P. (2014). Strawberries: Antioxidant Properties, Health Benefits and Innovative Technologies. En N. a. Progress, *Strawberries Cultivation, Antioxidant Properties and Health Benefits* (págs. 189-214). New York: Nova Publisher.
110. Mosquera M, Giménez B, Mallmann da Silva I, Ferreira Boelter J, Montero P, Gómez-Guillén MC, Brandelli A, (2014). Nanoencapsulation of an active peptidic fraction from sea bream scales collagen. *Food Chemy* 156, 143-150. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.02.011
111. Mozafari, M. (2005). Liposomes: an overview of manufacturing techniques. *Cellular y Molecular Biology Letters*, 10, 711-719.
112. Mozafari, R. (2010). Nanoliposomes: preparation and analysis. *Methods in molecular biology*, 29-50
113. Ng, A., Wasan, K., y Lopez-Berestein, G. (2003). Development of liposomal polyene antibiotics: an historical perspective. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 67-83.
114. Nunes, C., Brecht, J., Morais, A., y Sargent, S. (2006). Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with

those that occur in harvested fruit during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 180-190.

115. Olivas, G., y Barbosa-Cánovas, G. (2005). Edible Coatings for Fresh-Cut Fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7-8), 657-670. doi:doi:10.1080/10408690490911837
116. Oliveira, T., Soares, N., Pereira, R., y Fraga, K. (2007). Development and evaluation of antimicrobial Natamycin – incorporated film in gorgonzola cheese. *Packaging Technology and Science*(20), 147-153. doi:10.1002/pts.756
117. OMS. (2003). *Dieta , nutrición y prevención de enfermedades crónicas*. Ginebra: OMS, Serie de Informes Técnicos, 916.
118. Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to enhance quality and antioxidant properties of freshcut melón LWT . *Food Science and Technology*, 41, 1862-1870.
119. Organización Mundial de la Salud. (2002). *Informe sobre la salud en el Mundo 2002: Reducir los riesgos y promover una vida sana*. Ginebra.
120. Ornelas-Paz, J., Yahía, E., Ramírez-Bustamante, N., Pérez-Martínez, J., Escalante-Minakata, M., y Ibarra-Junquera, V.-R. (2013). Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (Fragaria x ananassa Duch. Cv. Albion) at six stage of ripening. *Food Chemistry*, 138(1), 372-381.
121. Ourecky, D., y Bourne, M. (1968). Measurement of strawberry texture with an Instron Machine. *Proceedings American Society for Horticultural Sc.*, 93, 317-325.

122. Ozdemir, M., y Floros, J. (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*, 84, 116-123.
123. Palomino, K. (2008). *Hidroponía Comercial (fresas)* (Primera ed.). Miraflores: Perú Editora: Macro.
124. Patarroyo, C., y Cárdenas, A. (2014). *Efecto de recubrimientos comestibles a base goma gellan, gelatina y caseína sobre la cinética de deterioro de la mora de castilla rubus glaucus benth.*
125. Perdonés, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., y Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biol. Technol.*, 70, 32–41.
126. Pérez-Gago, M., y Krochta, J. (2000). Drying Temperature Effect on Water Vapor Permeability and Mechanical Properties of Whey Protein-Lipid Emulsion Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(7), 2687-2692. doi:10.1021/jf0001583
127. Perret, S., Golding, M., y Williams, P. (1991). A simple method for the preparation of liposomes for pharmaceutical applications: Characterization of the liposomes. (J. Pharm, Ed.) *Pharmacol*(43), 154-161.
128. Plackett, D. (2011). *Biopolymers: New Materials for Sustainable Films and Coatings*. Reino Unido: Inglaterra: Wiley.
129. Plascencia R., Olalde V., Mena H., Ceja L., Venegas J., Oyoque G. y Angoa M., (2012). Antagonismo in vitro de aislados bacterianos de fresa comercial y silvestre vs. *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*. *Ra Ximhai*, 8(3), 103-110.

130. Ponce, A., Roura, S., del Valle, C., y Moreira, M. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49, 294-300.
131. Popkin. (2006). Global nutrition dynamics: the world is shifting rapidly toward a diet linked with noncommunicable diseases. *the American journal of clinical nutrition*, 84(2), 289-298.
132. PROECUADOR. (2012). *Analisis sectorial de frutas no tradicionales*. Dirección de inteligencia comercial e inversiones. Quito: MLFC.
133. Quintavalla, S., y Vicini, L. (2002). Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat Science*, 62, 373-380.
134. Quintero, J., Falguera, V., y Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencia recientes en la cadena hortofrícola. *Tumbaga*, 1(5), 93-118.
135. Rai, M., Asthana, P., Kant, S., Jaiswal, V., y Jaiswal, U. (2009). The encapsulation technology in fruit plants: A review. *Biotechnology Advances*, 6(27), 671-679.
136. Ramezani, M., Khoshhamdam, M., Dehshahri, A., y Malaekheh-Nikouei, B. (2009). The influence of size, lipid composition and bilayer fluidity of cationic liposomes on the transfection efficiency of nanolipoplexes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 72(1), 1-5.
137. Ramírez, J. (2012). Análisis Sensorial. *Revista ReCiTeIA*, 12(1), 86-94.
138. Ramos, M., Baños, S., Necha, L., Molina, E., y Carrillo, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos

comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Mexicana de fitopatología*, 1(28), 44-57.

139. Rieger, M. (2006). *Fruit-crops*. Obtenido de Fruit-crops Web Site: <http://www.fruit-crops.com/strawberry-fragaria-x-ananassa/>. Fecha de recuperación: el 27 de Abril de 2016.
140. Rivera, J., Barquera, S., González, T., Olaiz, G., y Sepúlveda, J. (2004). Nutrition transition in Mexico and in other Latin American countries. *Nutrition reviews*, 62(7 Pt 2), 149-157.
141. Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 7(1), 153-170.
142. Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Di Venere, D., y Salerno, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, 5(67), 1862-1866.
143. Sandoval, A., Rodríguez, E., y Ayala, A. (2004). Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos. *Ingeniería y competitividad*, 5(2), 73-83.
144. Scalbert, A., Manach, C., y Morand, C. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 297-306.
145. Sebti, I., y Coma, V. (2002). Active edible polysaccharide coating and interactions between solution coating compounds. *Carbohydrate Polymers*(49), 139-144.
146. Shao, W., Zhang, Y., Ren, W., y Chen, C. (2014). Physiological and biochemical characteristics of laboratory induced mutants of *Botrytis cinerea* with resistance to fluazinam. *College of Plant Protection*, 1-4.

147. Silva, P., Abreu, C., Queiroz, E., Correa, A., y Santos, C. (2012). Storage of strawberries (*Fragaria ananassa* L. cv. Oso Grande), subjected to 1-MPC. *Acta Scientiarum technology*, 34(3). doi:10.4025/actascitechnol.v34i3.8790
148. Silva, R., Little, C., Ferreira, H., y Cavaco-Paulo, A. (2008). Incorporation of peptides in phospholipid aggregates using ultrasound. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(6), 1026-1032.
149. Slinkard, K., y Singleton, V. (1997). Total phenol analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *Am.J.Enol.*, 28(1), 38-55.
150. Steyn, N., Nel, J., Parker, W., Ayah, R., y Mbithe, D. (2012). Urbanisation and the nutrition transition: a comparison of diet and weight status of South African and Kenyan women. *Scandinavian journal of public health*, 40(3), 229-238. doi:10.1177/1403494812443605
151. Sutton, J. (1998). *Botrytis Fruit Rot (Gray Mold) and Blossom Blight in: Compendium of Strawberry Diseases*. APS Press. St. Paul, MN.
152. Taylor, T., Gaysinsky, S., Davidson, P., Bruce, B., y Weiss, J. (2007). Characterization of antimicrobial-bearing liposomes by ζ -potential, vesicle size, and encapsulation efficiency. *Food Biophysics*, 2(1), 1-9.
153. Tecnología de Horticultura Mediterránea. (2012). THM. Obtenido de THM: <http://agrotestserviciotecnico.com/agro/2012/02/datos-del-99comercio-de-frutas-y-hortalizas-en-el-mundo-alemania-el-mayorcomprador-europeo/>. Fecha de recuperación: 8 de junio de 2016
154. Thompson, A. .. (2003). *Almacenamiento en Atmósferas Controladas de frutas y Hortalizas*. Zaragoza: España: Acribia.

155. Thompson, A. (1996). Harvest Maturity and Methods (Chapter 2 and Postharvest Treatments (Chapter 4). *Postharvest Technology of Fruits and Vegetables*, 35-37.
156. Timberlake, C. (1980). Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chem*, 1(5), 69-80.
157. Tinoco, I., Sauer, K., Wang, J., y Puglisi, J. (2002). Physical Chemistry: Principles and Applications in Biological Sciences. *Prentice Hall*, 213-218.
158. Tournas, V., Stack, M., Mislivec, P., Koch, H., y Bandler, R. (2001). BAM: Yeasts, Molds and Mycotoxins. *Food Science Research*, 1-10.
159. Trejo, A., Ramos, K., y Pérez, 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. (E. G. UPCT, Ed.) *In V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones*, 978-984.
160. Ulloa, J., Ulloa, P., y Romero, J. (2007). *Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos* (1ra ed.). Nayarit: México: Acribia.
161. Undurraga, P., y Vargas, S. (2013). *Manual de frutilla*. INIA, Centro Regional de Investigación Quilamapu,. Chillán: Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA.
162. Vasco, C., Ruales, J., y Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of mayor fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816-823.

- 163.** Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V., y Moldao-Martins, M. (2013). Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv. Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 52(2), 80 -92. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.004
- 164.** Vicente, A., Martínez, G., Chaves, A., y Civello, P. (2002). Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology*(25), 59-71.
- 165.** Wang, C., Zhang, J., Chen, H., Fan, Y., y Shi, Z. (2010). Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. *Tropical Plant Pathology*, 35(3), 137-143.
- 166.** Warjri, L. (2016). *Medindia*. Obtenido de Medindia Web site: <http://www.medindia.net/patients/patientinfo/processed-foods-advantages-and-disadvantages.htm#ixzz46SKL26EC>. Fecha de recuperación: 20 de Abril de 2016
- 167.** Weiss, J., Gaysinsky, S., Davidson, P., y McClements, D. (2009). Nanostructured encapsulation systems: food antimicrobials. In: Barbosa Canovas G, Mortimer A, Lineback D, et al. *Global issues in food science and technology*. , 425–479.
- 168.** WHO. (2004). *Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud: Fomento del consumo mundial de frutas y verduras*. Obtenido de WHO: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html>. Fecha de recuperación: 27 de Mayo de 2016.
- 169.** WHO. (2004). *Global Strategy on diet, physical activity and health*. Obtenido de WHO: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/strategy/eb11344/en/index.html>. Fecha de recuperación: 27 de Mayo de 2016.

170. WHO/FAO. (2005). *Fruit and vegetables for Health*. Kobe, Japan, Geneva: Report of a Joint FAO/WHO Workshop.
171. Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., y Van Kan, J. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 8(5), 561–580. doi:doi: 10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x
172. Wills, R., McGlasson, B., Graham, D., y Joyce, D. (1999). *Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales* (Segunda ed.). Zaragoza: España: Acribia.
173. Woodward, J. R. (1972). Physical and chemical changes in developing strawberry fruits. *Journal Science Food Agricultural*, 23, 465-473.
174. World Health Organization. (2003). *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation*. WHO Serial Technical report; 916: Geneva.
175. Yañez, J., Salazar, J., Chaires, L., Jimenez, J., M., M., y Ramos, E. (2002). Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. *Revista Avance y Perspectiva*, 21, 313-319.
176. Zaritzky, N. (2002). CIDCA. Obtenido de Películas biodegradables y recubrimiento a comestibles a base de hidrocoloides: caracterización y aplicaciones. Fecha de recuperación: el 30 de Junio de 2016.
177. Zaritzky, N. (2010). Edible Coatings to Improve Food Quality and Safety. (J. S.-C.-A.-C. En Aguilera, Ed.) *Food Engineering Interfaces*, 631-659.
178. Zhang, L., Pornpattananankul, D., Hu, C., y Huang, C. (2010). *Development of nanoparticles for antimicrobial drug delivery*, 17, 585–594.

179. Zhang, Y., Rempel, C., y McLaren, D. (2014). Edible Coating and Film Materials. (J. (. En Han, Ed.) *Innovations in Food Packaging*, 305-323.
180. ZIPMEC. (2013). *ZIPMEC*. Obtenido de ZIPMEC Web Site: <http://www.zipmec.com/es/fresas-historia-produccion-comercio.html>.
Fecha de recuperación: 27 de Abril de 2016

ANEXOS

ANEXO I

FOTOGRAFÍA DE PLACAS CON HALO DE INHIBICIÓN

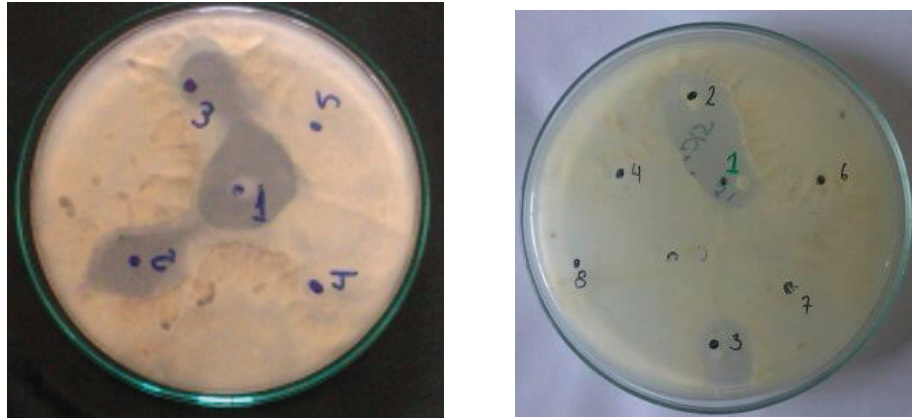


Figura AI. 1. Izquierda halo de inhibición para 5 concentraciones entre 0,3121 a 5 g/L; derecha 8 concentraciones de natamicina entre 0,625 a 1,25 g/L
(Fuente propia, 2016)

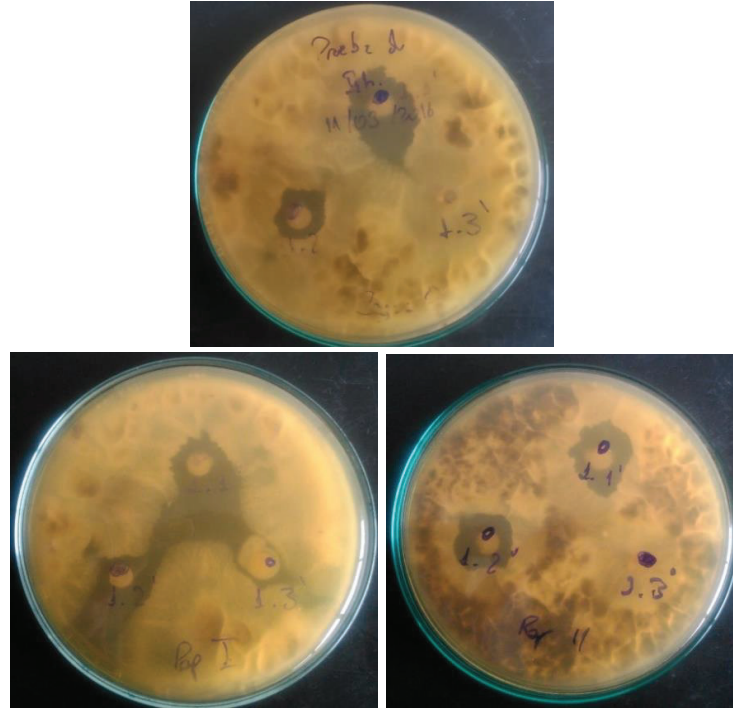


Figura AI.2. Pruebas de inhibición para las tres formulaciones probadas con sus réplicas
(Fuente propia, 2016)

ANEXO II

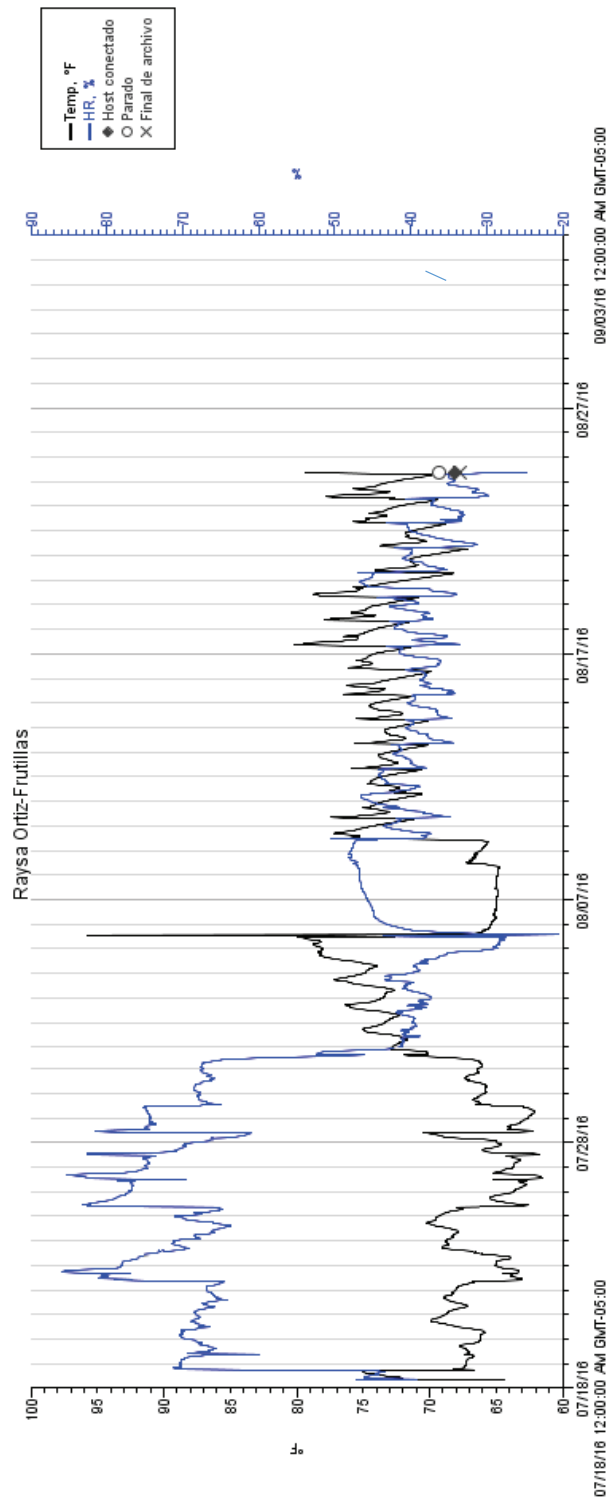


Figura AII.1. Perfil de humedad y temperatura para el almacenamiento de fresas

ANEXO III

RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Análisis estadísticos elaborados con la ayuda del programa Statgraphics Centurion XV.II, con un nivel de confianza del 95%.

TAMAÑO DE LIPOSOMAS

Tabla AIII.1. Prueba de múltiple rangos por método LSD con 95 % de confianza para tamaño de liposomas

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_5	3	190,367	X
Col_3	3	259,367	X
Col_1	3	269,767	X
Col_4	3	321,7	X
Col_2	3	350,2	XX
Col_6	3	369,867	X

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LAS FORMULACIONES

Tabla AIII.2. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para actividad antifúngica de formulaciones

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_6	3	1,23	X
Col_5	3	14,1433	X
Col_4	3	22,8367	X

PÉRDIDA DE PESO**Tabla AIII.3.** ANOVA para la pérdida de peso

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>GL</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>
Entre grupos	85,8060167	1	85,8060167	160,966765	0,00022228
Dentro de los grupos	2,13226667	4	0,53306667		
Total	87,9382833	5			

FIRMEZA**Tabla AIII.4.** ANOVA para la firmeza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	0,4704	1	0,4704	8,37010676	0,04442381
Dentro de los grupos	0,2248	4	0,0562		
Total	0,6952	5			

Tabla AIII.5. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para la firmeza

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_6	3	0,936667	X
Col_5	3	1,81667	X
Col_3	3	2,56	X
Col_4	3	3,12333	X
Col_2	3	3,68667	X
Col_1	3	3,68667	X

COLOR❖ **Luminosidad****Tabla AIII.6.** ANOVA para la luminosidad

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	2,36881667	1	2,36881667	0,02185469	0,88962696
Dentro de los grupos	433,557667	4	108,389417		
Total	435,926483	5			

Tabla AIII.7. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para la luminosidad

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_6	3	42,3433	X
Col_5	3	47,4167	X
Col_3	3	48,7533	X
Col_4	3	50,01	X
Col_2	3	53,2067	X
Col_1	3	53,2067	X

❖ **Parámetro a*****Tabla AIII.8.** ANOVA para el parámetro a*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	25,54406667	1	25,5440667	2,87922121	0,16496731
Dentro de los grupos	35,48746667	4	8,87186667		
Total	61,03153333	5			

Tabla AIII.9. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % de confianza para cromaticidad a*

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_2	3	21,2867	X
Col_1	3	21,2867	X
Col_4	3	21,68	X
Col_5	3	22,55	X
Col_6	3	23,3567	X
Col_3	3	25,8067	X

SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Tabla AIII.10. ANOVA para sólidos solubles totales

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	2,535	1	2,535	15,84375	0,01639536
Dentro de los grupos	0,64	4	0,16		
Total	3,175	5			

Tabla AIII.11. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para sólidos solubles totales

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_1	3	10,5	X
Col_2	3	10,5	X
Col_4	3	11,0	X
Col_3	3	12,3	X
Col_5	3	14,2667	X
Col_6	3	22,5	X

pH**Tabla AIII.12.** Análisis de varianza para el pH

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	GL	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	0,11648267	1	0,11648267	38,384007	0,00345103
Dentro de los grupos	0,01213867	4	0,00303467		
Total	0,12862133	5			

Tabla AIII.13. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para pH

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_3	3	2,41333	X
Col_5	3	2,64167	X
Col_4	3	2,69733	X
Col_6	3	3,42667	X
Col_2	3	3,52667	X
Col_1	3	3,52667	X

Acidez titulable**Tabla AIII.14.** ANOVA para la acidez titulable

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad
Entre grupos	0,19801667	1	0,19801667	78,6821192	0,00089221
Dentro de los grupos	0,01006667	4	0,00251667		
Total	0,20808333	5			

Tabla AIII.15. Prueba de rangos múltiples con método LSD con 95 % para acidez titulable

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_2	3	0,722333	X
Col_1	3	0,722333	X
Col_6	3	0,886667	X
Col_4	3	1,77	X
Col_5	3	1,857	X
Col_3	3	2,13333	X

ANÁLISIS SENSORIAL

❖ Apariencia general

Tabla AIII.16. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para apariencia general de la fresa

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_10	12	4,66667	X
Col_9	12	7,16667	X

❖ Textura

Tabla AIII.17. Prueba de rangos múltiples por método LSD con 95 % de confianza para textura de fresa

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Col_10	12	5,16667	X
Col_9	12	7,08333	X

ANEXO IV

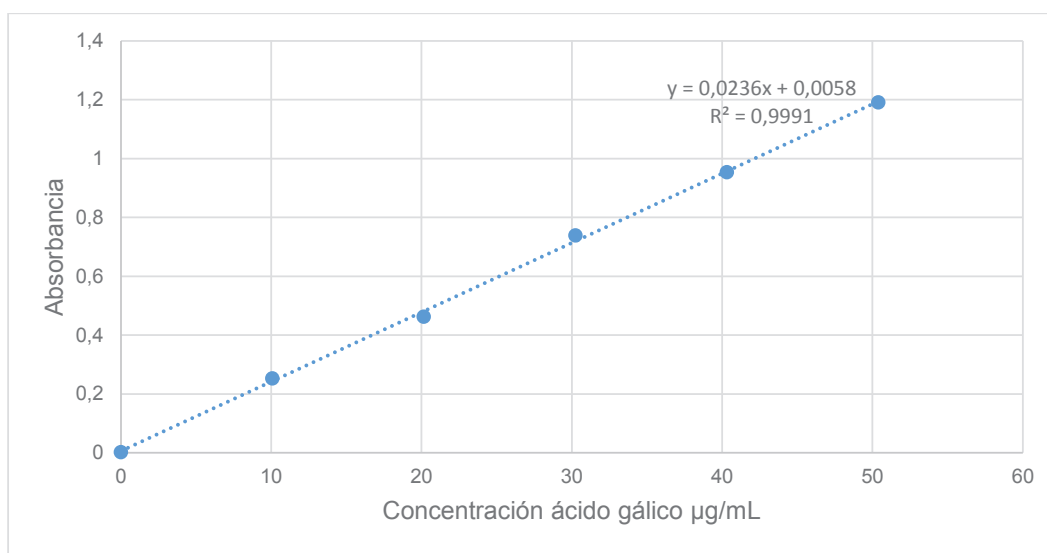
CURVA DE CALIBRACIÓN USADA EN EL CÁLCULO DE
POLIFENOLES TOTALES

Figura AIV.1. Curva de calibración para polifenoles totales
(Fuente propia, 2016)

ANEXO V

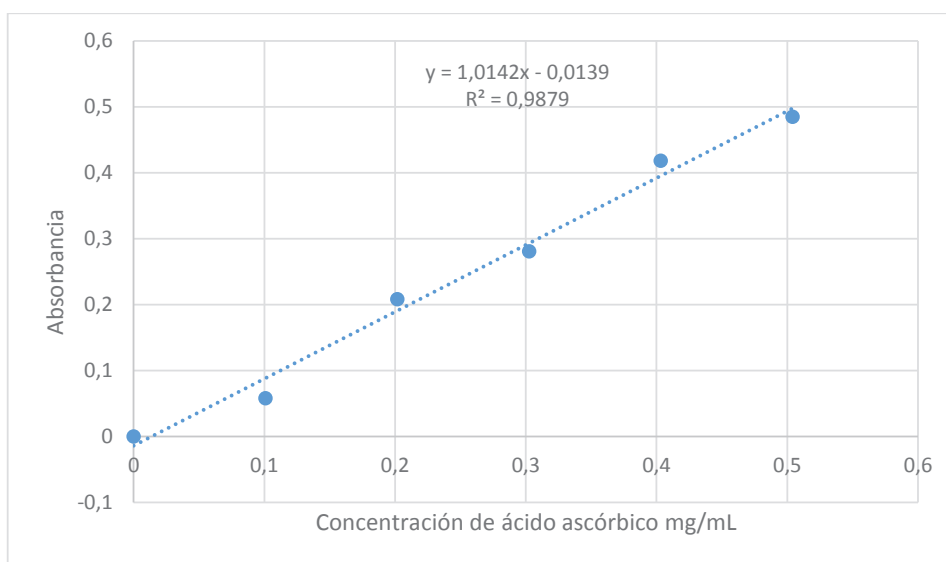
**CURVA DE CALIBRACIÓN USADA EN EL CÁLCULO DE
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

Figura AV.1. Curva de calibración para capacidad antioxidante
(Fuente propia, 2016)

Muestra: _____

Atributo	Me disgusta extremadamente	Me disgusta mucho	Me disgusta moderadamente	Me disgusta levemente	Ni me gusta ni me disgusta	Me gusta levemente	Me gusta moderadamente	Me gusta mucho	Me gusta extremadamente
Apariencia General									
Olor									
Color									
Textura									
Sabor									

Presencia de olores o sabores extraños

_____

_____

Observaciones:

_____

_____

GRACIAS