

**ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO ANTIMICROBIANO PARA  
AHUYAMA (*Cucúrbita moshata*) VARIEDAD BOLO VERDE, CULTIVADA EN  
EL MUNICIPIO DE GUACHENÉ (CAUCA)**



Universidad  
del Cauca

**YURI DEL CARMEN IPIAL CHALACA  
CLAUDIA MILENA LUNA AGREDO**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
POPAYÁN  
2017**

**ELABORACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO ANTIMICROBIANO PARA  
AHUYAMA (*Cucúrbita moshata*) VARIEDAD BOLO VERDE, CULTIVADA EN  
EL MUNICIPIO DE GUACHENÉ (CAUCA)**



Universidad  
del Cauca

**YURI DEL CARMEN IPIAL CHALACA  
CLAUDIA MILENA LUNA AGREDO**

**Trabajo de grado en la modalidad de Investigación para optar el título de  
Ingenieras Agroindustriales**

**M. Sc. SILVIO ANDRÉS MOSQUERA SÁNCHEZ  
Director**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
POPAYÁN  
2017**

## **Nota de aceptación**

El director y los jurados han revisado este documento, han escuchado la sustentación del mismo por sus autores y lo han encontrado satisfactorio.

---

M. Sc. Silvio Andrés Mosquera  
Sánchez  
Director

---

Juan Carlos Argoti  
Presidente del jurado

---

José Fernando Solanilla  
Firma del jurado

Popayán, 9 de mayo de 2017

## DEDICATORIA

A mi hermana Amanda Liliana, quien fue el motor principal para emprender mi formación como profesional y mantenerme firme en el transcurso del camino, gracias a ella por el apoyo incondicional y por sus palabras de regocijo en los momentos de tristeza.

Gracias Dios por regalarme una hermana ejemplar, que día a día nos enseña el valor del emprendimiento y la gratitud.

A mis padres Fabio M. Ipial y Esperanza Chalaca quienes con sus palabras de aliento no me dejaron decaer en los momentos más difíciles para que siguiera adelante y siempre sea perseverante para cumplir con mis ideales.

A mi hermana Andrea y mi sobrina Sofía quienes fueron y son mi alegría en el camino para culminar una etapa más, gracias a ellas por acompañarme desde la distancia con su apoyo moral.

*Yuri Ipial Chalaca*

## DEDICATORIA

A Dios por tantas bendiciones que me dio, por iluminar mi camino y no permitir que desfalleciera mostrándome que todo se hace a su tiempo y a su voluntad, a toda mi familia pero en especial a mi señora madre por su amor y su apoyo incondicional y por enseñarme que los sueños se pueden hacer posibles con esfuerzo y dedicación, a mi novio por su constante compañía, por animarme en los momentos difíciles y por ser tan incondicional conmigo.

A mis amigos por su amistad, sus palabras de aliento y su lealtad a lo largo de mi carrera universitaria.

A mis profesores por compartir conmigo todo su conocimiento, a mis jurados por su paciencia, sus correcciones para lograr un buen trabajo, su buena disposición y su tiempo.

*Claudia Milena Luna Agredo*

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN .....	18
1. MARCO TEÓRICO.....	20
1.1 LA AHUYAMA (Cucúrbita moshata) .....	20
1.1.1 Taxonomía y morfología de la ahuyama. ....	20
1.1.2 Composición nutricional. ....	21
1.1.3 Enfermedades.....	21
1.1.4 Poscosecha de la ahuyama .....	22
1.1.5 Cultivo de la ahuyama en Colombia.....	22
1.1.6 Anatomía vegetal de la ahuyama.....	22
1.2 RECUBRIMIENTO COMESTIBLE.....	23
1.2.1 Ventajas y desventajas del uso de recubrimientos comestibles:.....	25
1.2.2 Materiales empleados para la elaboración de RC.....	25
1.2.2.1 Lípidos.. ....	26
1.2.2.2 Polisacáridos.....	26
1.2.2.3 Otros componentes (aditivos). ....	27
1.2.3 Características de aditivos formadores de RC .....	27
1.2.3.1 Plastificantes.....	27
1.2.3.2 Glicero.....	28
1.2.3.3 Antimicrobianos (conservadores).....	28

1.2.3.4	Aceites esenciales (AEs).	28
1.2.3.5	Tomillo.	29
1.3	FORMAS DE APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES SOBRE LOS ALIMENTOS	30
1.3.1	Inmersión (superficies irregulares).	30
1.3.2	Spray (superficies lisas y uniformes).	30
1.3.3	Casting (films independientes) e.	31
1.4	RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES Y SU EFECTO SOBRE LA EXTENSIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LA AHUYAMA ( <i>Cucúrbita moshata</i> )	31
	METODOLOGÍA	33
1.5	LOCALIZACIÓN	33
1.6	MATERIALES	33
1.6.1	Material vegetal.	33
1.6.2	Materiales empleados para el recubrimiento.	33
1.6.2.1	Aceite esencial de tomillo ( <i>Thymus vulgaris</i> ).	33
1.6.2.2	Tween 80.	34
1.6.2.3	Glicerina.	34
1.6.2.4	Almidón Hidrolizado de yuca.	34
1.6.3	Materiales empleados para las pruebas de microscopía.	34
1.6.3.1	Glutaraldehído.	34
1.6.3.2	Buffer de fosfato salino (PBS).	35
1.6.3.3	Tetraóxido de Osmio.	35
1.6.3.4	Etanol.	35
1.6.3.5	Resina R- WHITE.	35

1.6.3.6	Azul de toluidina.....	35
1.6.3.7	Acetato de uranilo. ....	35
1.6.3.8	Citrato de plomo.....	36
1.6.4	Equipos .....	36
1.6.4.1	HL2. ....	36
1.6.4.2	Balanza gramera digital. ....	36
1.6.4.3	pH-metro. ....	37
1.6.4.4	Oxy Baby .....	37
1.6.4.5	Máquina universal de ensayos.....	38
1.6.4.6	Colorímetro. ....	39
1.6.4.7	Extractor de jugos .....	39
1.6.4.8	Refractómetro .....	40
1.6.4.9	Ultra micrótopo Leica UCT.....	40
1.6.4.10	Microscopio óptico. ....	41
1.6.4.11	Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).....	42
1.7	MÉTODOS.....	42
1.7.1	Selección y clasificación de material vegetal). ....	42
1.7.2	Limpieza y desinfección. ....	43
1.7.3	Preparación del recubrimiento. ....	43
1.7.4	Aplicación del recubrimiento. ....	43
1.8	EVALUACIÓN DE VARIABLES.....	44
1.8.1	Pérdida de peso .....	44
1.8.2	Tasa de respiración.....	45



1.8.3	Firmeza.....	45
1.8.4	Sólidos solubles totales.....	45
1.8.5	pH.....	46
1.8.6	Pruebas de colorimetría.....	46
1.8.7	Crecimiento microbian.....	46
1.8.8	Pruebas de microscopía.....	46
1.8.8.1	Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR).....	47
1.8.8.2	Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).....	47
1.9	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	47
1.10	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	49
1.10.1	Pérdida de peso.....	49
1.10.2	Tasa de respiración.....	52
1.10.2.1	Porcentaje de CO <sub>2</sub> .....	52
1.10.2.2	Porcentaje de O <sub>2</sub> .....	54
1.10.3	Sólidos solubles totales (grados Brix).....	56
1.10.4	pH.....	58
1.10.5	Firmeza.....	61
1.10.6	Índice de color.....	63
1.10.6.1	Luminosidad (L).....	64
1.10.6.2	Parámetro B+.....	66
1.10.6.3	Ángulo de matiz (parámetro h°).....	67
1.10.6.4	Parámetro a+.....	70
1.10.7	Análisis microbiológico.....	71

1.11	PRUEBAS DE MICROSCOPIA EN TROZOS DE AHUYAMA.....	77
1.11.1	Análisis de Microscopia Óptica de Alta Resolución en el epicarpio (MOAR). .....	78
1.11.2	Análisis de Microscopia Óptica de Alta Resolución en el mesocarpio (MOAR).....	83
1.11.3	Análisis de Microscopia Electrónica de Transmisión en epicarpio (MET)..	87
1.11.4	Análisis de Microscopia Electrónica de Transmisión en mesocarpio de ahuyama (MET)..	89
	CONCLUSIONES .....	91
	RECOMENDACIONES .....	92
	BIBLIOGRAFÍA.....	93
	ANEXOS .....	106

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Valor nutritivo promedio de la ahuyama por cada 100 g de producto .....	21
Tabla 2. Concentración de almidón y de aceite esencial de tomillo usado en los tratamientos .....	43
Tabla 3. Diseño experimental completamente al azar 4x4 .....	48
Tabla 4. Recuento microbiológico de hongos en ahuyama .....	72

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Sección longitudinal de una cucurbitácea.....	23
Figura 2. Sistema HL2 .....	36
Figura 3. Balanza gramera digital .....	37
Figura 4. pH-metro.....	37
Figura 5. Oxy baby Witt .....	38
Figura 6. Máquina universal de ensayos .....	39
Figura 7. Colorímetro .....	39
Figura 8. Extractor de jugos .....	40
Figura 9. Refractómetro .....	40
Figura 10. Ultramicrotomo Leica .....	41
Figura 11. Microscopio óptico .....	41
Figura 12. Microscopio electrónico de transmisión .....	42
Figura 13. Ahuyamas recubiertas por inmersión.....	44
Figura 14. Trozos de ahuyamas en bolsas herméticas.....	45
Figura 15. Aislamiento microbiano.....	46
Figura 16. Seguimiento del tratamiento 1 para el día 4 .....	74
Figura 17. Seguimiento del tratamiento 2 para el día 4 .....	75
Figura 18. Seguimiento del tratamiento 3 para el día 4 .....	75
Figura 19. Seguimiento del tratamiento 4 para el día 4 .....	75

Figura 20. Seguimiento del tratamiento 1 para el día 8 .....	76
Figura 21. Seguimiento del tratamiento 2 para el día 8 .....	76
Figura 22. Seguimiento del tratamiento 3 para el día 8 .....	76
Figura 23. Seguimiento del tratamiento 4 para el día 8 .....	76
Figura 24. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama, sin recubrir, tratamiento 1, día cero. Epidermis (E), Hipodermis (H), Colénquima (C), Parénquima (P) y espacios intercelulares (Esp). 40X.....	80
Figura 25. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 8. Parénquima (P), epidermis (E), almidón (A), Espacios intercelulares (Esp). 40X.....	81
Figura 26. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,5 %, tratamiento 2, día 8. Cutícula (C), Epidermis (E), Esclerénquima (Es), Colénquima (Co), Espacios intercelulares (Esp) y Almidón (A). 40X.....	81
Figura 27. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama, recubiertos con aceite esencial de tomillo al 07 %, tratamiento 3, día 8. Cutícula (C), Epidermis (E), y parénquima (P). 40X. ....	82
Figura 28. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 1%, tratamiento 4, día 8. Colénquima (Co), Espacios intercelulares (Esp) y Mesocarpio (Me). 40 X. ....	82
Figura 29. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 0. Almidón (A), Mesocarpio (M) y Espacios intercelulares (Esp). 40X. ....	84
Figura 30. Figura 41 Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 8. Pared celular (Pc), Almidón (A), Haces vasculares (Hv). 40X.....	85
Figura 31. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,5 %, tratamiento 2, día 8. Espacios intercelulares (Esp). 40X.....	85
Figura 32. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,7 %, tratamiento 3, día 8. Xilema anular (Xa), Almidón (A). 40X.....	86

Figura 33. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 1%, tratamiento 4, día 8. Haces vasculares (Hv). 40X .....	86
Figura 34. Micrografía electrónica de corte transversal de células del pericarpio de ahuyama, tratamiento 1, día 8 donde se observa vacuolas (V), cloroplastos (C), reservas de almidón (A), y lípidos (L). .....	88
Figura 35. Micrografía electrónica de corte transversal de células del epicarpio de ahuyama, tratamiento 3, día 8 donde se observa Mitocondrias (M), Almidón (A), Vacuola (V) y pared celular (PC). .....	88
Figura 36. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 1, día 8, donde se observa vacuolas (V). .....	89
Figura 37. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 2, día 8, donde se observa almidones (A) y cromoplastos (Cr).....	89
Figura 38. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 2, día 8, donde se observa almidones (A). .....	90

## LISTA DE GRÁFICAS

Pág.

Gráfica 1. Comportamiento de la pérdida de peso durante el tiempo de seguimiento.....	50
Gráfica 2. Comportamiento del dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ) durante el tiempo de seguimiento.....	53
Gráfica 3. Comportamiento del porcentaje de O <sub>2</sub> durante el tiempo de seguimiento .....	55
Gráfica 4. Comportamiento de los sólidos solubles totales durante el tiempo de seguimiento.....	57
Gráfica 5. Comportamiento del pH durante el tiempo de seguimiento.....	59
Gráfica 6. Comportamiento de la firmeza durante el tiempo de seguimiento.....	62
Gráfica 7. Comportamiento de la luminosidad (L) durante el tiempo de seguimiento .....	64
Gráfica 8. Comportamiento del parámetro B+ durante el tiempo de seguimiento..	66
Gráfica 9. Comportamiento del ángulo de matiz durante el tiempo de seguimiento .....	68
Gráfica 10. Comportamiento del parámetro a+ durante el tiempo de seguimiento	70
Gráfica 11. Crecimiento de hongos (UFC/mL) en trozos de ahuyama.....	73

## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo A. Datos Promedio De Las Tres Réplicas.....	107
Anexo B. Análisis Estadístico para pérdida de Peso .....	112
Anexo C. Análisis Estadístico para Tasa de Respiración .....	115
Anexo D. Análisis Estadístico para Solidos Solubles (° BRIX).....	121
Anexo E. Análisis Estadístico para pH.....	124
Anexo F. Análisis Estadístico para Firmeza (N).....	127
Anexo G. Guía para la realización de la hidrólisis en el almidón de Yuca .....	142
Anexo H. Guía Para Determinar El Porcentaje De Dextrosa En El Almidón Hidrolizado De Yuca .....	146



## RESUMEN

La ahuyama (*Cucúrbita moshata*) se caracteriza por ser una hortaliza que ofrece beneficios nutracéuticos, con 45% de carotenoides totales, 66% de beta caroteno, 33% de alfa caroteno y 44% de luteína, que son importantes en la prevención de enfermedades como el cáncer y enfermedades coronarias (Universidad Nacional, 2014), del mismo modo presenta dentro de su composición un elevado contenido de agua cercano al 90% (Vallejo y Estrada, 2008), por lo cual es vector de crecimiento bacteriano y/o fúngico: teniendo en cuenta lo anterior, se elaboró un recubrimiento compuesto por 4% de almidón de yuca, 2% de glicerina, 0,02% de tween 80 y aceite esencial de tomillo en concentraciones de 0,5%, 0,7% y 1%. La aplicación del recubrimiento se realizó sumergiendo los trozos de ahuyama por 30 segundos utilizando pinzas de acero inoxidable, posteriormente, se colocaron en bandejas previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio. Se desarrollaron 4 tratamientos: el tratamiento uno correspondió a las muestras de ahuyama sin recubrimiento, siendo este el blanco, los tratamientos dos, tres y cuatro correspondieron a las muestras de ahuyama con recubrimiento con una concentración de aceite esencial de tomillo de 0,5%, 0,7% y 1% respectivamente. Se evaluó la pérdida de peso, tasa de respiración, firmeza, pH, sólidos solubles totales, índice de color y análisis microbiológico cada dos días por ocho días y se realizaron pruebas de microscopia para lo cual se empleó el Microscopio Óptico de Alta Resolución (MOAR) y el Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) en el día ocho encontrando diferencias significativas en cada una de las variables que se analizaron, siendo los tratamientos 3 y 4 los que presentaron un efecto favorable en la mayoría de las variables de respuesta frente al tratamiento 1.

**Palabras clave:** ahuyama, recubrimiento, aceite esencial de tomillo.

## INTRODUCCIÓN

La ahuyama (*Cucúrbita moshata*) es una de las hortalizas más importantes en el sector agropecuario, en Colombia se reportó una producción de 105.532 ton en 2014 con un rendimiento de 90 ton/ Ha mientras que en el Departamento del Cauca se reportó una producción de 120 ton en 2014 con un rendimiento de 40 ton/Ha concentrándose su producción en los municipios de Villarrica, Guachené, Patía y Balboa con 3.740, 1.850, 1.715 y 1.640 ton respectivamente, los cuales se encuentran alrededor de los 1.000 msnm y tienen temperatura promedio de 23 °C, siendo las variedades más cultivadas bolo verde y cuero de sapo<sup>1</sup>.

Uno de los principales problemas que se tejen en torno a esta hortaliza es su tamaño y la dificultad de su consumo, por lo tanto, en la mayor parte de las ocasiones, la pulpa se exhibe sin protección en los anaqueles convirtiéndose en foco de contaminación por la exposición al ambiente al ser atacada por *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.*, *Micelia sterilia sp.*, *Oidium sp.*, *Penicillium sp.* y *Nigrospora sp* (Campo *et al.*, 2011), aunque se aclara que los microorganismos que más la atacan son los hongos *Phytophthora spp.* *Dydimella bryoniae*, *Colletotrichum orbiculare* causante de *Antracnosis*, *Fusarium spp.* y la mancha bacteriana causada por *Pseudomonas syringae p.v.*<sup>2</sup>, también está expuesta a partículas encontradas en el ambiente (como por ejemplo el polvo) y al contacto directo con el comprador.

Adicionalmente se presentan problemas en cuanto al precio del producto que sólo se ha incrementado en \$ 489/kg en los últimos diez años (2003-2013) y \$ 692/kg en los últimos veinte años (1993-2013) con un valor actual (año 2016) de \$ 800/kg<sup>3</sup> a lo que se suma que en el norte del Departamento de Cauca el costo de producción es de aproximadamente \$150/kg, el intermediario lo compra en

---

<sup>1</sup> AGRONET. Oferta nacional agropecuaria. [En línea] 2014. [Citado en febrero 27 de 2014] Disponible desde internet en: [https://www.agronet.gov.co/www/docs\\_agronet/201046112648\\_RESULTADOS\\_ENA\\_2014.pdf](https://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/201046112648_RESULTADOS_ENA_2014.pdf).

<sup>2</sup> MÁRQUEZ, Evelyn Rosa. Enfermedades. Conjunto Tecnológico para la Producción de Calabaza. Colegio de Ciencias Agrícolas. Estación Experimental Agrícola. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. 2012.

<sup>3</sup> TRIVIÑO OROZCO, Pedro Pablo. Corporación de Abastos de Bogotá S.A -CORABASTOS-. Información anual de precios de mercado mayorista, calidad extra. [En línea] 20 de mayo de 2014. Disponible desde internet en: [precios@corabastos.com.co](mailto:precios@corabastos.com.co).

\$350/kg y lo vende aproximadamente \$800/kg en centrales de abastos, plazas de mercado, entre otros, cuyo pago es realizado a los 30 días o en algunos casos a los 60 días, ahondando en el riesgo existente para la sostenibilidad económica del cultivo y de los productores que no encuentran una motivación para dar continuidad con el proceso. Las pérdidas pos cosecha son otro factor y se estiman en 40% por causa de daños físicos, químicos y biológicos, falta de capacitación de los productores y comercializadores que desconocen las técnicas de manejo poscosecha y los beneficios de los usos de los recubrimientos comestibles<sup>4</sup> como medio de conservación en productos troceados, causando deshidratación, pérdida de firmeza o ablandamiento y deterioro de las características sensoriales (olor, color, sabor).

Los recubrimientos comestibles son elaborados con sustancias poliméricas naturales, de composición heterogénea, las cuales pueden ser ingeridas sin riesgo para el consumidor y que le aportan algunos nutrientes tales como proteínas, (gelatina, caseína, etc.), celulosa, almidón o materiales con base en dextrina, alginatos, gomas, ceras, lípidos o derivados de los monoglicéridos y la mezcla de cualquiera de estos grupos<sup>5</sup>, que tienen como fin inhibir la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aroma, lípidos y además servir como transporte de antioxidantes, antimicrobianos y sabores e impartir integridad mecánica y facilitar la manipulación de los alimentos<sup>6</sup>.

El presente trabajo tuvo como finalidad elaborar un recubrimiento antimicrobiano con base en aceite de tomillo para aplicar a la ahuyama y evaluar el efecto sobre la vida útil y calidad del producto, mediante la medición de variables como, la pérdida de peso, los sólidos solubles totales, tasa respiratoria, pH, índice de color, firmeza así como un análisis microbiológico y la realización de pruebas de Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR) y Microscopía Electrónica de Transmisión (MET).

---

<sup>4</sup> MORENO, Ana María. Sistema de exhibición y conservación de frutas estacionarias en supermercados. Cali (Colombia): Trabajo de agricultura, Facultad de Ingenierías, Universidad Ices, 2012.

<sup>5</sup> BÓSQUEZ E. Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas. Rev. Mundo alimentario edición julio - agosto 2008. Pág. 28-31. 2008.

<sup>6</sup> MARTÍNEZ, S. Caracterización y evaluación del potencial productivo de orégano (*Origanum Vulgare*) en el municipio de Mapimi, Durango. México: Universidad Autónoma Chapingo. 176 p, 1999.

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 LA AHUYAMA (*Cucúrbita moshata*)

La ahuyama es una hortaliza tradicional en Colombia de gran importancia económica, social y alimenticia. Se cultiva en más de cien países para consumo en fresco o para su industrialización. Los diez principales países productores que concentran su actividad en la producción de ahuyama son China, India, Rusia, Irán, Estados Unidos, Egipto, Ucrania, México, Argentina, España, siendo los tres primeros los pioneros en cuanto a precio y consumo mundial (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, 2014).

**1.1.1 Taxonomía y morfología de la ahuyama.** La ahuyama es una planta rastrera cuyo pepónide es característicamente una baya de cáscara dura, es decir una calabaza, pertenece a la familia de las cucurbitáceas, su nombre científico es *Cucúrbita moshata* y es originaria de América<sup>7</sup>. Desde el punto de vista taxonómico pertenece a<sup>8</sup>:

**Reino** : *Plantae*  
**División** : *Magnoliophyta*  
**Clase** : *Magnoliopsida*  
**Orden** : *Violales*  
**Familia** : *Cucurbitáceae*  
**Género** : *Cucúrbita*  
**Especie** : *moshata*

---

<sup>7</sup> RODRÍGUEZ, Michael. Evaluación agronómica y fisiológica del cultivo de ahuyama (*Cucúrbita moshata*): influencia del sistema de cultivo en condiciones salinas y del manejo de riego con altas temperaturas medioambientales. Tesis Doctoral. Universidad Miguel Hernández de Elche. Departamento de tecnología agroalimentaria, 2013.

<sup>8</sup> ALARCÓN, Alejandro, *et al.* Calidad Poscosecha de la ahuyama (*Cucúrbita máxima*) activada en sistemas ecológicos de fertilización. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Departamento de ingeniería rural. 2013.

**1.1.2 Composición nutricional.** La ahuyama es una hortaliza que fácilmente puede estar en la dieta de los colombianos ya que aporta significativos nutrientes<sup>9</sup> como potasio, calcio, vitamina A, fósforo, magnesio, zinc y el hierro en pequeña porción. La fibra es otro componente de la ahuyama, además del betacaroteno y en menor proporción las vitaminas B2, B5, C y E. Se trata de una hortaliza baja en calorías y rica en nutrientes, cuyo consumo recomendado es de hasta tres veces a la semana, puesto que tiene un alto contenido de agua que baja su valor calórico (12 - 40 calorías por cada 100 gramos de ahuyama)<sup>10</sup>. (Ver Tabla 1).

**Tabla 1. Valor nutritivo promedio de la ahuyama por cada 100 g de producto**

Información nutricional					
Macronutrientes	Unidades	Valor	Macronutrientes	unidades	Valor
Agua	g	89,76	Vitaminas		
Energía	kcal	34	Vitamina A	IU	1367
Proteína	g	0,95	Vitamina C	mg	12,3
Total grasas	g	0,13	Vitamina E	mg	0,12
Ceniza	g	0,57	Vitamina K	mg	1,1
Carbohidratos	g	8,59	Vitamina B-6	mg	0,156
Fibra dietaria	g	1,5	Ácido pantoténico	mg	0,188
Azúcar	g	2,20	Niacina	mg	0,5
Lípidos	g	0	Riboflavina	mg	0,062
Minerales			Folato	mcg	24
Potasio	mg	350	Otros		
Calcio	mg	28	B-caroteno	mcg	820
Fosforo	mg	23	Luteína+ Zeaxantina	mcg	38
Magnesio	mg	14			
Sodio	mg	4			

Fuente. Della *et al.*, 2013.

**1.1.3 Enfermedades.** Entre los patógenos que causan enfermedades a la ahuyama en pos cosecha se encuentran la podredumbre negra (*Didymella bryoniae*) y a las pudriciones por *Fusarium* spp., podredumbres por *Phytophthora capsici*, *Colletotrichum* spp, *Alternaria cucurbitae* y *Sclerotinia sclerotiorum* las

<sup>9</sup> DELLA Pedro, *et al.* Manual del cultivo del zapallo Anquito (*Cucúrbita moschata* Duch). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. San Juan.2013

<sup>10</sup> HURTADO B. La auyama: una hortaliza rica en potasio, calcio y vitamina A. [En línea] 2012. [Citado en septiembre 1 de 2014]. Disponible desde internet en: <http://m.avn.info.ve/contenido/auyama-una-hortaliza-rica-potasio-calcio-y-vitamina>.

cuales son muy destructivas y afectan la calidad de la ahuyama, ocasionando que está no sea comercializable, lo cual se traduce en pérdidas para el productor<sup>11</sup>.

**1.1.4 Poscosecha de la ahuyama.** Existen diferentes factores que afectan la pos cosecha de los frutos del cultivo de ahuyama, entre los cuales se puede mencionar la nutrición vegetal (la disponibilidad de nutrientes y de agua), las características del suelo, textura, drenaje, la intensidad y calidad de la luz, la temperatura, la incidencia del clima, factores genéticos (genoma y variabilidad genética de la planta), humedad relativa y otros<sup>12</sup>. La inadecuada manipulación desde la cosecha hasta el consumidor, transporte y distribución inoportuno, tamaño, selección, limpieza y acondicionamiento incorrecto<sup>13</sup>, así como también los daños mecánicos pueden causar alteraciones metabólicas y fisiológicas, dando una apariencia anormal externa o interna y alteraciones en el metabolismo respiratorio, sabor y firmeza<sup>14</sup>.

**1.1.5 Cultivo de la ahuyama en Colombia.** En Colombia, la producción de ahuyama es usual en casi todas las zonas, pero se concentra principalmente en los departamentos de Cundinamarca, Santander, Tolima, Valle del Cauca, Bolívar, Cesar y La Guajira, siendo este último departamento quien mayor producción de ahuyama presenta, para el 2014 tuvo una producción de 1004 Ha<sup>15</sup>. A nivel del Departamento del Cauca los municipios con mayor producción de ahuyama son: Guachené, Patía, Balboa y Villarrica con producciones de 26 Ha hasta 39 Ha<sup>16</sup>.

**1.1.6 Anatomía vegetal de la ahuyama.** La pepónide de las cucurbitáceas es un fruto semejante a una baya derivado de un ovario ínfero mientras que la pared del fruto tiene un mesocarpo macizo de estructura heterogénea (Figura 1)<sup>17</sup>. Las capas interna y externa de la epidermis forman el exocarpo y el endocarpio

---

<sup>11</sup> DELLA Pedro, *et al.* Op. cit.

<sup>12</sup> ALARCÓN, op. cit.

<sup>13</sup> DELLA, op. cit.

<sup>14</sup> MARTÍNEZ, Judith. Un tesoro perecedero en México: el tomate, tecnologías para prolongar su vida de anaquel. En: Revista de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, vol. 54, p. 42-48. 2012.

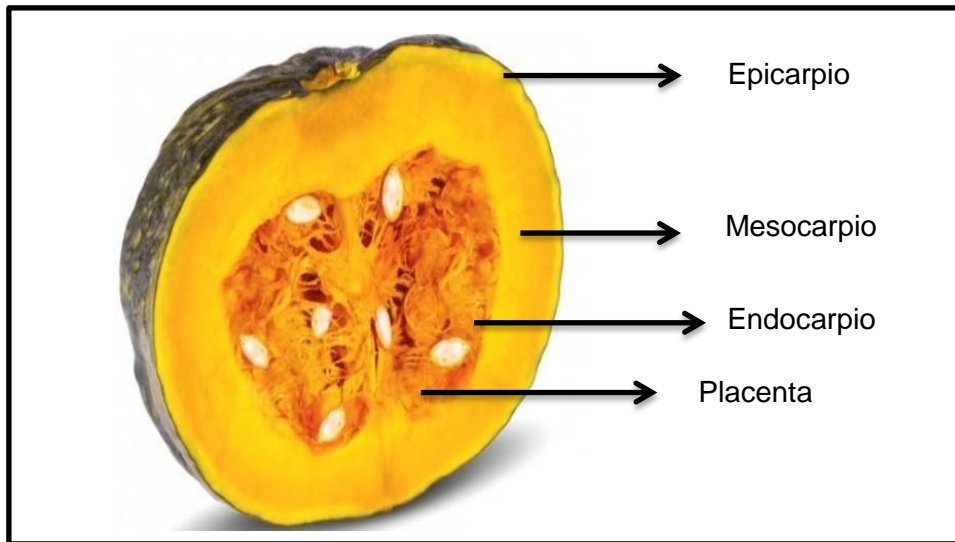
<sup>15</sup> AGRONET, op. cit.

<sup>16</sup> *Ibíd.*

<sup>17</sup> MATIENKO. B.T.; Ob anatomy- morfologicheskoi prirode tsetka I ploda tykvennykh. [Sobre la naturaleza anatomicomorfológica de la flor y el fruto de las cucurbitáceas] en: Morfología y anatomía Rastenii. IV. Leningrado, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR.1957.

respectivamente: el mesocarpo consta de colénquima, parénquima que puede tener cloroplastos, esclerénquima, parénquima carnoso que contiene las haces vasculares y parénquima jugoso en donde pueden presentarse pigmentos. La parte interna de la epidermis se adhiere a la semilla formando una membrana transparente. Las cucurbitáceas desarrollan una peridermia similar a una red suberosa como respuesta al resquebrajamiento de la superficie del fruto<sup>18</sup>.

El mesocarpo consta de células parenquimáticas flojamente trabadas que aumentan de tamaño desde la periferia hacia el interior, siendo la célula más pequeña cercana a la periferia la que contiene la mayor parte de los cloroplastos. Por otra parte, el endocarpo es la parte del fruto que alcanza primero el tamaño máximo<sup>19</sup>.



**Figura 1. Sección longitudinal de una cucurbitácea**

## **1.2 RECUBRIMIENTO COMESTIBLE**

Un recubrimiento comestible (RC) es una sustancia aplicada en el exterior de los alimentos, de manera que el producto final sea apto para el consumo, los cuales

<sup>18</sup> MEISSNER, F.; Die Korkbildung der Fruchte von Aesculus und Cuculis – Arten. Osterr. Bot. Ztschr.99:606-624. 1952.

<sup>19</sup> RAGLAND, C, H. The development of the peach fruit, with special reference to split-pit and gumming. Amer. Soc. Hort. Sci. Proc. 31:1 -21. 1934.

deben ser legales, inocuos, aceptables sensorialmente y deben proporcionar un valor agregado al alimento<sup>20</sup>. La función principal de los RC es proteger al producto de daños mecánicos, físicos, químicos y actividades microbiológicas que lo deterioren<sup>21</sup>, dependiendo de sus características, pueden ayudar a reducir dichos daños en el alimento mediante un proceso mínimo retardando su deterioro, aumentando la calidad y mejorando su inocuidad gracias a la actividad natural del recubrimiento contra los microorganismos o por la incorporación de compuestos antimicrobianos en la formulación<sup>22</sup>.

El uso de los RC en alimentos y, especialmente en productos altamente perecederos, está condicionado por parámetros tales como el costo, la disponibilidad, la funcionalidad, las propiedades mecánicas como flexibilidad y tensión, propiedades ópticas como brillo y opacidad, la barrera que proporciona contra el flujo de gases, la aceptabilidad sensorial y la resistencia estructural contra agua y microorganismos. Dichas características dependen del tipo de material utilizado como matriz estructural, las condiciones en que se formaron los recubrimientos (tipo de disolvente, pH, concentración de componentes y temperatura) y la concentración de aditivos<sup>23</sup>, que son agregados durante el proceso de elaboración y pueden ser agentes antioxidantes, agentes antimicrobianos, agentes aromatizantes, pigmentos y nutrimentos<sup>24</sup>.

Un RC debe cumplir con exigencias de calidad seguridad y rendimiento; uno de los principales propósitos de los recubrimientos es mejorar la apariencia del producto, brindando brillo y a veces color, que debe mantenerse a través de los procesos de transporte manejo y comercialización. Para que la aplicación sea exitosa en el producto, el recubrimiento debe secar rápidamente, no debe producir espuma y se debe remover fácilmente de los equipos, una vez aplicado no debe agrietarse decolorarse o caerse durante la manipulación, no debe reaccionar de

---

<sup>20</sup> BALDWIN E, *et al.* Edible coatings and films to improve food quality. Boca ratón: CRC Press, 2012.

<sup>21</sup> QUINTERO CERÓN J.; FALGUERA PASCUAL V. y MUÑOZ HERNÁNDEZ J, *et al.* Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Revista Tumbaga 5, 93-118, 2010.

<sup>22</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, y BELLOSO Martín, O. The use of packaking techniques to maintain freshness in fresh cut fruits and vegetables: a review. International Journal of Food Science and Technology, 4, 875-889. 2009.

<sup>23</sup> *Ibíd.*

<sup>24</sup> PASCALL, M y LIN, S. J. The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. Food Procesing and Technology, 4(2), 1-2, 2013.



manera adversa con los alimentos ni poner en riesgo la calidad sensorial del producto, pero debe restringir el paso de gases como oxígeno y dióxido de carbono. Durante el almacenamiento de los productos, el recubrimiento no debe fermentar, coagular, separarse, desarrollar sabores desagradables, entre otras anormalidades<sup>25</sup>.

**1.2.1 Ventajas y desventajas del uso de recubrimientos comestibles.** Dentro de las ventajas del uso de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas se encuentran<sup>26</sup>:

- Mejoran la retención del color, ácidos, azúcares y componentes del sabor.
- Reducen la pérdida de agua.
- Mantienen la calidad durante el almacenamiento.
- Disminuyen los desórdenes metabólicos durante el período de conservación.
- Permiten la adición de otros compuestos.
- Reducen el uso de envases sintéticos.

Sin embargo, su utilización también presenta inconvenientes. Una de las principales desventajas del uso de los RC es su grosor, ya que este puede restringir el intercambio gaseoso durante la respiración de los tejidos, pudiendo causar acumulación de altos niveles de etanol y por ende el desarrollo de malos sabores<sup>27</sup>.

**1.2.2 Materiales empleados para la elaboración de RC.** Los RC se han clasificado con base en el material estructural, de modo que se habla recubrimientos basados en lípidos, polisacáridos, proteínas, o mezclas de estos<sup>28</sup>, además de otros componentes que ayuden a mejorar las propiedades finales del RC como plastificantes que y/o faciliten su obtención como surfactantes y

---

<sup>25</sup> BALDWIN E, *et al.* Op. cit.

<sup>26</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis doctoral. Universidad de Lleida.2009.

<sup>27</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, *et al.* Op. cit.

<sup>28</sup> QUINTERO CERÓN J.; FALGUERA PASCUAL V. y MUÑOZ HERNÁNDEZ J, *et al.* Op. cit.

emulsionantes<sup>29</sup>. A continuación, se describen las características más importantes de cada uno de ellos.

**1.2.2.1 Lípidos.** Los lípidos son los materiales que mejores resultados han dado en el recubrimiento de frutos, mediante su utilización se reduce la respiración, deshidratación y mejora el brillo de estos productos, además de ofrecer barrera contra el vapor del agua. Los lípidos empleados para elaborar películas y recubrimientos comestibles son las ceras de abeja, candelilla y carnauba; los triglicéridos, monoglicéridos acetilados, ácidos grasos, alcoholes y ésteres de ácidos grasos de sacarosa<sup>30</sup>.

**1.2.2.2 Polisacáridos.** Los polisacáridos solubles en agua son cadenas largas de polímeros ampliamente utilizados en la industria alimentaria, son no tóxicos y se encuentran ampliamente distribuidos<sup>31</sup>. Debido a su naturaleza hidrofílica, las películas elaboradas a partir de polisacáridos ofrecen buenas propiedades de barrera frente a los gases (CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>) dentro de ciertas condiciones, sin embargo, su funcionalidad como barrera contra la de humedad es pobre debido a su naturaleza hidrofílica<sup>32</sup>. Una variedad de polisacáridos y sus derivados han sido probados en películas o recubrimientos comestibles, incluyendo alginatos, pectinas, carragenina, gomas (por ejemplo, agar de algas marinas), quitosano, almidón, derivados de celulosa, mucílago y mezclas<sup>33</sup>. Entre las ventajas potenciales de los recubrimientos con base en polisacáridos se pueden mencionar que no son grasosos, son películas de bajas calorías y pueden emplearse para extender la vida de anaquel de frutas y hortalizas sin alto riesgo de desarrollar condiciones de anaerobiosis, por lo que su aplicación en la agricultura se ha vuelto

---

<sup>29</sup> SÁNCHEZ-GONZALES L, VARGAS, C GONZALES-MARTINEZ, *et al.* "Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimento." VIII Congreso SEAE Bullas, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, 2008.

<sup>30</sup> PÉREZ, B, y BAEZ, R, *et al.* Utilización de ceras comestibles en la conservación de frutas. Alimentaria, julio-agosto, 2011.

<sup>31</sup> CHA, D.S., CHINNAN, M.S. Bipolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 223-237, 2004.

<sup>32</sup> PASTOR NAVARRO Clara, *et al.* "Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación." Tesis doctoral. Departamento de tecnología de alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, 2010.

<sup>33</sup> KESTER J.J. y FENNEMA, O.R. Edible Films and Coatings. A Review. *Food Technology*. 40: 47-59, 1986.

popular debido a sus propiedades para modificar la atmósfera interna de una manera similar a las atmósferas controladas<sup>34</sup>.

**1.2.2.3 Otros componentes (aditivos).** La influencia de otros componentes llamados aditivos, dependerá de su concentración, estructura química, grado de dispersión en el recubrimiento y grado de interacción con el polímero. Si se obtiene una adecuada homogeneización del sistema es posible garantizar la uniformidad en el tamaño y distribución de las partículas de la fase dispersa, lo que repercutirá en la funcionalidad de barrera contra la transferencia de masa de la cubierta formada<sup>35</sup>. Los aditivos sirven para impartir propiedades mecánicas, nutricionales y organolépticas a los recubrimientos, se utilizan diversos aditivos, como agentes antimicrobianos, ácidos orgánicos, antioxidantes, colorantes, saborizantes y otros componentes nutritivos y pueden ser<sup>36</sup>.

- Plastificantes como alcoholes polihídricos, ceras, aceite, ácidos.
- Surfactantes y emulsificantes como grasas, aceites y polietilenglicol.
- Conservadores químicos como ácido benzoico, ácido ascórbico, sorbato de potasio y ácido propiónico.

### 1.2.3 Características de aditivos formadores de RC

**1.2.3.1 Plastificantes.** Son moléculas pequeñas de bajo peso molecular, de baja volatilidad y con una naturaleza química similar a la del polímero formador de recubrimiento que se usan para mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de los recubrimientos, los cuales requieren de una concentración de plastificante entre el 10 y 60% (base seca)<sup>37</sup>. Según Guilbert y Biquet *et al.*, (1986), los plastificantes comúnmente utilizados en alimentos son:

---

<sup>34</sup> BOSQUEZ M, *et al.* op cit..

<sup>35</sup> BÓSQEZ E. Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas. Rev. Mundo alimentario edición julio - agosto 2008. p. 28-31. 2008.

<sup>36</sup> GUILBERT, S. y BIQUET, B, *et al.* Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres. 1986.

<sup>37</sup> MORALES, M, *et al.* Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola. Universidad autónoma agraria. Mexico.2011.

- Mono-, di- y oligosacáridos (glucosa, jarabes, miel).
- Polioles (sorbitol, glicerol, polietilenglicoles y sus derivados).
- Lípidos y derivados (ácidos grasos, monoacilgliceroles, derivados éster y surfactantes).

Dentro de los plastificantes más utilizados se encuentran el glicerol, polietilenglicol, sorbitol, aceites, ácidos grasos, ceras, etc., siendo el glicerol uno de los más utilizados.

**1.2.3.2 Glicerol.** Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros, reduciendo los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros y aumentando el espacio intermolecular. Los plastificantes afectan la capacidad de atracción de agua del sistema y suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno de los recubrimientos comestibles<sup>38</sup>.

**1.2.3.3 Antimicrobianos (conservadores).** Los microorganismos y procesos bioquímicos son las principales causas de alteración de los alimentos, en las frutas y hortalizas el problema principal es el ataque de mohos y levaduras, así como el pardeamiento enzimático<sup>39</sup>. Los antimicrobianos se utilizan para controlar el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias y son compuestos usados para retardar o prevenir el deterioro fisicoquímico o microbiológico de los alimentos, los cuales pueden deteriorarse a través de cambios adversos causados por la presencia de enzimas, oxígeno, luz, de humedad o más importante la acción de microorganismos<sup>40</sup>.

**1.2.3.4 Aceites esenciales (AEs).** Son mezclas de sustancias químicas biosintetizadas por las plantas que dan el aroma característico a algunas flores,

---

<sup>38</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, y BELLOSO Martín, O. The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh cut fruits and vegetables: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 4, 875-889. 2009.

<sup>39</sup> MORALES, M, *et al.* Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola. Universidad autónoma agraria. Mexico.2011.

<sup>40</sup> *Ibíd.*

árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal. Son intensamente aromáticos, no grasos, volátiles y livianos, insolubles en agua, levemente solubles en vinagre y solubles en alcohol, grasas, ceras y aceites vegetales los cuales se oxidan por exposición al aire<sup>41</sup>. Los principales componentes de los AEs con actividad antimicrobiana son compuestos fenólicos como terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonas<sup>42</sup>. En general, la eficiencia antimicrobiana de los AEs depende de la estructura química de sus componentes y de su concentración, así, los AEs con una alta concentración en eugenol (como es el caso del aceite de clavo, perejil y canela), en cinamaldehído (AE de canela) y en citral (AE de limón y lima) son potentes antimicrobianos<sup>43</sup>.

**1.2.3.5 Tomillo.** Se conoce con el nombre “tomillo” a las diversas plantas aromáticas del género *Thyme*, familia lamiaceae o lamiales, y que se emplea generalmente con fines medicinales y alimenticios (como condimento). El tomillo (*Thymus vulgaris*) es originaria del Mediterráneo, donde algunas especies forman un tipo especial de vegetación arbustiva no mayor a 50 cm de altura. Morfológicamente es una planta perenne de tallos leñosos y grisáceos, hojas ovadas, flores blancas o rosadas, y cuya mayor cualidad sensorial es su potente olor característico, como resultado de la composición de su aceite esencial<sup>44</sup>. La composición química del aceite esencial de tomillo varía según la geografía, país de origen, clima, etc., aunque sus componentes principales se mantienen a lo largo de la especie. Para la variedad *Thymus vulgaris* (la más común) el timol es el componente principal (aproximadamente en un 40–50%), seguido por el carvacrol (≈5%), p-cimeno (≈30%) y γ-terpineno (≈2%) (Horváth, 2006). De hecho, el efecto antioxidante está determinado principalmente por los isómeros timol y carvacrol; especialmente el timol dada su mayor resistencia estérica en el grupo fenólico en comparación con el carvacrol lo que a su vez impide reacciones colaterales indeseables (los compuestos fenólicos tienen la capacidad de donar los átomos de

---

<sup>41</sup> MIHALIAK C.A. Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants. Implications for theories of plant chemical defense. *Oecologia*, 87, 373-376, 1991.

<sup>42</sup> CHORIANOPOULOS N.G, GIAOURIS E.D., SKANDAMIS, P.N., HAROUTOUNIAN, S.A, NYCHAS, G.J.E, *et al.* Disinfectant test against monoculture and mixed-culture biofilms composed of technological, spoilage and pathogenic bacteria: bactericidal effect of essential oil and hydrosol of *Satureja thymbra* and comparison with standard acid base sanitizers. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1586-1869, 2008.

<sup>43</sup> PASTOR NAVARRO Clara, *et al.* “Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación.” Tesis doctoral. Departamento de tecnología de alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, 2010.

<sup>44</sup> Stahl-Biskup, E. and Saez, F. *Thyme: the genius Thymus [online]*. CRC Press, 2002. P. 330. Disponible en: <http://books.google.com/books/about/Thyme.html?id=9jnpVP6fvUIC>.

hidrógeno del grupo funcional hidroxilo al reaccionar con radicales peroxilo, lo cual produce radicales estables fenoxilo y por ende termina la reacción en cadena típica de los procesos de oxidación lipídica. Luego, entre menor sea la probabilidad de reacciones simultáneas para dicho grupo funcional mejor será su efecto como receptor de radicales libres). El efecto antioxidante de estos compuestos fenólicos (timol y carvacrol) es dependiente de la concentración de los mismos<sup>45</sup>.

### **1.3 FORMAS DE APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS COMESTIBLES SOBRE LOS ALIMENTOS**

La aplicación de los recubrimientos y películas comestibles supone una alternativa a futuro para la conservación de los alimentos cuyos métodos de aplicación depende mayoritariamente del tipo de producto que se desee recubrir.

**1.3.1 Inmersión (superficies irregulares).** Es el método más adecuado para productos con superficies irregulares que requieren un recubrimiento uniforme<sup>46</sup>. El producto debe ser lavado y secado previamente, luego se sumerge en la solución de recubrimiento, garantizando un mojado completo. Tras la inmersión, se deja drenar el material sobrante y se procede al secado. Actualmente, se emplean películas de cera, en frutas y verduras, así como también en carnes, pescados y aves de corral.

**1.3.2 Spray (superficies lisas y uniformes).** Con este procedimiento se consiguen recubrimientos más delgados y uniformes que los obtenidos por inmersión, así mismo es la técnica más adecuada cuando se busca recubrir una sola cara del alimento. La solución se aplica presurizada, y es mediante la regulación de la presión como se consiguen diferentes tamaños de gota, otras variaciones a este método pueden ser la aplicación del recubrimiento por medio de cepillos o rodillos<sup>47</sup>.

---

<sup>45</sup> YANISHLIEVA Emma, et al, Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. Food Chemistry, Volume 81, Issue 2, 2003, Pp. 189-197, 1999.

<sup>46</sup> BALDWIN E, *et al.* Op. cit.

<sup>47</sup> GUILBERT, S. y BIQUET, B, *et al.* Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres. 1986.

**1.3.3 Casting (films independientes).** Esta técnica consiste en verter solución formadora de film sobre una superficie plana y se procede a su posterior secado, después el film es retirado de la superficie, de forma independiente. Debido a lo anterior, esta técnica sólo se utiliza cuando el alimento a recubrir posee una matriz estructural suficiente<sup>48</sup>.

#### **1.4 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES Y SU EFECTO SOBRE LA EXTENSIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE LA AHUYAMA (*Cucúrbita moshata*)**

A continuación se resume un estudio aplicado en ahuyama (*cucúrbita moshata*) en donde oleorresinas de romero (*Rosmarinus offi cinalis*), orégano (*Origanum vulgare*), olivo (*Olea europea*), ají (*Capsicum frutescens*), ajo (*Allium sativum*), cebolla de bulbo (*Allium cepa L.*) y arándano rojo común (*Vaccinium oxycoccus*) fueron soportadas en recubrimientos comestibles a base de caseinato de sodio, carboximetilcelulosa y quitosano<sup>49</sup>, aplicados en trozos de calabaza o auyama (*Cucúrbita moschata Duch*) con el objetivo de inhibir y/o retardar el efecto adverso de la microflora reinante en este tipo de fruto y evaluar su posible efecto sobre *Listeria monocytogenes*. El efecto combinado de las soluciones formadoras de películas adicionadas con oleorresinas a una concentración de 1.0% w/v sobre la microflora nativa y *L. monocytogenes*, fue evaluado mediante la metodología de difusión en agar, agregando 70 µL de las soluciones en pozos (5 – 6 mm) realizados en el medio de cultivo preinoculado. La sensibilidad de los microorganismos a las diferentes soluciones se clasificó teniendo en cuenta los halos de inhibición así: no sensitiva (diámetros menores a 8 mm), sensitiva (diámetros entre 9 – 14 mm), muy sensitiva (diámetros 14 – 19 mm) y, extremadamente sensitiva (halos mayores a 20 mm). El método de difusión en agar mostró que la microflora nativa fue sensible al quitosano enriquecido con oleorresina de olivo, romero y ají, así como para soluciones de CMC+romero. *L. Monocytogenes* fue sensitiva a CMC+romero y muy sensitiva a las soluciones formadoras de películas de quitosano adicionadas con romero<sup>50</sup>. Las películas de quitosano enriquecidas con oleorresinas de olivo y romero mostraron un efecto

---

<sup>48</sup> GARDE Gaizka. Cuantificación de la retención de Carvacrol y Eugenol durante la formación de películas comestibles activas. Universidad Pública de Navarra. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, 2013.

<sup>49</sup> QUINTERO CERÓN J.; FALGUERA PASCUAL V. y MUÑOZ HERNÁNDEZ J, *et al.* Op. cit.

<sup>50</sup> PONCE, A. G., ROURA S. I., DEL VALLE C. E., MOREIRA M. R, *et al.* 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. 2008.

antioxidante claro al retardar la acción de las enzimas peroxidasa (POD) y polifenoloxidasa (PPO) durante los cinco días de almacenamiento. De igual manera recubrimientos comestibles de quitosano enriquecidos con dichas oleorresinas no presentaron efectos deletéreos sobre la aceptabilidad sensorial del zumo extraído de la calabaza<sup>51</sup>.

---

<sup>51</sup> *Ibíd.*



## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en las instalaciones de la Planta Piloto de Alimentos, los laboratorios de Biotecnología y Microbiología y de Reología y Empaques de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, ubicadas en la Vereda Las Guacas del Municipio de Popayán a 1737 msnm, temperatura promedio de 18 °C y humedad relativa del 77,75%<sup>52</sup> así como también en la Unidad de Microscopía Electrónica ubicada en el Museo de Historia Natural de la Universidad del Cauca.

### 2.2 MATERIALES

**2.2.1 Material vegetal.** Se utilizaron ahuyamas provenientes del Municipio de Guachené en el Departamento del Cauca, cosechadas de forma manual a los 60 días después de la floración, considerando tamaño, forma y condiciones físicas. Se trasladaron hasta las plantas piloto de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca en donde se seleccionaron 6 ahuyamas sanas, sin afectación por insectos, limpias, libres de cualquier sustancia visible ajena a los mismos, libres de humedad externa anormal, sabor y olor característico.

#### 2.2.2 Materiales empleados para el recubrimiento

**2.2.2.1 Aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*).** Componente líquido, con propiedades antimicrobianas, antibacteriales y antioxidantes<sup>53</sup>.

---

<sup>52</sup> ALCALDIA DE POPAYÁN. Nuestra geografía. [En línea] 2016. [Citado en agosto 31 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://popayan.gov.co/ciudadanos/popayán/nuestra-geografia>.

<sup>53</sup> ARCE Cristian Camilo. Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias departamento de química Bogotá, 2011.

**2.2.2.2 Tween 80.** Sustancia líquida proveniente de QUIMPO (Popayán, Colombia) en presentación de 30 mL, se caracteriza por ser oleoso límpido, o ligeramente opalescente, incoloro o amarillo pardusco, usado como emulsificante y solubilizante en el recubrimiento<sup>54</sup>.

**2.2.2.3 Glicerina.** Es un líquido claro con un sabor ligeramente dulce, estable y soluble en agua, que actúa como plastificante para mejorar la flexibilidad y la funcionalidad de los recubrimientos<sup>55</sup>.

**2.2.2.4 Almidón Hidrolizado de yuca.** Se realizó una hidrolisis parcial del almidón de yuca variedad SM 707- 17 siguiendo el protocolo de hidrolisis propuesto por Bonilla (2010) el cual consistió en modificar el almidón, para ello se empleó la enzima alpha amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens*, Ban 240L (Siga Aldrich) hasta un porcentaje equivalente de dextrosa de 12 % en base seca y un tamaño de partícula de 300 micras

**2.2.3 Materiales empleados para las pruebas de microscopía.** A continuación, se listan los materiales utilizados para la realización de esta prueba utilizando la descripción que sugiere<sup>56</sup>, la cual se llevó a cabo en la Unidad de Microscopía Electrónica.

**2.2.3.1 Glutaraldehído.** Marca SIHER, 25 % de pureza, proveedor POLYSCIENS (Cali, Colombia) presentación de 100 mL, es un líquido oleaginoso y amarillento que se utilizó como fijador primario para las muestras a observar con el microscopio, el cual actuó endureciendo el contenido intracelular de la ahuyama para que esta soportara el estrés físico de los pasos posteriores.

---

<sup>54</sup> ACOFARMA [en línea] 2009 [citado en agosto 31 de 2016]. Disponible en internet: <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/408613a7fe07629597df9e0d232a7707d11bf48fb03b/main/files/Tween.pdf>.

<sup>55</sup> CIMPA, Insumos y tecnología para la industria alimentaria. [En línea]. 2016 [citado en agosto 31 de 2016] Disponible en internet: <http://www.cimpaltda.com/modulo/quimicos/glicerina%20usp.pdf>.

<sup>56</sup> NIETO P. Atlas de histología vegetal y animal. [En línea]. 2010 [citado en julio 25 de 2014]. Disponible en internet: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>.

**2.2.3.2 Buffer de fosfato salino (PBS).** Es una solución acuosa y salina que se usó para realizar lavados con el propósito de mantener la tonicidad y osmolaridad de las células en la ahuyama y evitar que éstas estallaran o colapsaran. Se elaboró a partir de dos reactivos los cuales fueron: Sodio fosfato dibásico anhidro granular, Marca SIGMA, proveedor SC. CIENTIFIC (Cali, Colombia) con 99 % de pureza, presentación en botella de 1 kg y fosfato de sodio monobásico anhídrido con cristales incoloros botella de 500g, marca FISHER, proveedor SC. CIENTIFIC (Cali, Colombia).

**2.2.3.3 Tetraóxido de Osmio.** Proveedor SERVIMPORTEX Ltda (Bogotá, Colombia) en presentación de 0,5 g, es un compuesto de osmio cuya fórmula química es ( $\text{OsO}_4$ ) se encuentra en estado sólido formando cristales de color amarillento, para fijar los tejidos debido a que es un buen preservador de la ultraestructura celular.

**2.2.3.4 Etanol.** Marca SIGMA, proveedor SC. CIENTIFIC (Cali, Colombia) pureza 99,5 %. Es un líquido incoloro que se usó en concentraciones ascendentes (30%-100%), con el fin de deshidratar la muestra de ahuyama y eliminar el agua de la muestra sustituyéndola por etanol para pasos posteriores.

**2.2.3.5 Resina R- WHITE** en presentación de 500 mL, proveedor SERVIMPORTEX Ltda (Bogotá, Colombia), es sustancia orgánica de consistencia pegajosa y translúcida, que se usó para polimerizar las muestras de ahuyama.

**2.2.3.6 Azul de toluidina.** Proveedor SERVIMPORTEX Ltda (Bogotá, Colombia) en presentación de 25 g, es un colorante catiónico de color azul, utilizado para para teñir secciones semidelgadas de tejidos (0,1 a 0,5  $\mu\text{m}$ ) que fueron fijados en resina.

**2.2.3.7 Acetato de uranilo.** Proveedor POLYSCIENS, en presentación de 25 g, pureza 98 % (Cali Colombia), es un sólido amarillento empleado para efectuar tinciones negativas en microscopía electrónica, especialmente para el contraste de las muestras.

**2.2.3.8 Citrato de plomo.** Sustancia usada para realizar un contraste adecuado del tejido bajo el haz de electrones.

**2.2.4 Equipos.** A continuación, se lista el equipo utilizado para realizar el recubrimiento, así como también los equipos usados en la medición de variables:

**2.2.4.1 HL2.** Se empleó el equipo HL2 marca DWORKS (Popayán, Colombia) este equipo fue fabricado de acuerdo a las características necesarias para la elaboración del recubrimiento, donde se controlaron variables como la temperatura, tiempo de agitación y revoluciones por minuto (rpm) las cuales fueron 75 °C por 15 minutos a 300 rpm respectivamente, con capacidad de 11 L, sistema de mezclado a doble aspa, baño maría y control automático de velocidad y temperatura (Ver figura 2).



**Figura 2. Sistema HL2**

**2.2.4.2 Balanza gramera digital.** Se empleó la balanza gramera digital marca OHAUS, (Cali, Colombia) con alcance mínimo de 0,1 g y máximo de 5000 g, para determinar la pérdida de peso durante los días de seguimiento (Ver figura 3).



**Figura 3. Balanza gramera digital**

**2.2.4.3 pH-metro.** Se utilizó el pH-metro marca HANNA (Cali, Colombia) (Ver Figura 4), que consta de un sensor utilizado para medir el pH de una disolución, sumergiendo el voltímetro en la sustancia generando una corriente eléctrica, la cual arrojó la concentración de iones de hidrógeno presentes en la solución.



**Figura 4. pH-metro**

**2.2.4.4 Oxy Baby.** Se utilizó la referencia OXYBABY 6.0 Witt, (Bogotá, Colombia) que aspira por una pequeña bomba incorporada una cantidad de muestra de gas, la cual es comparada con valores grabados previamente como patrones de

referencia para hacer la medición del CO<sub>2</sub> a partir del principio de absorción de infrarrojo y oxígeno por celda electroquímica (Ver Figura 5)<sup>57</sup>.



**Figura 5. Oxy baby Witt**

**2.2.4.5 Máquina universal de ensayos.** Se utilizó la máquina universal de ensayos marca SHIMADZU referencia EZ-L (Bogotá, Colombia) ( Ver figura 6) para evaluar la firmeza de la muestra mediante la penetración del fruto desplazando el cabezal móvil a una velocidad seleccionable dispuesta con una celda de carga conectada a la mordaza fija que entrega una señal que representa la fuerza aplicada<sup>58</sup>.

---

<sup>57</sup> FERNÁNDEZ Natalia *et al.* Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimientos comestibles sobre el tomate (*solanum lycopersicum*). Universidad del Cauca, Popayán. 2014.

<sup>58</sup> PERDOMO, Paola; INSUASTI, Alexandra. Efecto de recubrimiento a base de propóleos y proteína de soya sobre la calidad de la fresa (*Fragaria ananassa Duch*). Popayán (Colombia): trabajo de grado ingeniería agroindustrial, facultad de ciencias agrarias, Universidad del Cauca. 2015.



**Figura 6. Máquina universal de ensayos**

**2.2.4.6 Colorímetro.** Se empleó el colorímetro marca 3nh que permitió la cuantificación del color de una muestra bajo la escala CIELab y CIELCh (Bogotá, Colombia) (Ver figura 7). Se usó para realizar las pruebas de índice de color el cual arrojó cuatro variables de respuesta: luminosidad, parámetro A+, parámetro B+ y ángulo de matiz ( $^{\circ}$ H).



**Figura 7. Colorímetro**

**2.2.4.7 Extractor de jugos.** Se empleó el Extractor de Jugos marca BLACK & DECKER JE2200, (Cali, Colombia) el cual presiona y filtra las muestras vegetales, para obtener de ellos su jugo, separando la pulpa (Ver figura 8).



**Figura 8. Extractor de jugos**

**2.2.4.8 Refractómetro.** Se empleó el refractómetro digital marca ATAGO (Cali, Colombia) el cual mide con una escala de 0,0 a 53,0 la concentración de los sólidos solubles presentes en los frutos por la refracción en la introducción de luz al líquido (Ver Figura 9).



**Figura 9. Refractómetro**

**2.2.4.9 Ultra micrótopo Leica UCT.** Modelo UCT, instrumento empleado para para cortar secciones ultra finas de ahuyama, las cuales midieron de 70 a 700 nanómetros de espesor ( Ver figura 10).





**Figura 10. Ultramicrotomo Leica**

**2.2.4.10 Microscopio óptico.** Marca Nikon Modelo microphot el cual utiliza la luz visible para crear una imagen aumentada de la estructura de la epidermis de la ahuyama. las imágenes obtenidas se analizaron y reprodujeron en el sistema digital en el cual se pueden obtener fotografías en blanco y negro o a color (Ver figura 11)<sup>59</sup>.



**Figura 11. Microscopio óptico**

---

<sup>59</sup> UNIVERSIDAD DEL CAUCA, *et al.* Unidad de Microscopía Electrónica. Servicio tarifas-equipos. Recuperado de <http://www.microscopia.unicauca.edu.co/servicios.htm>.

**2.2.4.11 Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).** Marca Jeol Modelo JEM 1200EX (figura 12) el cual utilizó la longitud de onda de los electrones para realizar observaciones de los efectos del recubrimiento sobre la estructura celular de la epidermis en la ahuyama<sup>60</sup>.



**Figura 12. Microscopio electrónico de transmisión**

## **2.3 MÉTODOS**

**2.3.1 Selección y clasificación de material vegetal.** Se cosecharon y seleccionaron manualmente ahuyamas en el día 60 después de la floración provenientes del Municipio de Guachené, Cauca, con atributos de calidad específicos en sanidad e inocuidad: las ahuyamas estaban enteras, sin daños, con apariencia lisa, sin grietas o quemaduras de sol, sin daños por insectos o cualquier daño de tipo mecánico considerando peso aproximadamente de 4 kg cada una, forma ovoide y condiciones físicas óptimas, como color verde brillante, con vetas de color tomate y el pedúnculo café oscuro<sup>61</sup>.

---

<sup>60</sup> *Ibíd.*

<sup>61</sup> ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Manual para el mejoramiento del manejo poscosecha de frutas y hortalizas. [En línea] 2014. [Citado en agosto 29 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://www.fao.org/docrep/x5055s/x5055S08.htm>.

**2.3.2 Limpieza y desinfección.** Las ahuyamas seleccionadas se limpiaron con toallas esterilizadas para eliminar cualquier tipo de suciedad y contaminante físico (tierra y hojas) de la epidermis que pudieron ser removidos fácilmente, posteriormente, se desinfectaron empleando toallas y solución de Tego 51 a concentración de 1 mL/L de agua para eliminar microorganismos y residuos de agroquímicos adheridos a la epidermis del fruto<sup>62</sup>.

**2.3.3 Preparación del recubrimiento.** El recubrimiento se preparó siguiendo el procedimiento estandarizado por Pineda y Solís *et al* (2011) se mezclaron 4% de almidón de yuca, 2% (v/v) de glicerina y 0,02% de Tween 80 con aceite esencial de tomillo según los tratamientos ( Ver tabla 2); se llevó a baño María en el equipo HL2 a 75 °C/15 min a 300 rpm y se aplicó en seguida a los trozos de ahuyama.

**Tabla 2. Concentración de almidón y de aceite esencial de tomillo usado en los tratamientos**

Tratamiento	Concentración de almidón (%)	Concentración de aceite (%)
T1	4	0,0
T2	4	0,5
T3	4	0,7
T4	4	1,0

**2.3.4 Aplicación del recubrimiento.** La aplicación del recubrimiento se realizó siguiendo la metodología propuesta por Pineda y Solís *et al* (2011) por medio del método de inmersión que consistió en sumergir los trozos de ahuyama en el recipiente que lo contenía por 30 segundos utilizando pinzas de acero inoxidable, posteriormente, se colocaron los trozos de ahuyama en bandejas (Ver figura 13) previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio al 6%.

<sup>62</sup> BARCO, L, *et al*. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca (*Monihot esculenta crantz*) modificado sobre la maduración del tomate de mesa (*Solanum lycopersicum*) bajo condiciones ambientales. En: Revista Lasallista de Investigación, 2011, vol. 8, no. 2. p. 96-103.



Figura 13. Ahuyamas recubiertas por inmersión

## 2.4 EVALUACIÓN DE VARIABLES

La medición de variables y las pruebas microbiológicas se realizaron en los laboratorios de Reología, Microbiología, Planta Piloto de Productos Vegetales y Biotecnología en la Facultad de Ciencias Agrarias cada dos días por ocho días, mientras que las pruebas de microscopía se realizaron en la Unidad de Microscopía Electrónica en el día ocho, bajo condiciones ambientales promedio (18 °C), siguiendo la metodología propuesta por Pineda y Solís<sup>63</sup>.

**2.4.1 Pérdida de peso.** La pérdida de peso (%PP) se determinó tomando el peso de las muestras cada dos días hasta el último día de experimentación. Para el cálculo de la pérdida de peso promedio se utilizó la siguiente ecuación<sup>64</sup>:

$$PP (\%) = \frac{PI - PF}{PI} * 100 \quad (\text{Ec.1})$$

Dónde:

PP= Pérdida de peso promedio.

Pi= Peso inicial.

Pf = Peso final.

<sup>63</sup> PINEDA, L. y SOLÍS, D. Efecto de la aplicación de un recubrimiento de almidón hidrolizado de yuca (*manihot sculenta crantz*) sobre la maduración del aguacate (*Persea americana* Miller) variedad Hass. Trabajo de grado (Ingeniería Agroindustrial). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Agroindustria. Popayán, 2011, p. 30-43.

<sup>64</sup> ALARCÓN, Alejandro, *et al.* Calidad Poscosecha de la ahuyama (*Cucúrbita máxima*) activada en sistemas ecológicos de fertilización. Op. cit.

**2.4.2 Tasa de respiración.** Los trozos de ahuyama se colocaron en bolsas herméticas selladas, cada bolsa con tres trozos de ahuyama por tratamiento (Ver figura 14) los cuales tenían un peso de 95 g aproximadamente cada uno. Con la ayuda del Oxy baby se realizó la medición del porcentaje de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> durante los días de seguimiento.



**Figura 14. Trozos de ahuyamas en bolsas herméticas**

**2.4.3 Firmeza.** Una vez calibrado el equipo, se colocó el trozo de ahuyama en la mordaza inferior se procedió a hacer la medición en la zona central partiendo desde la cáscara hacia la pulpa<sup>65</sup> y se determinó la resistencia a la penetración con una celda de 500 N con máximo desplazamiento de 12 mm y velocidad del cabezal de 5 mm/min.

**2.4.4 Sólidos solubles totales.** A los trozos de ahuyama se les retiró la cáscara y se pasó la pulpa por el extractor de jugos para obtener el jugo necesario para realizar la medición. La muestra se dispuso en el lente del refractómetro digital ATAGO directamente, se realizó la respectiva lectura y posteriormente la corrección de estos de acuerdo con la temperatura ambiente.

---

<sup>65</sup> ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). En: Revista de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, edición especial, 2013, no. 2, p. 90 - 98. 2013.

**2.4.5 pH.** Para la determinación del pH se usó jugo extraído que se puso directamente en contacto con el pH-metro para su medición.

**2.4.6 Pruebas de colorimetría.** Se usaron trozos de ahuyama en contacto directo con el colorímetro para realizar la medición en escala CIELab y CIELCh, a cada trozo se le realizaron 3 mediciones en diferentes partes.

**2.4.7 Crecimiento microbiano.** Se acondicionó la muestra picándola en finos trozos que fueron llevados a un erlenmeyer donde se realizaron tres disoluciones a diferentes concentraciones ( $1 \times 10^{-1}$ ,  $1 \times 10^{-2}$  y  $1 \times 10^{-3}$ ), posteriormente se aplicó de cada disolución 100 microlitros en cajas de Petri que contenían el medio de cultivo PDA.

Finalmente se dejaron en incubación las cajas de Petri por un periodo de 2 días luego se procedió a observar (Ver figura 15) y cuantificar las colonias (UFC).



**Figura 15. Aislamiento microbiano**

**2.4.8 Pruebas de microscopía.** Se efectuó en el día ocho empleando el Microscopio Óptico de Alta Resolución (MOAR) y el Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).

**2.4.8.1 Microscopía Óptica de Alta Resolución (MOAR).** Se cortaron las muestras de ahuyama en trozos de 3 x 5 mm, se separó la pulpa y la cáscara en diferentes viales rotulados, se adicionó a cada vial la solución glutaraldehído al 6% y se almacenó por 24 horas a 4 °C, posteriormente se hizo un lavado con buffer de fosfato salino (PBS) durante 5 minutos y se posfijó con tetraóxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 1% durante 1 hora. La deshidratación se realizó con etanol en concentraciones ascendentes (30%, 50%, 80%, 90%, 95% y 100%), cada lavado se hizo por 30 minutos, luego se realizaron mezclas de etanol y resina LR White en proporciones 3:1, 1:1, 1:3, finalmente se realizó el montaje con resina pura en cápsulas de gelatina para polimerizarlas a 65 °C por dos días, en seguida se realizaron cortes semifinos de 700 nm de espesor con el Ultra micrótomo Leica UCT, se fijaron por calor en las placas portaobjetos de vidrio, se tiñeron con azul de toluidina con un leve lavado y se procedió a observar en el Microscopio Óptico de Alta Resolución (MOAR)<sup>66</sup>.

**2.4.8.2 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).** Con ayuda del ultramicrotomo se obtuvieron cortes ultrafinos de 70 nm de grosor de muestras postfijadas con tetraóxido de osmio (OsO<sub>4</sub>), se recogieron en rejillas recubiertas con membrana formvar, se contrastaron por flotación en cámara húmeda y en oscuridad con acetato de uranilo 4% durante 20 minutos y se lavaron con agua destilada por goteo. Luego, se colocaron en una gota de citrato de plomo durante 10 minutos en cámara húmeda. Las micrografías electrónicas se tomaron en negativos Kodak 4489, las cuales fueron reveladas y escaneadas con el escáner para negativos Epson Perfection 4490 Photo para su posterior análisis<sup>67</sup>.

## 2.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Los tratamientos fueron: T1 correspondió a las muestras sin recubrimiento (blanco), T2, T3 y T4 a las muestras con recubrimiento con una concentración de aceite esencial de tomillo de 0,5 %, 0.7 % y 1.0 % respectivamente. Se utilizaron 240 unidades experimentales (U.E) y las mediciones se realizaron cada dos días a la misma hora (8 am), durante 8 días y los resultados se sometieron a análisis de varianza con un diseño factorial utilizando una probabilidad 95%, empleando el programa estadístico MINITAB 16. Se aplicó la prueba Least Significant Difference

---

<sup>66</sup> UNIVERSIDAD DEL CAUCA, *et al.* Op cit.

<sup>67</sup> *Ibíd.*

(LSD) con el fin de encontrar las diferencias significativas teniendo en cuenta la interacción entre medias de tratamientos.

Se aplicó un diseño factorial completamente al azar 4 X 4 en donde los cuatro primeros niveles correspondieron a los tratamientos y los otros cuatro niveles a los días de seguimiento. Se realizaron 3 repeticiones y 3 réplicas por cada día de observación donde el día 2 correspondió al primer de seguimiento, el día 4 correspondió al tercer día, el día 6 correspondió al quinto día y el día 8 correspondió al día 8. Este diseño se aplicó con el fin de verificar la interacción de dos factores al tiempo sobre las variables de respuesta las cuales fueron: pérdida de peso, tasa de respiración, firmeza, sólidos solubles totales, pH, índice de color, análisis microbiológico y pruebas microscópicas.

**Tabla 3. Diseño experimental completamente al azar 4x4**

<b>Factores</b>	<b>Nivel 1</b>	<b>Nivel 2</b>	<b>Variables de respuesta</b>
Tratamiento	T1	Día 2	Pérdida de peso
	T2	Día 4	Tasa de respiración
Tiempo	T3	Día 6	Sólidos solubles totales
	T4	Día 8	pH
			Firmeza
			Índice de color
			Análisis microbiológico
			Pruebas microscópicas



### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La evaluación del efecto de los recubrimientos se realizó a condiciones ambientales promedio (18 °C), durante un periodo de 8 días obteniéndose datos promedios de las tres réplicas realizadas a cada tratamiento (Ver anexo A) y aplicando el análisis estadístico respectivo (Ver anexo B a E).

**3.1.1 Pérdida de peso.** El principal mecanismo de la pérdida de humedad de hortalizas frescas es por el gradiente de la difusión del vapor de agua entre la hortaliza y el medio ambiente, donde el espesor y la permeabilidad del recubrimiento, así como la temperatura y la humedad relativa son factores importantes que afectan a las estomas que son los organelos encargados de regular el proceso de transpiración y el intercambio de gases entre la hortaliza y el medio ambiente<sup>68</sup>.

Por otra parte, el déficit de agua durante el almacenamiento afecta fundamentalmente a la turgencia de los tejidos vegetales, por lo que la pérdida de esta turgencia va a afectar diversas funciones metabólicas, pero sobre todo a cambios en la textura, lo que conlleva a una pérdida del estado fresco del producto vegetal por lo que el mantenimiento de la proporción de agua en los productos vegetales es esencial para mantener la calidad<sup>69</sup>.

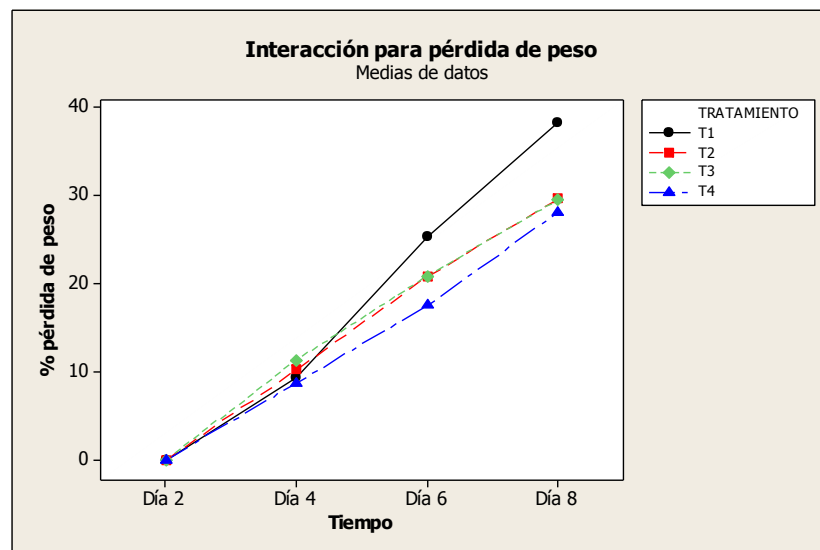
En la gráfica 1 se muestra que la pérdida de peso en el tratamiento 1 estuvo entre 0 % y 39 % mientras que en los tratamientos 2, 3 y 4 el valor estuvo alrededor del 0 % y 25 % esto debido a que la respiración y la transpiración son mecanismos fisiológicos ligados y por lo tanto, al haber presentado una tasa de respiración más

---

<sup>68</sup> MAFTOONAZAD, N; RAMASWAMY, H. Postharvest shelf – live extension of avocados using methylcellulose – based coating. *LWT – food Science and Technology* 38 (6): 617 – 624, 2005.

<sup>69</sup> GÓMEZ – GALINDO, F; HERPPICH., W; GEKAS., V and SJOHOLM I, *et al.* Factor affecting quality and postharvest properties of vegetables: integration of water relations and metabolism. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 139-154, 2004.

alta, los trozos recubiertos perdieron mayor cantidad de agua<sup>70</sup>. Sin embargo y pese a lo anterior se observó un efecto positivo de los recubrimientos en cuanto a la reducción de la pérdida de humedad cuyo efecto está basado en sus propiedades higroscópicas que permiten la formación de una barrera al agua entre la hortaliza y el ambiente que lo rodea, evitando así la transferencia externa<sup>71</sup>. Los tratamientos con recubrimiento presentaron menor pérdida de peso debido al recubrimiento que crea una barrera a la transferencia al vapor de agua retrasando el deterioro por deshidratación<sup>72</sup>, mientras que el tratamiento 1 presentó un comportamiento menos favorable debido a la ausencia de recubrimiento como consecuencia, la ahuyama sufre una serie de alteraciones fisiológicas que aceleran los procesos de senescencia, síntesis de etileno y deterioro de tejidos, ocasionando la marchitez y arrugamiento del producto, que afectan seriamente su calidad comercial<sup>73</sup>.



**Gráfica 1. Comportamiento de la pérdida de peso durante el tiempo de seguimiento**

<sup>70</sup> PONTIGO A.; TREJO M. y LIRA A *et al.* Desarrollo de un recubrimiento con efecto antifúngico y antibacterial a base de aceite esencial de orégano para conservación de papaya “maradol”. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 2015.

<sup>71</sup> MORILLON V, DEBEAUFORT F, BLOND G, CAPELLE M, and VOILLEY A, *et al.* Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: A review Critical Review in Food Science and Nutrition 42: 67 – 89, 2002.

<sup>72</sup> MORENO H, PATIÑO N *et al.* Elaboración de un recubrimiento comestible antimicrobial y antioxidante a partir de aceite de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado a la ensalada primavera mínimamente procesada de la empresa defrescura. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería de Alimentos Bogotá.2010.

<sup>73</sup> *Ibíd.*

El ANOVA (Ver anexo B) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que quiere decir que el aceite esencial de tomillo y el recubrimiento no incidieron sobre la pérdida de peso. Se realizó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos que no arrojó diferencia entre ellos, también la prueba LSD para la interacción tiempo - tratamiento no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos para el día 4, en tanto que para el día 6 hay diferencias entre el T1 y T4 y para el día 8 hay diferencias significativas entre T1 y T2, entre T1 y T3 y entre T1 y T4 lo que indica que los tratamientos con recubrimiento presentan un comportamiento diferente con respecto al tratamiento 1 que carece de recubrimiento, debido al efecto hidrofílico del tween 80 y del aceite esencial de tomillo que se ve favorecido por el espesor de la capa.

Resultados similares se obtuvieron en pimiento donde los frutos tratados con recubrimiento de almidón modificado y aceite esencial de tomillo tuvieron menor pérdida de peso que el control<sup>74</sup>. Estudios reportan que un recubrimiento con 4% de almidón de yuca en tomate retardó la pérdida de peso (4,64%) frente al testigo (8,44%) después de 22 días<sup>75</sup>, mientras que en guayaba el recubrimiento con 4% almidón más cera de carnauba y aloe vera fue el más efectivo, en razón a que perdió 22,21% de peso respecto a la muestra testigo con 40,13% luego de 18 días control<sup>76</sup>. Estas similitudes se atribuyen al efecto positivo del recubrimiento con almidón y otros aditivos, a pesar del carácter hidrofílico del almidón, este actuó contra la transferencia del agua, retardando la deshidratación y prolongando por lo tanto, la firmeza de los frutos recubiertos<sup>77</sup>.

---

<sup>74</sup> ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). En: Revista de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, edición especial, 2013, no. 2, p. 90 - 98. 2013.

<sup>75</sup> BARCO, L, *et al.* Op. cit.

<sup>76</sup> ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* Op. cit.

<sup>77</sup> DEL-VALLE V, HERNÁNDEZ-MUÑOZ P, GUARDA A, GALOTTO MJ (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. Food Chem. 91: 751-756.

**3.1.2 Tasa de respiración.** La respiración, como proceso fisiológico fundamental en la degradación y síntesis de metabolitos en la ahuyama, requiere como sustrato principal el oxígeno, que se ve disminuido por la barrera física que ejercen los recubrimientos comestibles modificando así la composición gaseosa interna, lo cual disminuye la tasa de respiración y la degradación de los compuestos de la pared celular manteniendo su condición inicial medida en la oposición que ejerce el tejido a ser penetrado<sup>78</sup>. Investigadores han encontrado que la tasa de respiración de diferentes frutos disminuye con la aplicación de recubrimientos comestibles<sup>79</sup>, cuya efectividad depende de la barrera al oxígeno que los mismos ejerzan<sup>80</sup>.

**3.1.2.1 Porcentaje de CO<sub>2</sub>.** La respiración es el proceso por el cual los materiales orgánicos almacenados (carbohidratos, proteínas, grasas) son desdoblados en productos terminales simples con liberación de energía. En este proceso, se utiliza oxígeno (O<sub>2</sub>) y se produce dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). En la gráfica 2 se puede ver que el tratamiento 1 presentó un mayor porcentaje de CO<sub>2</sub> el cual estuvo alrededor del 1 % y el 11% debido al deterioro de la hortaliza que se observó con la presencia de algunas unidades formadoras de colonias de hongos que causan daño físico e incrementan la pérdida de agua y la respiración<sup>81</sup> (FAO, 2014). Los tratamientos con recubrimiento (T2, T3 y T4) presentaron menor tasa de respiración la cual osciló entre 2,5 % y 3,5 % y el 5 % y-9% debido a que se creó una atmósfera modificada en el interior de la hortaliza que reduce la velocidad de respiración y por tanto retrasa el proceso de senescencia del producto<sup>82</sup>.

---

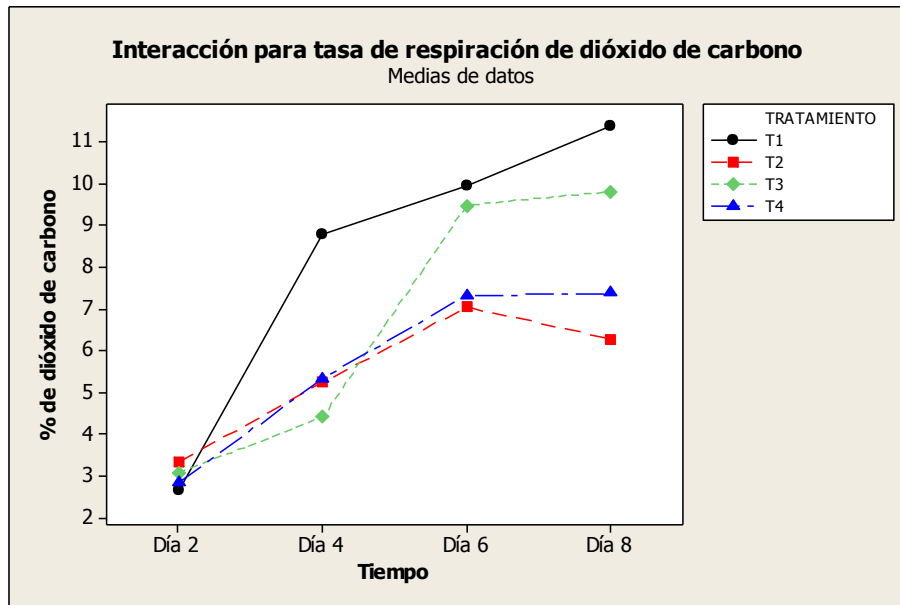
<sup>78</sup> PÉREZ, B, y BAEZ, R, *et al.* Utilización de ceras comestibles en la conservación de frutas. Alimentaria, julio-agosto, 2011.

<sup>79</sup> JIANG, YM, Li YB. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. En: Revista Food Chem, 2001, vol. 2, p. 39-143.

<sup>80</sup> CASTRO, Andrea X. Efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en la calidad poscosecha de tomate de árbol (*solanum betaceum cav.*). Biblioteca digital EPN. 2013. Disponible desde internet en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/6103/1/CD-4809.pdf>.

<sup>81</sup> ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Op. Cit.

<sup>82</sup> PÉREZ, M.B.; DEL RÍO, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles en frutas y Hortalizas en: Horticom. vol.11, no. 207, p. 54-57, 2008.



**Gráfica 2. Comportamiento del dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo C) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que quiere decir que no existió influencia de los tratamientos sobre la variable porcentaje de dióxido de carbono. Se realizó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos que indicó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, también se aplicó la prueba LSD para la interacción tiempo tratamiento, encontrando que el día 4 presenta diferencias significativas entre T1 y T2, entre T1 y T3 y entre T1 y T4, debido a que los tratamientos con recubrimiento presentaron un comportamiento diferente con respecto al blanco (T1) ya que éste presentó un mayor porcentaje de CO<sub>2</sub> debido a los procesos normales de senescencia durante el período de poscosecha. El comportamiento del blanco puede deberse a la acumulación de etanol, acetaldehído y desarrollo de malos sabores, mientras que el recubrimiento con aceite esencial de tomillo presentó mayor estabilidad en la respiración permitiendo alargar la vida útil del producto. Para el día 6 se presentaron diferencias entre T1 y T4, entre T2 y T3 y entre T3 y T4 porque inicia el proceso de senescencia. Para el día 8 hay diferencias entre T1 y T2, entre T1 y T4, entre T2 y T3 y entre T3 y T4, lo que quiere decir que el tratamiento 1 continuó con el proceso de senescencia que se traduce en pérdida de calidad del producto, en tanto que los tratamientos 2, 3, y 4 presentaron estrés debido al efecto del recubrimiento pues al tener un agente extraño que limitaba su consumo de oxígeno la hortaliza incremento su ritmo respiratorio para obtener la

cantidad de oxígeno que requería, además de que las películas mostraron tener una permeabilidad alta al CO<sub>2</sub> producido por la hortaliza<sup>83</sup>.

Resultados del presente trabajo concuerdan con los estudios realizados<sup>84</sup> por quienes trataron papayas troceadas con recubrimiento de almidón y aceite esencial de orégano en donde los frutos sufrieron un rápido incremento en los niveles de CO<sub>2</sub> durante la primera semana de almacenamiento, posteriormente este incremento se observó más gradual alcanzando en la quinta semana de almacenamiento niveles de CO<sub>2</sub> de 6 % y 9 % mayores con respecto al primer muestreo. Estos comportamientos en todos los casos se deben a que los recubrimientos proporcionan una atmosfera adecuada reduciendo la tasa de respiración<sup>85</sup>.

**3.1.2.2 Porcentaje de O<sub>2</sub>.** La respiración involucra reacciones complejas que en condiciones normales requiere de la presencia de O<sub>2</sub> para la degradación de compuestos, como por ejemplo en hortalizas un bajo porcentaje de O<sub>2</sub> (8%) acelera su proceso de senescencia<sup>86</sup>.

En la gráfica 3 se observa que el comportamiento para los cuatro tratamientos fue similar, puesto que el oxígeno fue disminuyendo con el paso del tiempo, los tratamientos 2 y 3 tuvieron mayor porcentaje de oxígeno alrededor de 15 % en el día 2 y valores de 10,5 % en el día 8, mientras que el tratamiento 4 osciló entre 14 % en el día 2 y 9,8 % en el día 8, esto indica el inicio de la fase de senescencia, en donde la respiración se desplaza hacia rutas anaerobias, generando compuestos volátiles como el acetaldehído y el etanol que pueden dar origen al mal sabor y aroma, en algunos casos<sup>87</sup>.

---

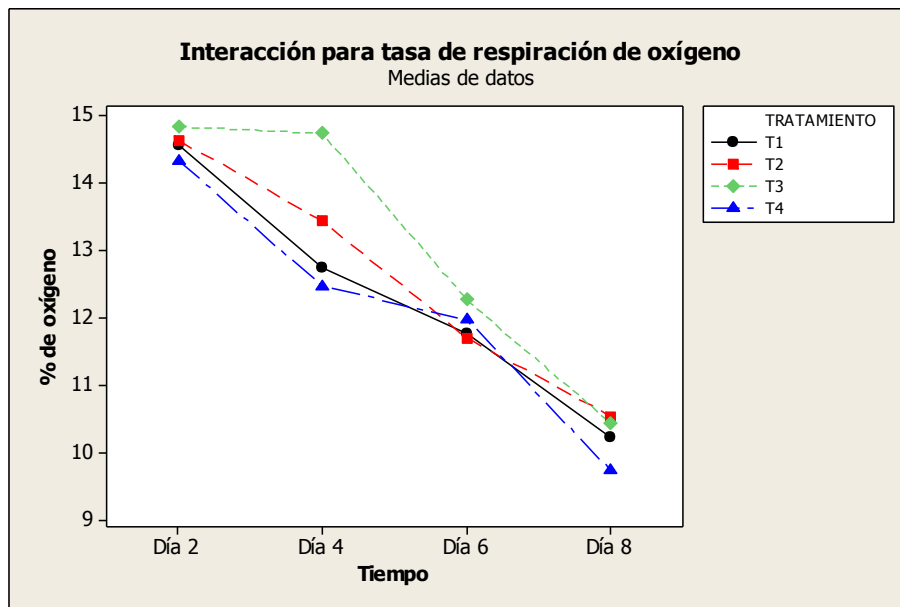
<sup>83</sup> PONTIGO A.; TREJO M. y LIRA A *et al.* Op. cit.

<sup>84</sup> ALI, A.; Muhammad, M., Sijam K.; Siddiqui, Y, *et al.* Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya*) fruit during cold storage. Food Chemistry 124: 620-626. 2011.

<sup>85</sup> FIGUEROA, Jorge *et al.* Op. cit.

<sup>86</sup> KADER, Adel. Índices de madurez, factores de calidad, normalización e inspección de productos hortícolas. pp. 49-58. En: Yahia, E. y C.I. Higuera (eds.). Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Limusa, México. 1992.

<sup>87</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad poscosecha. Tesis doctoral. Universidad de Antioquia. Facultad de química farmacéutica, 2012.



**Gráfica 3. Comportamiento del porcentaje de O<sub>2</sub> durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo D) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) indicando que no existió influencia de estos sobre la variable porcentaje de oxígeno. Se realizó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos la cual mostró que no existen diferencias significativas entre ellos. También se aplicó la prueba LSD para la interacción tiempo- tratamiento, donde se encontró que en el día 4 hay diferencias significativas entre T1 y T2, entre T1 y T3, entre T2 y T4 y entre T3 y T4 lo que quiere decir que los tratamientos empiezan el proceso de senescencia en este día. Para el día seis hay diferencias entre T1 y T3, entre T2 y T3, y entre T3 y T4. Para el último día de seguimiento hay diferencias entre T1 y T4, T2 y T4 y T3 y T4 debido al estrés del tejido causado por las operaciones de procesamiento como el pelado y el corte para la obtención de muestras<sup>88</sup>, por lo cual sucede la activación de los sistemas enzimáticos presentes en los tejidos.

Estudios muestran resultados similares en pimiento indicando que la combinación de almidón y aceite de tomillo mejoró las propiedades de barrera a los gases y su

<sup>88</sup> CASAS N y CAEZ *et al.* Efecto de la aplicación de calcio bajo tratamiento térmico suave sobre la estabilidad del tejido de melón cantaloupe (*Cucumis melo*) fresco precortado. Universidad de la Sabana, Bogotá Colombia. 2011.

actividad antimicrobiana<sup>89</sup>. efecto reportado en fresas con quitosano (2%) y aceite esencial (0.1%) que aporta hidrofobicidad y permite unir los lípidos contenidos en la membrana de los hongos, ocasionando trastornos en su estructura y permeabilidad, dando así lugar al escape de iones y otros componentes intracelulares<sup>90</sup> que pueden disminuir la intensidad respiratoria.

**3.1.3 Sólidos solubles totales (grados Brix).** Durante el proceso de maduración, en las hortalizas carnosas se generan cambios químicos en los carbohidratos de la pared celular, que al degradarse incrementan el nivel de azúcares que contribuyen a mejorar la palatabilidad del fruto<sup>91</sup>. Así mismo, los sólidos van aumentando a medida que la humedad disminuye debido a la concentración de los carbohidratos y demás componentes como minerales<sup>92</sup>.

En la gráfica 4 se observa una tendencia creciente en todos los tratamientos aunque es más notorio este comportamiento en los tratamientos 3 y 4 en donde el porcentaje oscilo entre 7 % y 10,5 % debido posiblemente a la hidrólisis de almidón en el fruto generado por la degradación de tejidos durante el lapso de seguimiento y de la oxidación de ácidos consumidos en el proceso de respiración. Es por ello que a medida que transcurre el tiempo, la concentración de sólidos es mayor, ya que para el proceso de respiración es una fuente de energía generando reacciones de consumo de O<sub>2</sub> y liberación de CO<sub>2</sub>, aumentado el índice de respiración de las frutas, llevando al fruto a su rápida senescencia<sup>93</sup>. Por otra parte, los tratamientos con recubrimiento presentaron un comportamiento diferente frente al blanco el cual tuvo un rango entre 7 % y 9,0 % debido a que los recubrimientos generaron una estabilización de los sólidos solubles, presentando

---

<sup>89</sup> ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* Op. cit.

<sup>90</sup> LÓPEZ DE LACEY, Ana María. Diseño, desarrollo y aplicación de envases comestibles potencialmente bioactivos. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de Bromatología, Nutrición y tecnología de alimentos. 2013.

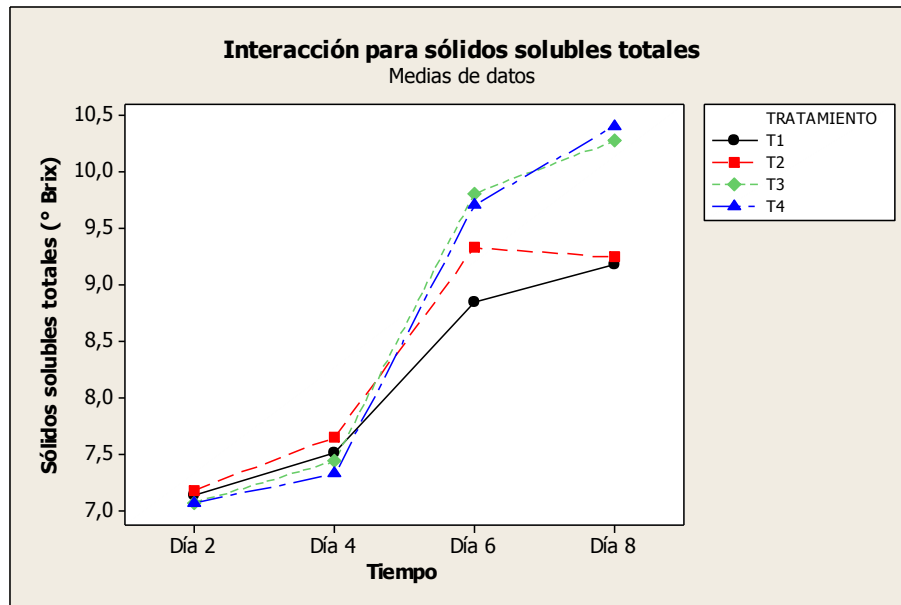
<sup>91</sup> BRADY, C.J. 1987. Fruit ripening. *Anna. Rev. Plan Physiol.* 38, 155-178. 1987 y KADER, Adel *et al.* Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. Disponible en: <file:///C:/Users/peronal/Downloads/Capitulo%204.%20Biologi%CC%81a%20y%20tecnologi%CC%81a%20poscosecha.%20Un%20panorama.pdf>. 2002.

<sup>92</sup> POTTER, Steven. Ciencia de los alimentos. Zaragoza, España: Editorial Acribia, 5 ed. p. 178, 2001.

<sup>93</sup> MOSQUERA SÁNCHEZ, Silvio Andrés. Fisiología de la maduración de las frutas. Primera edición. Popayán. Colombia 162-164p. 2010.



un menor incremento debido a un proceso de senescencia más lento causado por la disminución del índice de respiración<sup>94</sup>.



**Gráfica 4. Comportamiento de los sólidos solubles totales durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo E) muestra que el 90,24% de la información obtenida se ajusta de forma aceptable al modelo matemático y se observa la existencia de diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) lo que quiere decir que existe influencia de los tratamientos sobre la variable sólidos solubles totales. En el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos se observó que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que en la prueba LSD para la interacción tiempo-tratamiento se encontró que en el día 4 no hay diferencias entre los tratamientos. Para el día 6 hay diferencias entre el T1 y T3 y entre T1 y T4, y para el último día de seguimiento hay diferencias significativas entre T1 y T3, entre T1 y T4, entre T2 y T3 y entre T2 y T4 ya que los tratamientos con recubrimiento presentaron un comportamiento diferente con respecto al tratamiento 1 que carece de recubrimiento, debido a que estos presentaron un retardo en el proceso de maduración.

<sup>94</sup> PÉREZ, M.B.; DEL RÍO, M.A, *et al.* Op. cit.

Resultados que coinciden con los obtenidos<sup>95</sup> por quienes emplearon un recubrimiento con almidón de yuca modificado en productos hortofrutícolas donde se observó que el incremento de sólidos solubles totales puede ser causado por la conversión del almidón presente en el fruto, como resultado de los cambios fisiológicos durante el almacenamiento. De igual forma en mango y aguacate<sup>96</sup>. Reportó que hubo diferencias significativas entre los tratamientos estudiados lo que permite inferir que los recubrimientos generaron un equilibrio de los sólidos solubles lo cual retardo la senescencia de los frutos.

**3.1.4 pH.** El pH representa la concentración de iones hidrógeno e indirectamente la acidez de la hortaliza. En la gráfica 5 se observa un incremento del pH en el tratamiento 1 el cual estuvo inicialmente en 6,8 y llegó a 7,8 debido a la ausencia de recubrimiento y a la maduración de la ahuyama que originó que los ácidos orgánicos de reserva presentes en las vacuolas, fueran transformados por la célula a azúcares que serían utilizados para la respiración celular, lo que ocasionó una disminución de la acidez del medio y con ello un aumento del pH<sup>97</sup>. Los demás tratamientos se comportaron de manera similar entre sí, presentando valores iniciales entre 5,5 y 7,0 y valores finales entre 7,3 y 7,6 esto se atribuye al efecto de barrera del recubrimiento, que se caracteriza por disminuir el metabolismo activo de la fruta, retardando el proceso de maduración lo que provoca una disminución en la tasa de respiración de la célula de los tejidos vegetales, limitando la degradación de los ácidos orgánicos generando variación del pH<sup>98</sup>.

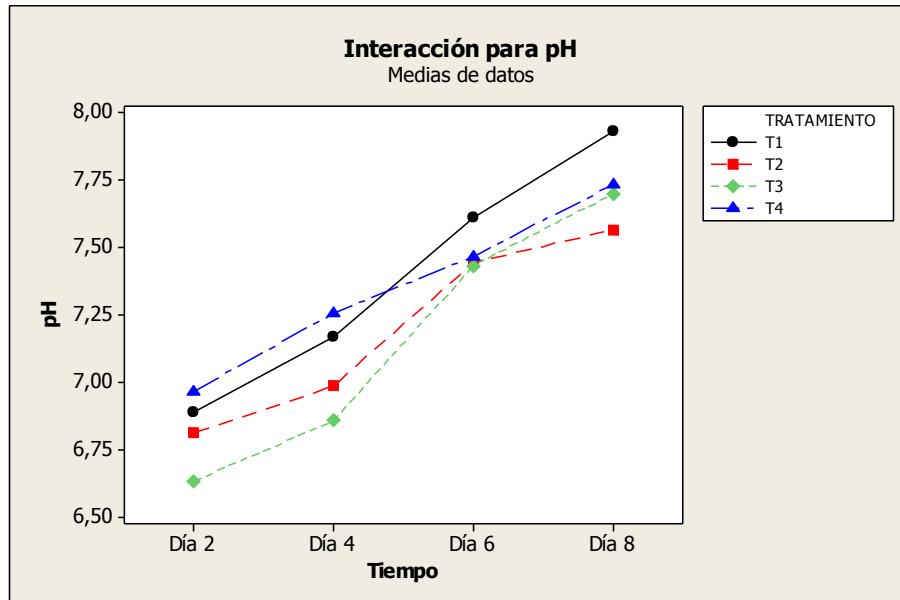
---

<sup>95</sup> QUINTERO CERÓN J.; FALGUERA PASCUAL V. y MUÑOZ HERNÁNDEZ J, *et al.* Op. cit

<sup>96</sup> FIGUEROA, Jorge *et al.* Op. cit.

<sup>97</sup> BERBESÍ M; GUEVARA., L y TAPIA M. Calidad higiénica y patógenos asociados con melones mínimamente procesados expendidos en supermercados. Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. I Simposio Ibero-Americano de Vegetáis Frescos Cortados, San Pedro, SP Brasil. 2006.

<sup>98</sup> ÁLVAREZ Carlos; ARENAS.; Nayive; GARCÍA., Fermín; MARTÍNEZ Ana, *et al.* Evaluación del efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible en melones (*Cucumis melo l., var. Cantaloupe*) cortados y almacenados en refrigeración. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta, Departamento de Tecnología de Alimentos, Departamento de Estadística, Boca del Río, Isla de Margarita, Venezuela, 2013.



**Gráfica 5. Comportamiento del pH durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo F) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ), lo que quiere decir que no existe influencia de los tratamientos sobre el pH. Se realizó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos que arrojó diferencias significativas entre T3 y T4 únicamente, en tanto que la prueba LSD para la interacción tiempo-tratamiento arrojó diferencias significativas entre T3 y T4 para el día 4, debido posiblemente a que estos tratamientos presentaron un incremento en la actividad respiratoria que implica un consumo de substratos (azúcares y ácidos orgánicos) originando una disminución en los valores de sólidos solubles y aumento en los valores de pH, posteriormente se cree que el proceso respiratorio se desacelera y continua en la etapa de senescencia con menor consumo de azúcares y ácidos orgánicos<sup>99</sup>. En los días 6 y 8 no hubo diferencias significativas entre tratamientos

Estos resultados son similares a los obtenidos con recubrimiento comestible en melones cortados y almacenados en refrigeración<sup>100</sup>. en donde se observó que los

<sup>99</sup>SARRIA, Saúl, *et al.* Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos físico-químicos de mango `Tommy Atkins´ mínimamente procesado y refrigerado. Palmira (Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Departamento de Ingeniería, 2014.

<sup>100</sup>ÁLVAREZ Carlos; ARENAS.; Nayive; GARCÍA., Fermín; MARTÍNEZ Ana, *et al.* Evaluación del efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible en melones (*Cucumis melo L., var.*

valores del pH de los dos tratamientos fueron similares hasta aproximadamente el día 8, ya que no hubo diferencias significativas en estas mediciones, no obstante, en el día 10 se nota diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en los valores de pH de las muestras controles y las recubiertas hasta el final del estudio, siendo mayores éstos en las rebanadas sin recubrir. Lo anterior indica que el recubrimiento de almidón con incorporación de aceite esencial de tomillo no afectó los parámetros fisicoquímicos relacionados con los procesos de maduración de los frutos (Barrera, 2012), de igual forma en fresa fresca por Moncayo<sup>101</sup>, en tomate de árbol troceado<sup>102</sup> y en uchuva fresca por Castro<sup>103</sup>, quienes reportaron que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos estudiados.

---

*Cantaloupe*) cortados y almacenados en refrigeración. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta, Departamento de Tecnología de Alimentos, Departamento de Estadística, Boca del Río, Isla de Margarita, Venezuela, 2013.

<sup>101</sup> MONCAYO MARTÍNEZ, Diana Cristina. Aplicación de una dextrina como recubrimiento comestible en fresa (*Fragaria ananases* L). Posgrado en ciencia y tecnología de alimentos. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia. 2011. Disponible desde internet en: <http://www.aiquruguay.org/congreso/download/P79.pdf>

<sup>102</sup> ANDRADE, Johana C. Desarrollo de un recubrimiento comestible compuesto para la conservación del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.). Información tecnológica, vol. 25, no 6, p. 57-66. 2014.

<sup>103</sup> CASTRO, Raúl Alberto; BLAIR, Gloria Helena. Evaluación fisicoquímica de la efectividad de un recubrimiento comestible en la conservación de uchuva (*Physalis peruviana* L. var. Colombia). En: Revista Alimentos Hoy, 2010, vol. 19, no 21, p. 16-34.

**3.1.5 Firmeza.** La firmeza de las hortalizas está influenciada por una serie de factores tanto estructurales como químicos, entre los que se encuentran los constituyentes bioquímicos de los orgánulos celulares, el contenido de agua y finalmente la composición de la pared celular. Por tanto, cualquier factor externo que afecte a uno o varios de estos factores puede modificar la firmeza y, en consecuencia, inducir cambios que modifiquen la calidad final del producto<sup>104</sup>. El ablandamiento de las hortalizas está asociado con una pérdida del ensamblaje entre las estructuras de la pared celular primaria y la laminilla media<sup>105</sup>. Los cambios en la estructura de la pared celular así como en su composición son debidos a la acción conjunta de enzimas hidrolasas principalmente poligalacturonasa (PG), pectinesterasa (PE),  $\beta$ - galactosidasa ( $\beta$ - gal), pectato liasa (PL) y celulasa (Cel)<sup>106</sup>.

En la gráfica 6 se observa una disminución en la fuerza requerida para la penetración de las muestras de ahuyamas, el cual es más representativo en el tratamiento 1 puesto que se encuentra en el rango entre 58 N y 39 N, este comportamiento ocurre por el ablandamiento causado por la degradación de los hidratos de carbono poliméricos, especialmente de las sustancias pépticas y la hemicelulosa que debilita las paredes celulares y las fuerzas cohesivas que mantienen unidas unas células con otras, provocando una desintegración de la estructura celular<sup>107</sup>, a diferencia del tratamiento 2 en donde se empleó una fuerza de penetración de 66 N inicialmente y de 58 N en el día 8 lo cual indica que la el uso de recubrimientos consiguió inhibir el proceso de maduración en cuanto a la hidrólisis de los polisacáridos de la pulpa ya que pudo mantener mayor firmeza en los frutos debido a que la película generada sobre el fruto logró reducir el ritmo respiratorio y por tanto estas reacciones bioquímicas consiguieron retardarse<sup>108</sup>. Se ha observado que ambientes con concentraciones bajas en O<sub>2</sub> y altas en CO<sub>2</sub>, reducen la actividad enzimática causante de la degradación de las paredes

---

<sup>104</sup> SAMS C.E. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology* 15: 249 – 254. 1999

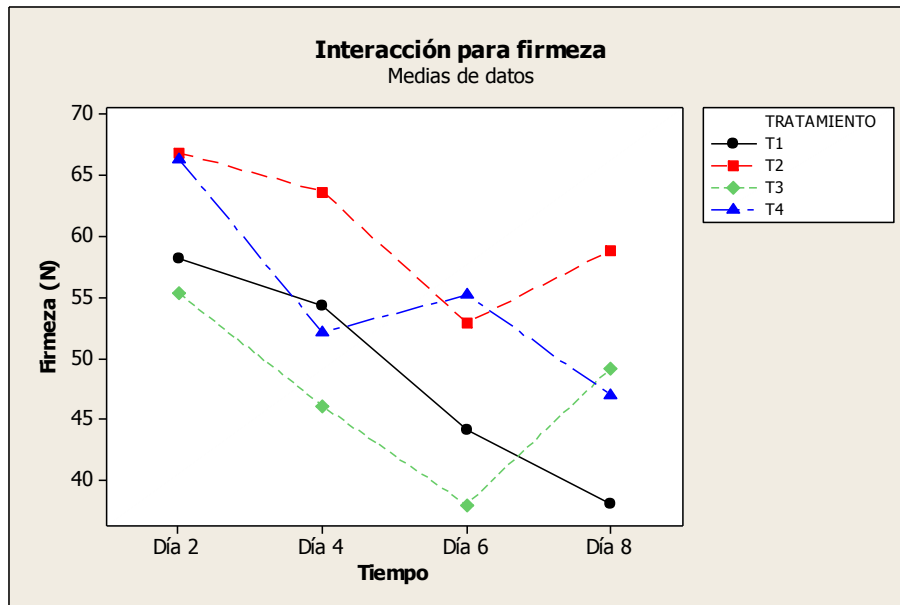
<sup>105</sup> JACKMAN R.L, STANLEY D.W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. *Food Science and Technology* 6: 187 -194, 1995.

<sup>106</sup> BRUMMELL D.A. Cell wall metabolism in fruit softening, quality, and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47: 311-340 (2001)

<sup>107</sup> CAMPO RIVERA, Jeinst, *et al.* Encuentran hongos dañinos en zapallo. Universidad Nacional de Colombia. [En línea]. Julio 9 de 2011. Disponible desde internet en: <http://www.unperiodico.unal.edu.co/dper/article/encuentran-daninos-hongos-en-zapallo.html>.

<sup>108</sup> PONTIGO A.; TREJO M. y LIRA A *et al.* Op. cit.

celulares, permitiendo así, la retención de la firmeza en vegetales durante su vida poscosecha<sup>109</sup>.



**Gráfica 6. Comportamiento de la firmeza durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo G) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que quiere decir que no existió influencia de los tratamientos sobre la variable firmeza, sin embargo esta variable de respuesta cambió notablemente con el tiempo, debido a que este parámetro está relacionado con las propiedades mecánicas de la hortaliza y, por otra parte, la pérdida de agua que es una de las principales causas de deterioro en la mayoría de los productos hortofrutícolas lo que produce pérdida de firmeza. Se realizó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos la cual no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos, también la prueba LSD para la interacción tiempo - tratamiento, no mostró diferencias significativas en ninguno de los tratamientos lo que quiere decir que no existe influencia de ellos sobre la firmeza.

Resultados del presente trabajo concuerdan con los estudios realizados por Fernández<sup>110</sup>, con tomate en fresco quien reportó que la aplicación de los

<sup>109</sup> DEL-VALLE V, HERNÁNDEZ-MUÑOZ P, GUARDA A, GALOTTO MJ (2005). Op. cit.

recubrimientos no influyó sobre la firmeza de los tomates y no se encontraron diferencias significativas ya que todos los tratamientos mostraron un patrón similar de pérdida de firmeza a través del tiempo, sin embargo la muestra testigo presentó mayor pérdida de firmeza frente a los demás tratamientos. El uso de recubrimientos consiguió inhibir el proceso de maduración en cuanto a la hidrólisis de los polisacáridos de la pulpa, ya que pudo mantener mayor firmeza en los frutos debido a que la película generada sobre el fruto logró reducir el ritmo respiratorio y por tanto estas reacciones bioquímicas consiguieron retardarse , tal como lo demuestra Ali<sup>111</sup> que reportaron que al aplicar un recubrimiento de almidón y quitosano la firmeza en la papaya fue de 10,11% mayor con respecto a los controles después de 14 días de almacenamiento.

**3.1.6 Índice de color.** El color es el cambio más evidente que se presenta en muchos frutos y es, a menudo, el principal criterio utilizado por los consumidores para determinar si un fruto está maduro o no. Los cambios de color durante la maduración de la mayoría de los frutos, son producto, principalmente, de la degradación de la clorofila y la síntesis de pigmentos tales como carotenoides y antocianinas<sup>112</sup>. Los principales agentes responsables de la degradación de la clorofila son los cambios en el pH, oxidaciones y la actividad de las clorofilasas<sup>113</sup>.

---

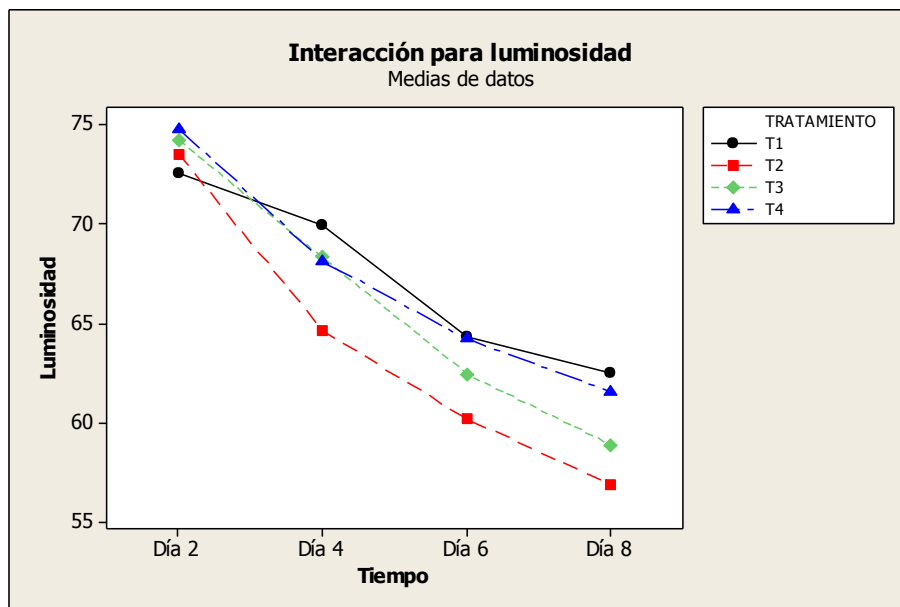
<sup>110</sup> FERNÁNDEZ Natalia *et al.* Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimientos comestibles sobre el tomate (*solanum lycopersicum*). Universidad del Cauca, Popayán. 2014.

<sup>111</sup> ALI, A.; Muhammad, M., Sijam K.; Siddiqui, Y, *et al.* Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya*) fruit during cold storage. Food Chemistry 124: 620-626. 2011.

<sup>112</sup> BROWNLEADER, M.; JACKSON, P.; MOBASHERI, A.; PANTELIDES, A.; SUMAR, S.; TREVAN, M.; DEY, P, *et al.* Molecular aspects of cell wall modification during fruit ripening. Critical Review in Food Science 39(2):149-164. 1999.

<sup>113</sup> AGUILAR, M.M, *et al.* Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Coordinación General de Postgrados e Investigación. México D.F., México. 2005.

**3.1.6.1 Luminosidad (L).** La gráfica 7 muestra los valores de luminosidad (L\*) donde valores de cero indican color negro y valores de cien indican colores blancos, se notó una disminución en esta variable, debido posiblemente a los procesos enzimáticos que dan como resultado pigmentaciones oscuras que afectan su brillo y posterior luminosidad, así como también su calidad<sup>114</sup>. El tratamiento 1 presento valores de 72,5 y 64 mientras que el tratamiento 2 valores entre 72 y 57, siendo ambos valores cercanos a 100 (máxima luminosidad), lo cual es deseable ya que implica que el recubrimiento permitió visualizar el fondo blanco contra el cual fueron apoyadas durante la medición y por lo tanto, se infiere que las características visuales de un alimento que haya sido recubierto no sufrirá modificaciones<sup>115</sup>.



**Gráfica 7. Comportamiento de la luminosidad (L) durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (anexo G) no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos de igual manera se aplicó el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos y

<sup>114</sup> AGUILAR, M.M, *et al.* Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Coordinación General de Postgrados e Investigación. México D.F., México. 2005.

<sup>115</sup> MIRAMONT Sofía. Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. Tesis de maestría en tecnología de los alimentos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.2012



no se encontraron diferencias significativas lo mismo ocurrió al aplicar la prueba LSD para la interacción tiempo- tratamiento, esto indica que el empleo del recubrimiento no causó alteraciones en el brillo típico de la ahuyama, esto se debió al efecto del mismo en el control del pardeamiento enzimático y a la disminución del oxígeno<sup>116</sup>.

Como ya se ha mencionado, los recubrimientos en hortalizas pueden crear una atmosfera modificada entre la película y la superficie de los mismos<sup>117</sup>. Afirma que la pérdida de la clorofila y la biosíntesis de carotenoides y antocianinas pueden ser retrasadas en vegetales tratados con recubrimiento el cual proporciona una atmósfera modificada y/o controlada. Resultados que coinciden con los obtenidos con recubrimientos de almidón de yuca, ácido cítrico y glicerol en mango cortado, indicando que el efecto combinado del recubrimiento y el ácido cítrico ofrecen un efectivo mantenimiento de las características de color<sup>118</sup>, generado por la acción de los recubrimientos comestibles que tienen potencial para transportar y mantener aditivos como agentes antipardeamiento en la superficie de los tejidos vegetales cortados<sup>119</sup>, por lo cual tienen gran potencial en la conservación de las propiedades de color, sin afectar sus características naturales.

---

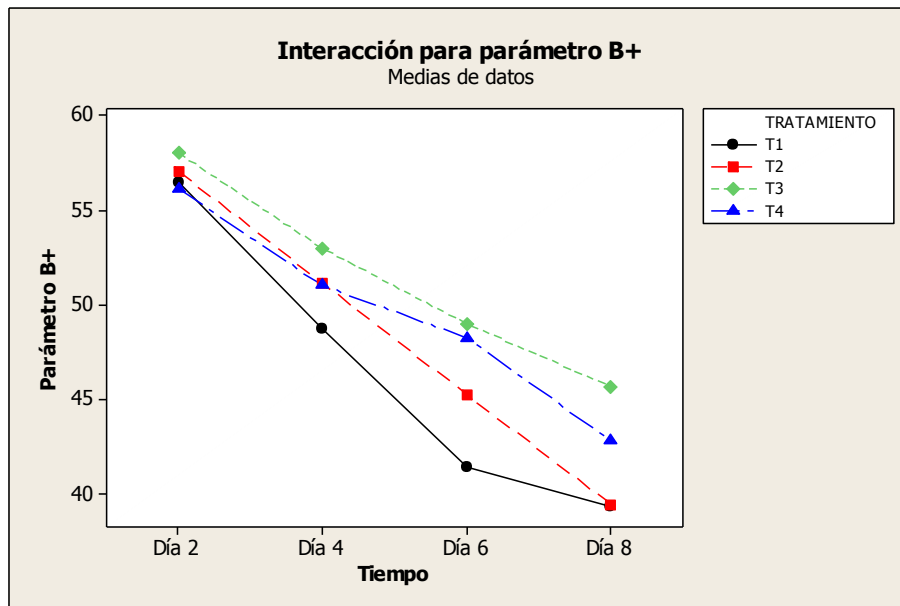
<sup>116</sup> SARRIA, Saúl, *et al.* Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos físico-químicos de mango `Tommy Atkins´ mínimamente procesado y refrigerado. Palmira (Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Departamento de Ingeniería, 2014.

<sup>117</sup> KADER, Adel *et al.* Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. Disponible en: <file:///C:/Users/peronal/Downloads/Capitulo%204.%20Biologi%CC%81a%20y%20tecnologi%CC%81a%20poscosecha.%20Un%20panorama.pdf>. 2002.

<sup>118</sup> SARRIA, Saúl, *et al.* Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos físico-químicos de mango `Tommy Atkins´ mínimamente procesado y refrigerado. Palmira (Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Departamento de Ingeniería, 2014.

<sup>119</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis doctoral. Universidad de Lleida.2009.

**3.1.6.2 Parámetro B+.** Parámetro en el cual los valores positivos de b+ indican amarillos, en tanto que los valores negativos indican azules; de acuerdo con la gráfica 8, el recubrimiento contribuyó de forma positiva a la conservación del color, debido a la barrera semipermeable a gases y vapor de agua donde hubo baja presencia de oxígeno y elevada concentración de CO<sub>2</sub>, evitando la oxidación o degradación de carotenoides (pigmentos vegetales inestables en la presencia de oxígeno)<sup>120</sup>. El tratamiento 1 presentó valores iniciales de 56 hasta llegar a 39 en el día 8 mientras que el tratamiento 3 valores entre 58 y 46, el comportamiento del tratamiento 1 puede deberse a la degradación de las clorofilas de la piel de la ahuyama debido a procesos de maduración y senescencia, en tanto que dichos fenómenos se retardan en los tratamientos que han sido recubiertos debido a la acción de el recubrimiento<sup>121</sup>.



**Gráfica 8. Comportamiento del parámetro B+ durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo G) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que quiere decir que no existió influencia de los tratamientos sobre el parámetro b+, así mismo la comparación de medias mostró diferencias entre T3 y T4. La prueba LSD para el día 4 no arrojó diferencias entre los tratamientos, para

<sup>120</sup> SARRIA, Saúl, *et al.* Op.cit.

<sup>121</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Op. cit.

el día 6 se reportaron cambios significativos entre el T1 y T3 y entre el T1 y T4 lo que indica que los tratamientos con recubrimiento presentaron una menor pérdida de color, siendo el tratamiento 3 el mejor con respecto a esta variable. Para el último día se presentaron diferencias entre el T1 y T3 y entre T2 y T3, esto debido a que empieza el proceso de senescencia el cual supone una pérdida en la coloración sobre la ahuyama.

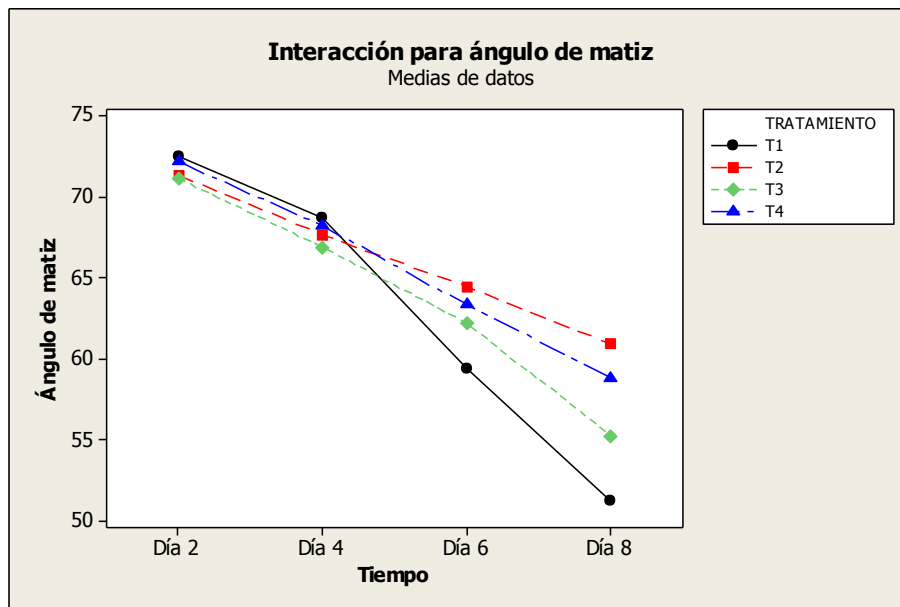
Se presentó el mismo comportamiento en fresa con un recubrimiento con base en gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis miller*) y cera de carnauba se observó que el recubrimiento comestible no presentó modificaciones en los parámetros de color, ni una disminución del color atribuyéndose al incremento de la respiración y a los procesos enzimáticos que dan como resultado una pérdida de calidad y en algunas pigmentaciones oscuras<sup>122</sup>.

**3.1.6.3 Ángulo de matiz (parámetro h°).** Un ángulo Hue de 0° representa un rojo puro, si es de 90° significa amarillo, mientras que un ángulo Hue de 180° representa un verde puro. En la gráfica 9 se observan ángulos que van desde 52° hasta 72° grados, lo cual indica que el color más próximo que presentaban las ahuyamas es el amarillo- naranja; según Álvarez<sup>123</sup>, la degradación de las clorofilas de la piel de las ahuyamas durante la maduración y la senescencia supone una pérdida de la coloración y un desenmascaramiento de los carotenos que son pigmentos de color amarillo y naranja con el consiguiente cambio de color. Conforme avanzan estos dos procesos se pierden las tonalidades amarillas, predominando las naranjas, que permanecen inalteradas durante la senescencia, comportamiento que fue notorio en este caso en particular. En general el uso del recubrimiento redujo el cambio de color en todos los tratamientos pues el día 2 presenta valores entre 70° y 70,5 ° el caso del tratamiento 2 y 3, hasta llegar a 60° y 63° finalmente, en comparación con el blanco que fue el que evidenció una mayor pérdida de color con un valor inicialmente de 72° y finalmente de 51°.

---

<sup>122</sup> RESTREPO J y ARISTIZÁBAL I. Conservación de fresa (*fragaria x ananassa duch* cv. camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera de carnauba. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 252-263. 2010

<sup>123</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Op. cit.



**Gráfica 9. Comportamiento del ángulo de matiz durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo J) no arrojó diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que quiere decir que no existió influencia de estos sobre la variable ángulo de matiz, así mismo se realizó la comparación de medias LSD en donde no hubieron diferencias significativas entre los tratamientos; también se aplicó la prueba LSD en donde para el día 4 y el día 6 no se evidenciaron diferencias significativas, en tanto que para el día 8 se presentaron diferencias entre T1 y T3 y T1 y T4, lo que permite inferir que los tratamientos con recubrimiento presentaron un mejor comportamiento con respecto al blanco, pues presentan tonalidades más oscuras propias de la ahuyama.

Estos resultados son similares a los obtenidos en fresa<sup>124</sup> donde se reportó durante el almacenamiento poscosecha cambios en el color los cuales se hicieron evidentes por un decremento en el ángulo hue, así como en los rojos ( $a^*$ ) y amarillos( $b^*$ ), sin embargo, en el análisis de varianza el valor  $p$  fue mayor a 0.05, observándose que la aplicación del recubrimiento no afectó a las fresas tratadas con respecto a las fresas control. Al final del almacenamiento el ángulo hue disminuyó en todos los tratamientos dicha disminución del color puede deberse a

<sup>124</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Op. cit.

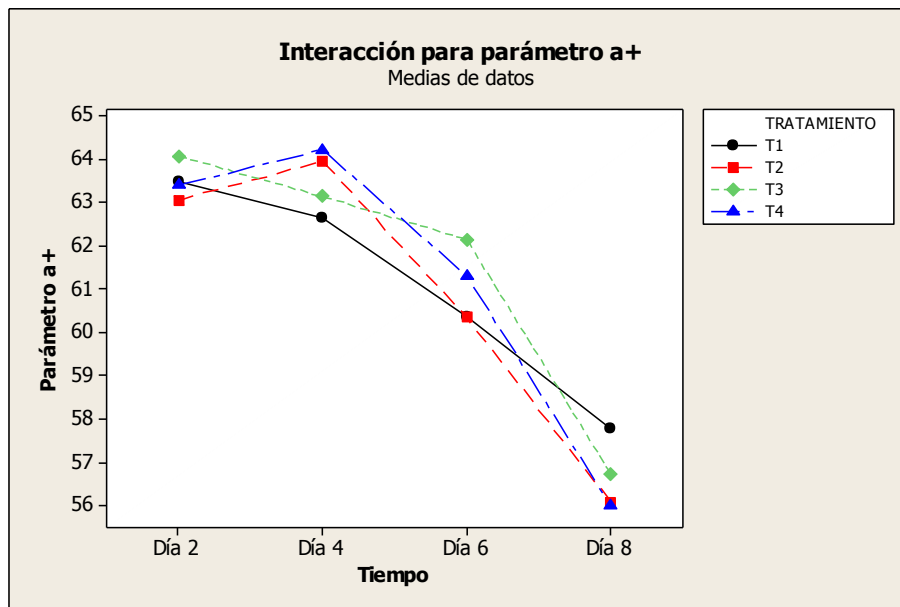
los procesos enzimáticos que dan como resultado una pérdida de calidad y pigmentaciones oscuras, por lo tanto el recubrimiento no modificó el color original del producto ni el desarrollo de pigmentaciones oscuras en tanto que la adición del glicerol no tuvo efecto sobre las propiedades del color en las fresas.

**3.1.6.4 Parámetro a+.** El parámetro a+ es verde en una extremidad (representado por -a) y rojo en la otra (+ a). En la gráfica 10 se aprecia una reducción en los valores de las coordenadas a+ de la ahuyama durante el almacenamiento, debido a que los productos frescos cortados sufren cambios en la textura (flácido debido a pérdida de agua en los tejidos) y en el color, especialmente atribuido a pardeamiento oxidativo en las superficies cortadas<sup>125</sup> donde los compuestos fenólicos son oxidados hasta quinonas mediante reacciones catalizadas por enzimas denominadas genéricamente polifenoloxidasas (PPO). La rotura del tejido que ocurre como consecuencia del procesado hace que las enzimas y sus sustratos, presentes ambos en el fruto, entren en contacto y reaccionen formando compuestos activos. Éstos a su vez experimentan procesos de polimerización que dan lugar a compuestos coloreados denominados melaninas, produciendo el pardeamiento superficial del producto y disminuyendo así su calidad visual<sup>126</sup>. El tratamiento 1 fue el que arrojó mejores resultados puesto presentó valores entre 63,5 hasta 58 mientras que los tratamientos 2, 3 y 4 valores iniciales entre 63,8 hasta 64 y valores finales entre 56 y 57 esto indica que la aplicación de los recubrimientos no influyó sobre este parámetro en la ahuyama.

---

<sup>125</sup> BRECHT J. Underground storage organs. In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Bartz J, J Brecht (Eds.). Editorial: Marcel Dekker Inc.: New York, 625-647.2003; VAROQUAUX P, R. 1994. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetable. In: Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Wiley RC (ed.), Editorial: Chappman and Hall: New York, pp. 226-268.1994.

<sup>126</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, y BELLOSO Martín, O. The use of packaking techniques to maintain freshness in fresh cut fruits and vegetables: a review. International Journal of Food Science and Technology, 4, 875-889. 2009.



**Gráfica 10. Comportamiento del parámetro a+ durante el tiempo de seguimiento**

El ANOVA (Ver anexo G) no arrojó diferencias significativas entre tratamientos ( $p > 0,05$ ) lo que indica que no existió influencia de estos sobre el parámetro a+, por otra parte, el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos, no arrojó diferencias entre los cuatros tratamientos. También se realizó una prueba LSD teniendo en cuenta la interacción tiempo-tratamiento y no se encontraron diferencias significativas entre sí. En general los tratamientos con recubrimientos presentaron un mejor comportamiento debido a que los recubrimientos con base en polisacáridos como el almidón retrasan el pardeamiento en los productos recién cortados<sup>127</sup>

Estos resultados son similares a los obtenidos con recubrimiento con pectina y aceite esencial de cítricos en frutas cítricas donde se indicó que los recubrimientos redujeron el cambio de color en todas las condiciones de almacenamiento en comparación con el control<sup>128</sup> de igual forma en pimentones verdes se reportó que

<sup>127</sup> CHIUMARELLI, M., Y HUBINGER M. Stability, Solubility, Mechanical and Barrier Properties of Cassava Starch – Carnauba Wax Edible Coatings to Preserve Fresh-cut Apples. Food Hydrocolloids 28, (1): 59–67. 2011.

<sup>128</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad poscosecha. Tesis doctoral. Universidad de Antioquia. Facultad de química farmacéutica, 2012.

no hubo diferencias significativas entre los tratamientos estudiados para este parámetro<sup>129</sup>.

**3.1.7 Análisis microbiológico.** En la gráfica 11 se observa una reducción en la velocidad de crecimiento de hongos en los días 0 y 4 debido a la acción del aceite esencial de tomillo, ya que este presenta en su composición carvacrol, que penetra la membrana celular causando una desestabilización y pérdida de ATP (entre otros componentes intracelulares) que causan la muerte del hongo<sup>130</sup> en concentraciones iguales o superiores a 1%<sup>131</sup>. Sin embargo en el día 8 hay presencia de hongos donde el tejido afectado presentó una pudrición firme y de apariencia corchosa o esponjosa; estaba en condiciones húmedas, y cubierto por una masa de esporas de color blanco a rosado, su aparición puede deberse al ambiente de humedad que presentaba la ahuyama así como también a la lesión que esta presentaba por la respectiva manipulación que sufrió y también por el deterioro fisiológico como la senescencia y la sobre maduración que empieza a sufrir la ahuyama<sup>132</sup>.

Mediante un análisis cuantitativo (ver tabla 4) se determinó el crecimiento de hongos en cajas de Petri y se comprobó que la aplicación de los recubrimientos con aceite esencial de tomillo no inhibió el crecimiento de estos en su totalidad (Ver figuras 27 a 34), sin embargo este hecho se atribuye a la senescencia que empieza a padecer la ahuyama pues esto sucedió en el día 8, en los días 0 y 4 no hay evidencia de hongos debido posiblemente a la acción del aceite esencial de tomillo, la capacidad antifúngica de este podría ser atribuida a la presencia de compuestos fenólicos, principalmente timol y carvacol. Se ha informado la reactividad de los grupos hidroxilofenólicos, formando enlaces puentes de

---

<sup>129</sup> UQUICHE CARRASCO, Edgar; VILLARROEL TUDESCA., Mario y CISNEROS ZEVALLOS Luis. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L) durante el almacenamiento. Facultad de Ingeniería, Ciencias y administración. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile.2002.

<sup>130</sup> HASSANI, A.; FATHI, Z.; GHOSTA, Y.; ABDOLAH, A.; MESHKATASADAT, M. H. and MARANDI, R. J, *et al.* Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. J. Food Saf. 32(1):94-101, 2012.

<sup>131</sup> SOTO, E.; MORENO, J.; ESTARRÓN, M.; GARCÍA, J. y OBLEDO, E, *et al.* Composición química y actividad fungicida del aceite esencial de *Thymus vulgaris*L. Contra *Alternaria* Citri. México. Rev. Dig. Científ. Tecnol. 4:1-8, 2006.

<sup>132</sup> ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Op. cit.

hidrogeno con sitios activos de ciertas enzimas<sup>133</sup>. Además, estos compuestos atacan la membrana citoplasmática del microorganismo destruyendo la capacidad selectiva y permitiendo el escape de componentes intracelulares<sup>134</sup> lo que sumado a su capacidad de inactivar enzimas explicaría la actividad contra el desarrollo fúngico.

Nótese también que el tratamiento 1 fue el que presentó mayor crecimiento de dicho hongo, alrededor de 7400 UFC/mL esto se debe a la ausencia del recubrimiento que no hizo las veces de barrera, así como también a los procesos de senescencia que empezó a sufrir la hortaliza, en tanto que el tratamiento 4 presentó un valor de 1450 UFC/mL debido posiblemente a la acción del recubrimiento que protegió la hortaliza de agentes contaminantes .

**Tabla 4. Recuento microbiológico de hongos en ahuyama**

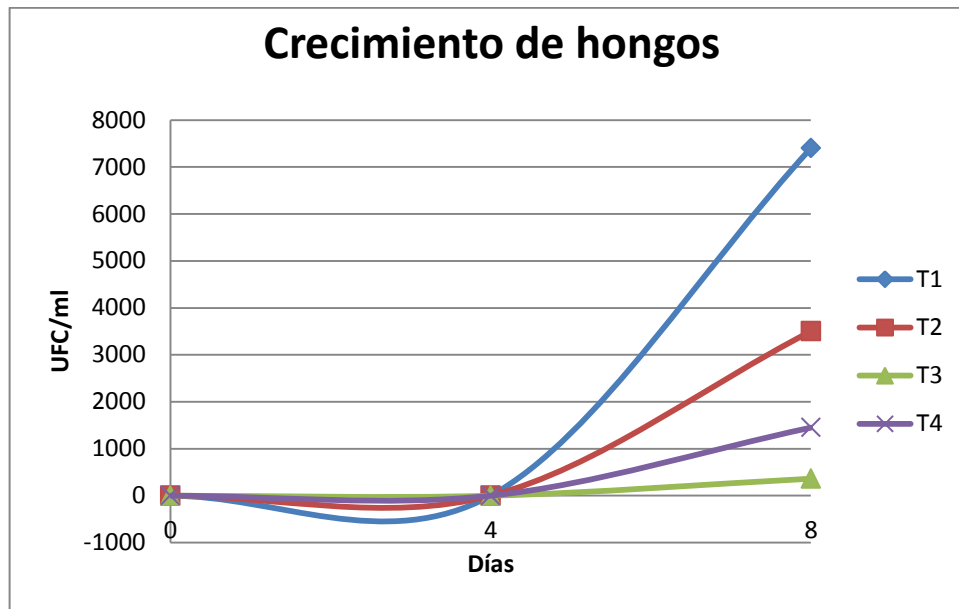
DÍA	T1	T2I	T3	T4
0	0	0	0	0
4	0	0	0	0
8	7.400	3.500	363	1.450

---

<sup>133</sup> FARAG, K. Enhancing ethephon effectiveness by modifying cuticular transport or stimulating ethylene production in cranberry fruit. Ph. D. thesis University of Wisconsin- Madison. PP 216.1989.

<sup>134</sup> NYCHAS GJE. Natural antimicrobials from plants. En new Methods of Food Preservation. Gould G.W,5 Champman y Hall. London.1995





**Gráfica 11. Crecimiento de hongos (UFC/mL) en trozos de ahuyama**

Resultados similares se obtuvieron con la incorporación de agentes antimicrobiales como es el caso de los aceites esenciales (anís, cardamo y tomillo) en películas, cubiertas o empaques, se ha probado en varios productos alimenticios como carne y productos de panadería, inhibiendo el desarrollo de hongos, bacterias y levaduras<sup>135</sup> que adicionaron aceite de tomillo (10 g.L<sup>-1</sup>) al recubrimiento, obteniendo en frutos de tomate una significativa inhibición en el crecimiento de *B. cinérea*. En otras investigaciones<sup>136</sup>, concentraciones por arriba de 0,06% de aceite de tomillo redujeron el desarrollo de *R. stolonifer* en frutos de papaya, reportándose que a medida que aumentaban la concentración disminuía la severidad del hongo. En el caso de bacterias, el uso de aceites esenciales también ha sido benéfico para el control de estos microorganismos<sup>137</sup> reportaron que el recubrimiento con base en puré de manzana alginato, glicerol y aceite esencial de orégano en trozos de mango, disminuyó el desarrollo de *Listeria*

<sup>135</sup> CAGRI, A., USTUNOL, Z., and RYSER, E. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection* 67:833–848. 2004.

<sup>136</sup> BÓSQEZ MOLINA E. "Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*).” Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. México, 2010.

<sup>137</sup> ROJAS-GRAÜ, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis doctoral. Universidad de Lleida. 2009.

*innocua*, hasta un 50% más que en los no tratados<sup>138</sup> al incorporar recubrimientos con base en alginato y glicerol, y 0,3% de ácido palmítico en melón cortado, inhibieron el crecimiento de *Salmonella entérica*, además de conservar el producto fresco con buenos parámetros de calidad.

Este comportamiento fue similar en fresa donde se observó que la adición de 3% de aceite esencial de limón mejoró la actividad antifúngica del recubrimiento de quitosano en frío (5 °C) en fresas inoculadas con una suspensión de esporas de *Botrytis cinérea*<sup>139</sup> y el recubrimiento compuesto de quitosano y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) demostró la eficacia de la aplicación sobre el crecimiento de *Rhizopus stolonifery Aspergillus Níger* en la superficie de uvas (*Vitis labrusca* L.)<sup>140</sup>.



**Figura 16. Seguimiento del tratamiento 1 para el día 4**

<sup>138</sup> RAYBAUDI-MASSILIA, R., MOSQUEDA-MELGAR, J., and BELLOSO Martín, O, *et al.* 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf life and safety of fresh cut melon. *International Journal of Food Microbiology* 121:313-327.

<sup>139</sup> PERDONES A, SÁNCHEZ L, CHIRLAT A. and VARGAS M, *et al.* Effect of chitosan- lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biol. Technol.* 70:32-41 pp, 2012.

<sup>140</sup> TIMOTEO, N. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifera* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis abrusca* L.). En: *Food Microbiology*, vol.32, p.345-353. 2012.



Figura 17. Seguimiento del tratamiento 2 para el día 4



Figura 18. Seguimiento del tratamiento 3 para el día 4



Figura 19. Seguimiento del tratamiento 4 para el día 4





Figura 20. Seguimiento del tratamiento 1 para el día 8



Figura 21. Seguimiento del tratamiento 2 para el día 8

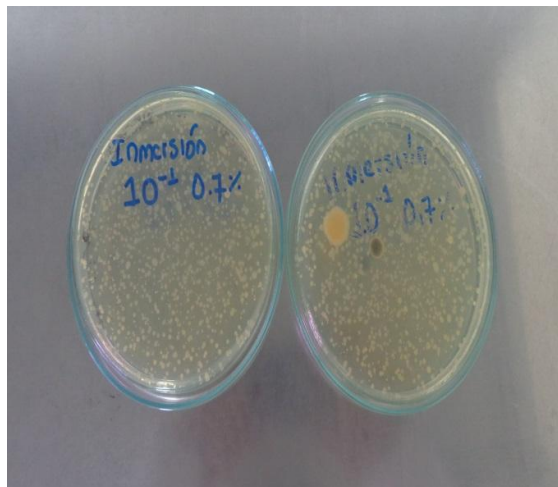


Figura 22. Seguimiento del tratamiento 3 para el día 8

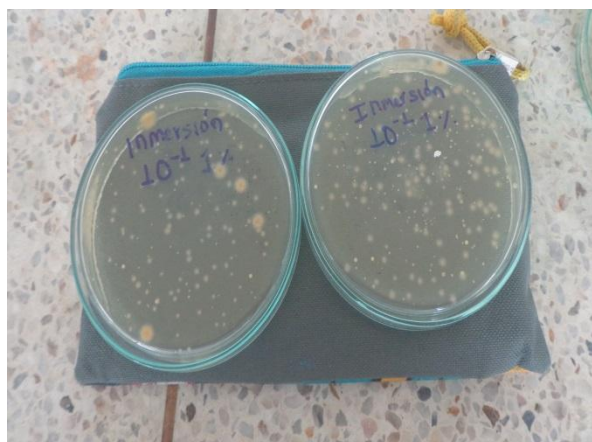


Figura 23. Seguimiento del tratamiento 4 para el día 8

### 3.2 PRUEBAS DE MICROSCOPIA EN TROZOS DE AHUYAMA

**3.2.1 Análisis de Microscopía Óptica de Alta Resolución en el epicarpio (MOAR).** En la figura 24 se observó el tratamiento 1, en el día 0 donde se apreció la epidermis (E) e hipodermis (H) en el fruto de la ahuyama, ambos son tejidos de protección, que se caracterizan por no tener una forma ni orden definido, las células del hipodermis suelen ser grandes, con paredes delgadas y generalmente acumuladoras de agua (tejido de protección [Anónimo]) luego se encontró colénquima (C) el cual está ubicado debajo de la hipodermis, es un tejido de sostén, simple, homogéneo, constituido por un solo tipo de células, las cuales presentaron paredes primarias, engrosadas desigualmente, brillantes o nacaradas. Finalmente se encontró parénquima de reserva (P) donde se encontraron células isodiamétricas, dispuesto de manera compacta y hay espacios intercelulares entre sí para aireación<sup>141</sup>. Por otra parte la figura 25 corresponde al tratamiento 1 en el día 8 donde se encontró epidermis (E) la misma ésta formada por una capa de células que se encuentran unidas entre sí, su principal función es proteger el fruto de todo aquello que pueda afectar su vida útil.

<sup>141</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Morfología de plantas vasculares. [En línea] 2017. [Citado en mayo de 2016]. Disponible desde internet en: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/PROG2002.htm>.

También se observó la presencia de parénquima (P) es un tejido compuesto de células vivas de forma poliédrica, son importantes porque interviene en los procesos de cicatrización de heridas y regeneración de tejidos, también se caracteriza por almacenar sustancias de reserva, de acuerdo a lo visto y al compuesto que acumula recibe el nombre de parénquima amilífero, ya que almacena en su interior gránulos de almidón (A) que se encuentran en forma de partículas sólidas<sup>142</sup>. Algunos presentaban forma de elipse, otros de esfera y otros estaban truncados como si hubiesen recibido cortes en direcciones aleatorias. Es evidente la presencia de esta macromolécula puesto que es un polisacárido de reserva alimenticia que constituye la mayor parte de los carbohidratos los cuales hacen parte de la composición de la ahuyama<sup>143</sup>, se observó la presencia de espacios intercelulares (Esp) los cuales se originaron por un proceso de plasmólisis en donde las células al perder agua se contraen, separándose el protoplasto de la pared celular, esto sucede cuando la célula se encuentra en un medio de concentración mayor a la del citoplasma<sup>144</sup>. Por otra parte la figura 26 muestra el tratamiento 2 en el día 8 este presentó parénquima (P), epidermis (E) y gránulos de almidón (A) al igual que el anterior tratamiento, también se observó la cutícula (C) esta es una capa protectora que se encuentra en la superficie más externa la cual cubre la pared celular de las células epidérmicas<sup>145</sup>. Igualmente se observaron tejidos mecánicos o de sostén como esclerénquima (Es) y colénquima (Co), los primeros se caracterizan por contener células muertas, con paredes muy gruesas, en este caso en particular presentó células pétreas (redondeadas o esféricas) ligeramente lignificadas aisladas y separadas por el parénquima<sup>146</sup>. El colénquima es un tejido vivo compuesto de células alargadas, con membranas no lignificadas y de acuerdo a lo observado en el microscopio recibe el nombre de colénquima lagunar debido a que se observaron espacios intercelulares (Esp) o lagunas, que constituyen un sistema de aireación bien desarrollado para facilitar el intercambio de gases, a su vez estos, produjeron una pequeña separación entre células<sup>147</sup>. Así mismo se observó rompimiento del tejido vegetal debido posiblemente a una plasmólisis, este fenómeno causa marchitamiento celular, debido a que está expuesta a un medio hipertónico, donde hay más concentración

---

<sup>142</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA. Parénquima, colénquima y esclerénquima. [En línea] 2017. [Citado en 2016]. Disponible desde internet en: [http://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4/863437/4\\_parnq\\_colnq\\_esclernq.pdf](http://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4/863437/4_parnq_colnq_esclernq.pdf)

<sup>143</sup> DELLA Pedro, *et al.* Op. cit

<sup>144</sup> CAÑAS Ana. Crenación, Hemólisis, Plasmólisis y Turgencia. Universidad Autónoma de Chiapas Facultad de Ciencias Químicas laboratorio de Biología Celular. 2015.

<sup>145</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Op. cit.

<sup>146</sup> BARRIENTOS A; GARCÍA., E Y AVITIA E. Anatomía del fruto de aguacate, ¿drupa o baya? Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo de México. 1196.

<sup>147</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Op. cit.

de soluto fuera de la célula lo que provoca que el agua salga de la célula por ósmosis tratando de encontrar el equilibrio en el medio<sup>148</sup>.

La figura 27 corresponde al tratamiento 3 en el día 8, el cual presentó en su estructura tejidos conductores que son importantes para el funcionamiento de la célula porque distribuyen agua y sustancias orgánicas, pero también son tejidos que hacen de soporte y que en conjunto forman el haz vascular (Hv) el cual forma una especie de red rodeado por parénquima el cual es un tejido de reserva de almidón<sup>149</sup>.

Finalmente la figura 28 pertenece al tratamiento 4 en el día 8 el cual presentó en su estructura mesocarpio (Me) donde se encontraron células normales, poliédricas, de tamaño variable, con paredes delgadas lignificadas, también se observó un pequeño reborde de pared vegetal (Pv) que permite que áreas amplias de citoplasma de las células vecinas estén en contacto y den a esta parte del fruto consistencia semejante a la de una esponja<sup>150</sup>. Así mismo se observó una plasmólisis celular durante este fenómeno se observó mayor pérdida de la integridad celular y la aparición de espacios intracelulares (Esp), lo cual afectó la vida útil de la ahuyama.

A los 8 días de almacenamiento, las células del epicarpio mostraron cambios considerables con relación al día cero, pues hay desintegración celular la cual inició en el exterior y luego avanzó hacia al interior del mesocarpio debido a una plasmólisis celular, la cual origina marchitez en el tejido y encogimiento de las células ya que hubo pérdida de agua y daños en la estructura de los componentes de la pared celular<sup>151</sup>, sin embargo a pesar de la desintegración celular el tratamiento 3 y 4 almacenados por 8 días mostraron una menor pérdida de peso en comparación con el tratamiento 1 lo que permite inferir que los cambios

---

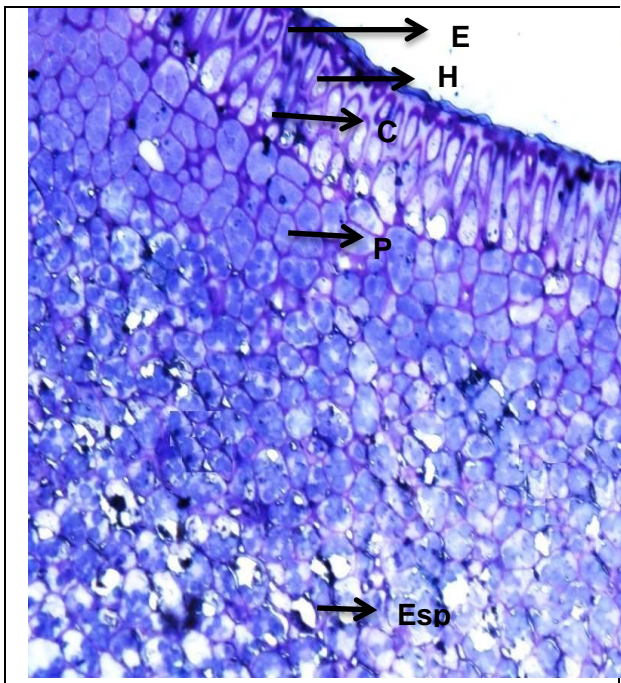
<sup>148</sup> CELORIO Francisco, GORDILLO Eduardo, RAMOS Joan, TREJO Alejandro y TRUJILLO Luis, *et al.* Cremación, hemólisis, plasmólisis y turgencia. Universidad autónoma de Chiapas Facultad de ciencias químicas. Extensión Ocozocoautla.2015

<sup>149</sup> MEGÍAS Manuel, MOLIST Pilar y POMBAL Manuel. Atlas de histología vegetal y animal tejidos vegetales. Conductores. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo.2014.

<sup>150</sup> ESAÚ Katherine, *et al.* Anatomía vegetal. Universidad de California.1976

<sup>151</sup> URÍAS V, RANGEL D; OSUNA., T SAÑUDO., A, BAEZ., M; VALDEZ., B; SILLER., J Y CAMPOS J *et al.* Estado hídrico y cambios anatómicos en la calabacita (*Cucúrbita pepo* L.) ALMACENADA. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (3): 221-228. 2012.

ocasionados no se debieron a la acción del recubrimiento sino a agentes externos como plasmólisis y lisis celular. Por otra parte el tratamiento 3 fue el que tuvo mayor integridad celular pues visto en el microscopio se logra observar en detalle su anatomía vegetal, lo cual pone de manifiesto la efectividad del recubrimiento como una alternativa para preservar la calidad y la frescura de los productos mínimamente procesados y prolongar su vida útil<sup>152</sup> al formar una capa delgada que se forma directamente sobre la superficie del alimento.



**Figura 24. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama, sin recubrir, tratamiento 1, día cero. Epidermis (E), Hipodermis (H), Colénquima (C), Parénquima (P) y espacios intercelulares (Esp). 40X**

<sup>152</sup> SARRIA, Saúl, *et al.* Op. cit.



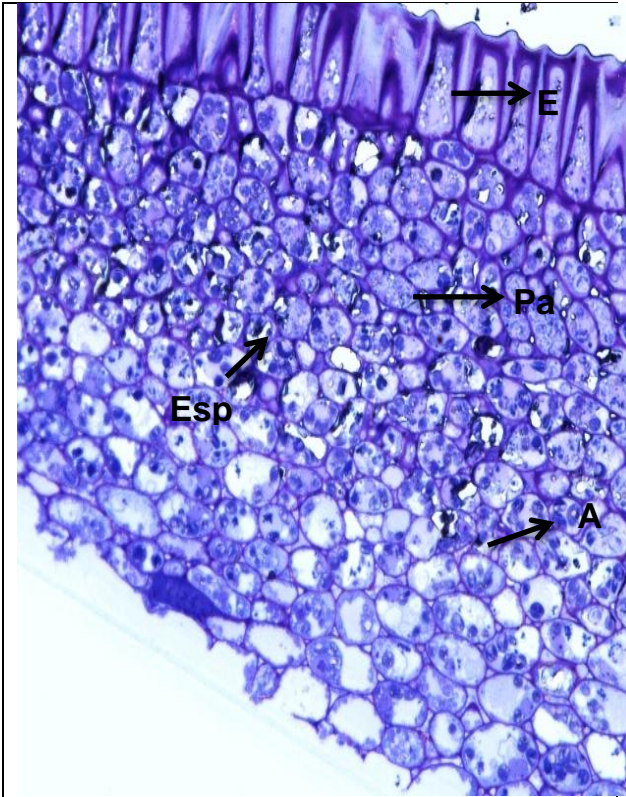


Figura 25. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 8. Parénquima (P), epidermis (E), almidón (A), Espacios intercelulares (Esp). 40X

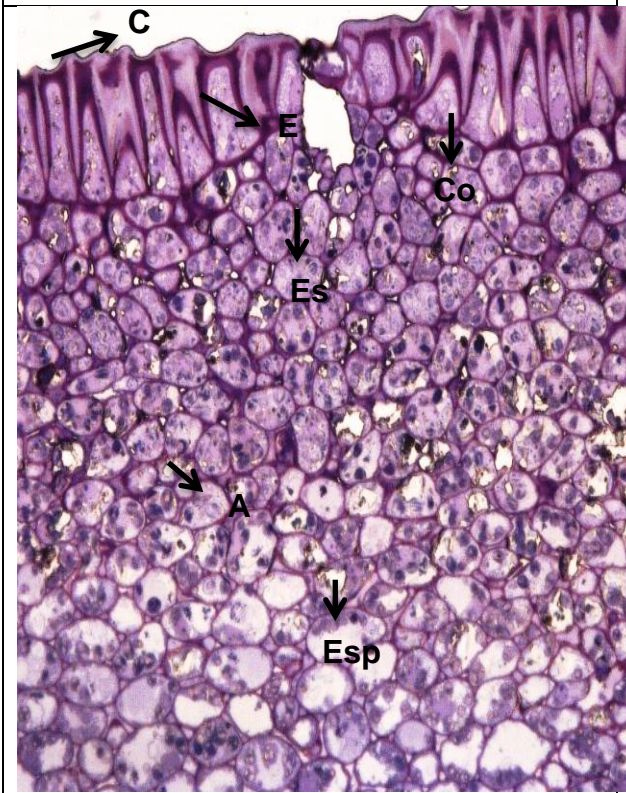


Figura 26. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,5 %, tratamiento 2, día 8. Cutícula (C), Epidermis (E), Esclerénquima (Es), Colénquima (Co), Espacios intercelulares (Esp) y Almidón (A). 40X

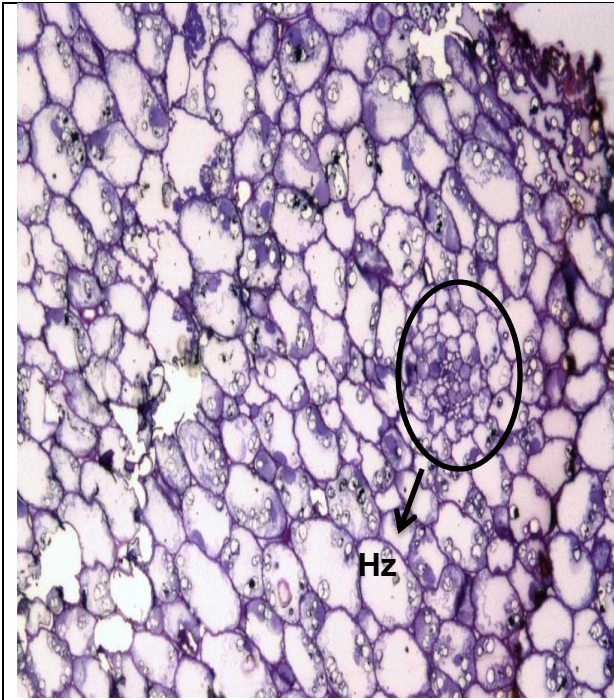


Figura 27. Figura 38. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama, recubiertos con aceite esencial de tomillo al 07 %, tratamiento 3, día 8. Cutícula (C), Epidermis (E), y parénquima (P). 40X.

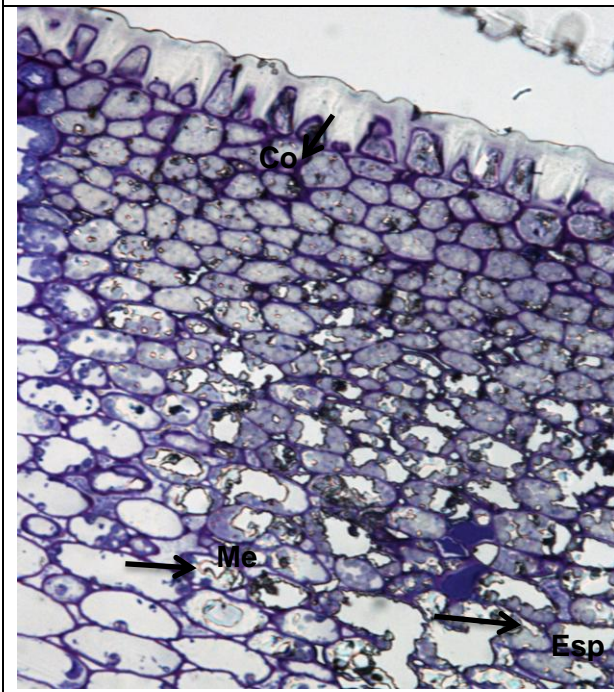


Figura 28. Micrografía óptica del epicarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 1%, tratamiento 4, día 8. Colénquima (Co), Espacios intercelulares (Esp) y Mesocarpio (Me). 40 X.

**3.2.2 Análisis de Microscopia Óptica de Alta Resolución en el mesocarpio (MOAR).** Por otra parte se hicieron pruebas de microscopia en el mesocarpio de la ahuyama (figuras 29 a 33) donde el tratamiento 1 en el día 0 presento células pétreas, que le dieron una textura granular, de estructura heterogénea<sup>153</sup>, alrededor habían gránulos de almidón (A) que son estrictamente de reserva y espacios intercelulares (Esp). Así mismo el tratamiento 1 en el día 8 presentó paredes delgadas que facilitan la comunicación entre células, parénquima de reserva (P) que almacena en su interior gránulos de almidón (A) y haces vasculares (Hv) los cuales están formados por xilema y floema que son tejidos de conducción de forma generalmente alargada ya que es en esta dirección donde se realiza el transporte de sustancias<sup>154</sup>. El tratamiento 2 en el día 8 mostró espacios intracelulares lisígenos (Esp) los cuales se forman por disolución de células enteras<sup>155</sup>, también hubo una lisis celular que desencadeno la ruptura de la membrana por lo cual se produjo la salida de material intracelular<sup>156</sup>, esto también se asocia con desintegración celular, muerte de las células y estrés por las operaciones de pelado y corte que la ahuyama sufrió previo a la realización de esta prueba<sup>157</sup>.

El tratamiento 3 en el día 8 mostro xilema de tipo traqueida (Xa) estas son células alargadas con forma de huso con células muertas y abundantes punteaduras, asimismo se observó que las paredes celulares adquirieron engrosamientos que tenían forma anular (anillos) de espesor variable el cual cumple funciones de conducción y sostén<sup>158</sup> igualmente se observaron gránulos de almidón de reserva (A). Por último el tratamiento 4 en el día 8 presentó haces vasculares (Hv) formados por xilema y floema que son tejidos conductores<sup>159</sup>.

---

<sup>153</sup> ESAÚ Katherine, *et al.* Op. cit.

<sup>154</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Op. cit.

<sup>155</sup> ESAÚ Katherine, *et al.* Op. cit.

<sup>156</sup> *Ibid.*

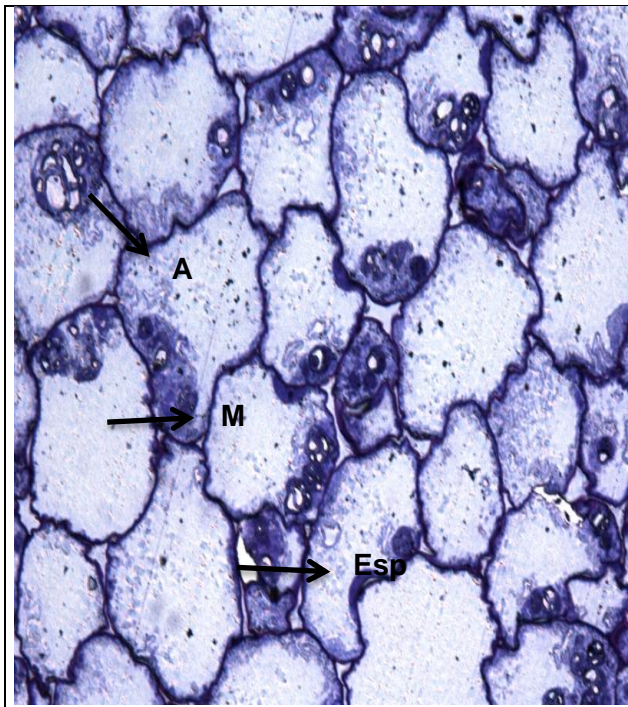
<sup>157</sup> CASAS N y CAEZ *et al.* Efecto de la aplicación de calcio bajo tratamiento térmico suave sobre la estabilidad del tejido de melón cantaloupe (*Cucumis melo*) fresco precortado. Universidad de la Sabana, Bogotá Colombia. 2011.

<sup>158</sup> UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Op. cit.

<sup>159</sup> TORRES M, A. La fisiología de la absorción y conducción de agua y minerales a través del xilema en plantas vasculares y el desarrollo de la inteligencia visual y espacial como propuesta para su aprendizaje. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Maestría en Enseñanza de las Ciencias Exactas y Naturales Bogotá, Colombia. 2012.



A los 8 días de almacenamiento, las células del mesocarpio no mostraron cambios considerables con relación al día cero, ni pérdida de integridad celular lo cual permite inferir el efecto favorable del recubrimiento al presentarse menor pérdida de integridad celular en los frutos debido a las propiedades de barrera que este ejerce<sup>160</sup>. Así mismo logro determinarse que el tratamiento 3 en el día 8 arrojó buenos resultados puesto que al ser observado a través del microscopio se logró apreciar su anatomía vegetal en más detalle en comparación con los otros tratamientos.



**Figura 29. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 0. Almidón (A), Mesocarpio (M) y Espacios intercelulares (Esp). 40X.**

---

<sup>160</sup> ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* O.p. cit.



Figura 30. Figura 41 Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama sin recubrir, tratamiento 1, día 8. Pared celular (Pc), Almidón (A), Haces vasculares (Hv). 40X

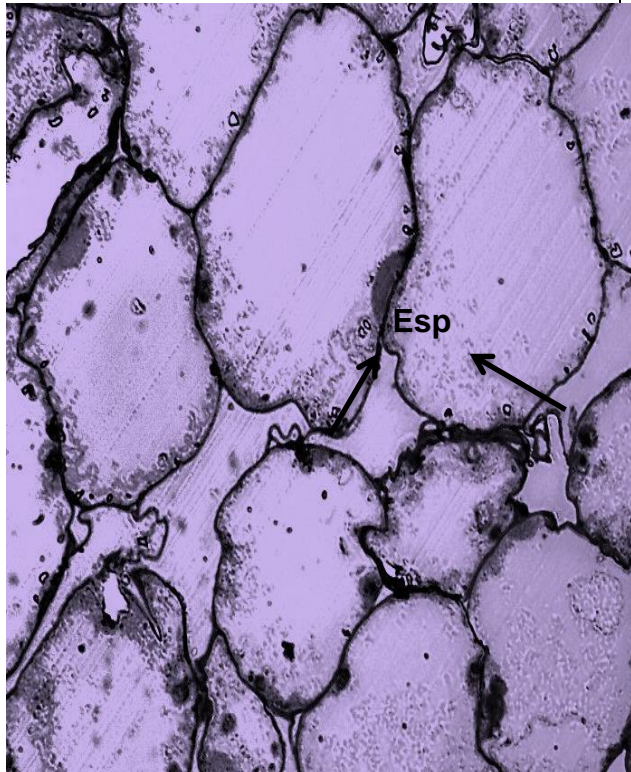


Figura 31. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,5 %, tratamiento 2, día 8. Espacios intercelulares (Esp). 40X



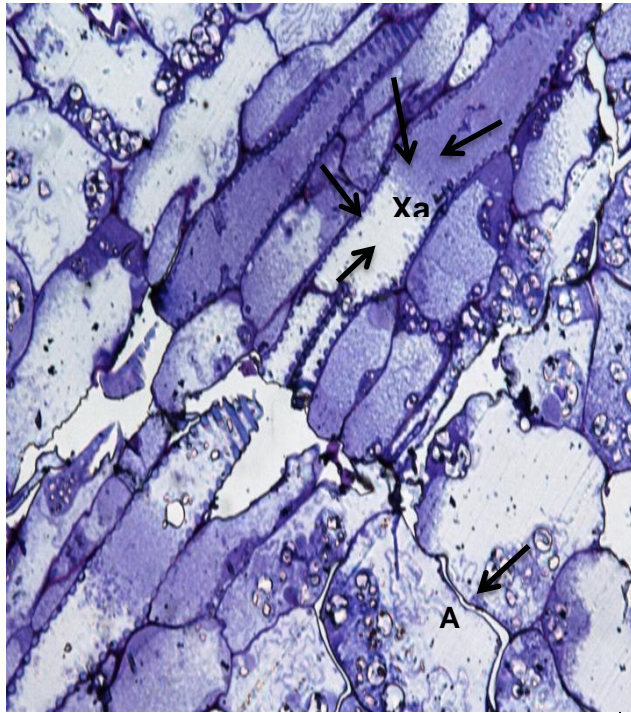


Figura 32. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 0,7 %, tratamiento 3, día 8. Xilema anular (Xa), Almidón (A). 40X

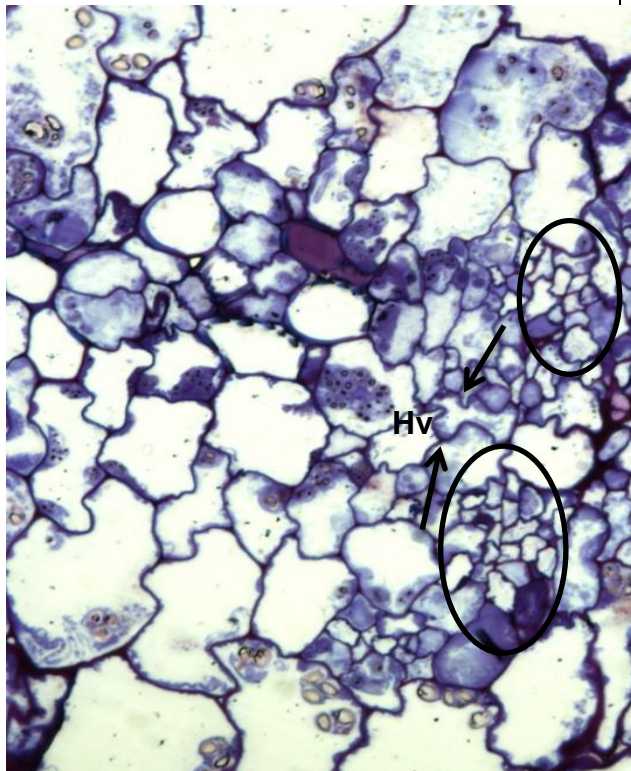
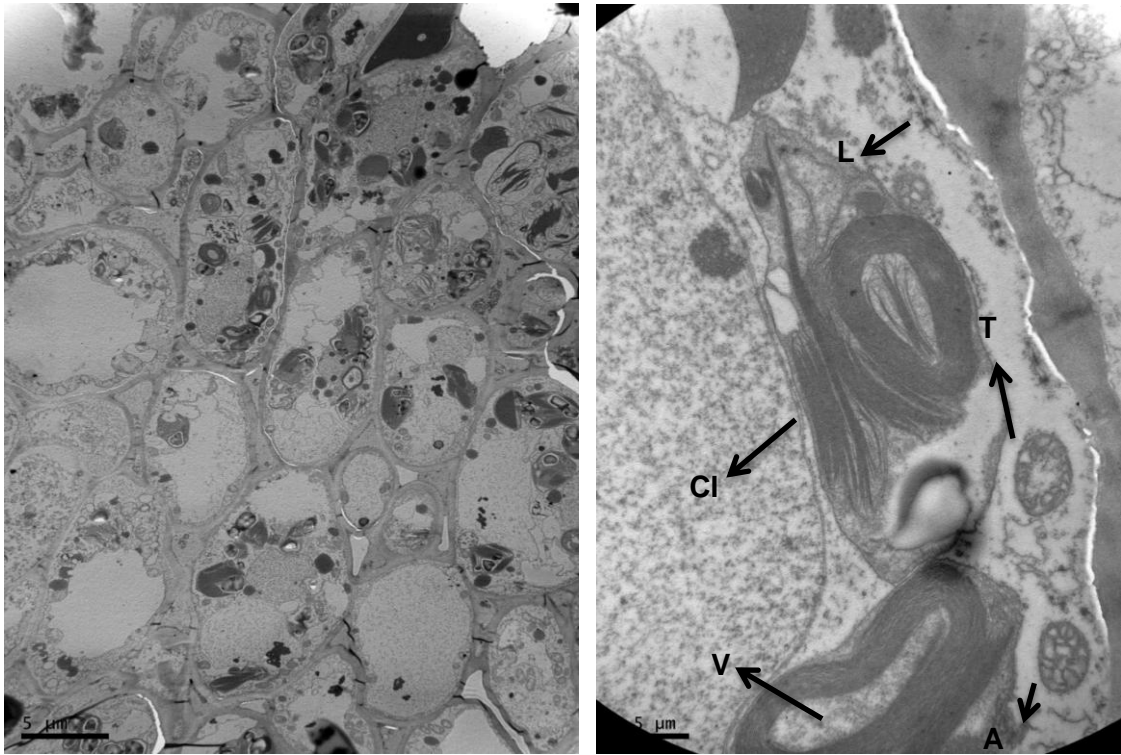


Figura 33. Micrografía óptica del mesocarpio en frutos de ahuyama recubiertos con aceite esencial de tomillo al 1%, tratamiento 4, día 8. Haces vasculares (Hv). 40X

**3.2.3 Análisis de Microscopia Electrónica de Transmisión en epicarpio (MET).** En términos generales se observaron vacuolas (V), mitocondrias (M), cloroplastos (C), reservas de almidón (A), y lípidos (L) (figuras 34 y 35). Las vacuolas (V) observadas eran grandes cisternas membranosas, de forma variable, en su interior almacenaban jugos celulares los cuales están compuestos principalmente por agua, ácidos como el ácido fólico y el ácido pantoténico en el caso de la ahuyama, así como también proteínas, carbohidratos, aceites y pigmentos (antocianinas y carotenoides) estos materiales pueden ser sustancias de reserva, azúcares o residuos metabólicos (la célula vegetal [Anónimo]). Las mitocondrias (M) observadas eran orgánulos grandes de forma variable puesto que son estructuras muy plásticas que se deforman, se dividen y fusionan, se presentaron en forma variable a través de los tratamientos siendo nula su presencia en algunos de ellos. Los cloroplastos (C) se encontraban situados en zonas próximas a la periferia, algunos eran ovoides y otros alargados, con doble membrana, la externa es lisa y a la interna se le asocian vesículas alargadas llamadas lamelas, sobre estas se depositan vesículas discoidales de color verde denominadas tilacoides (T) o granum que contienen pigmentos fotosintéticos (la célula: estructura y función [Anónimo]). El almidón (A) se encuentra presente como sustancia de reserva y se origina en los plastidios en especial en los cloroplastos. Estos sintetizan comúnmente almidón de asimilación, producto temporal que permanece en el plastidio durante el tiempo que haya un exceso de hidrato de carbono en la célula<sup>161</sup>. Los granos de almidón observados se encuentran mayormente juntos formando un grano compuesto.

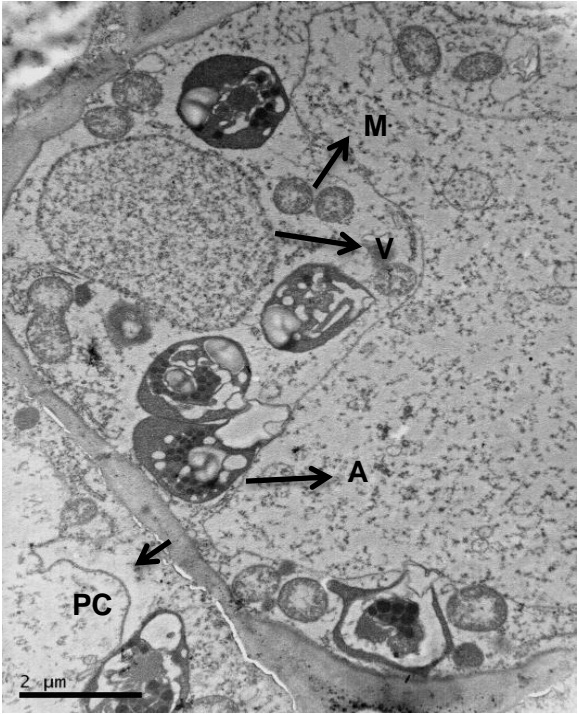
---

<sup>161</sup> ESAÚ Katherine, *et al.* Op. cit.



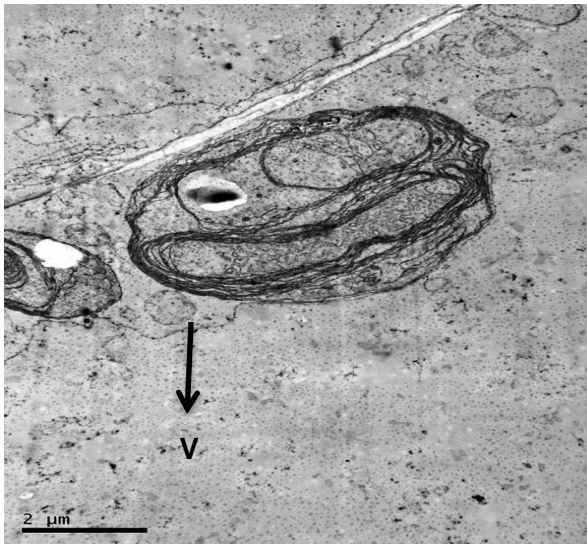
**Figura 34. Micrografía electrónica de corte transversal de células del pericarpio de ahuyama, tratamiento 1, día 8 donde se observa vacuolas (V), cloroplastos (C), reservas de almidón (A), y lípidos (L).**

**Figura 35. Micrografía electrónica de corte transversal de células del epicarpio de ahuyama, tratamiento 3, día 8 donde se observa Mitocondrias (M), Almidón (A), Vacuola (V) y pared celular (PC).**

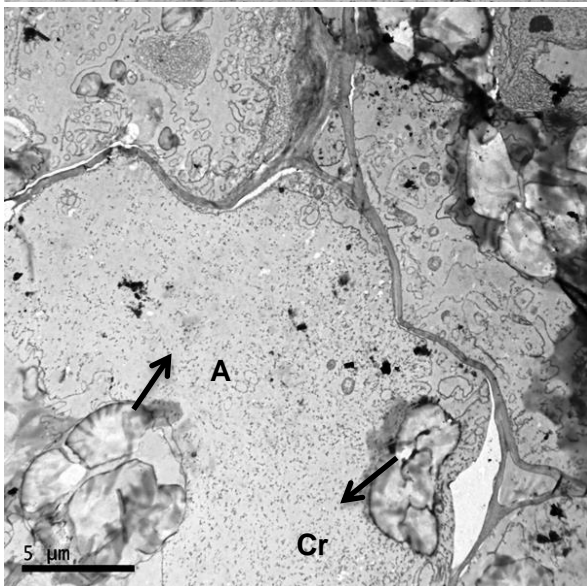




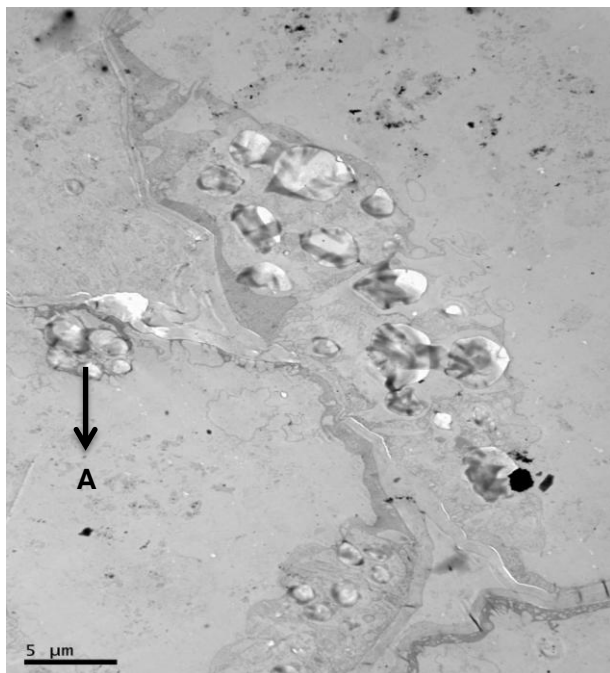
**3.2.4 Análisis de Microscopía Electrónica de Transmisión en mesocarpio de ahuyama (MET).** Se observaron gránulos de almidón (A), vacuolas (V) y cromoplastos (Cr) (figuras 36 a 38) los primeros es muy típico encontrarlos puesto que son sustancias de reserva que la célula almacena para el posterior desarrollo de sus actividades, así mismo este carbohidrato forma parte de la ahuyama, en tanto que los cromoplastos dan el color amarillo, característico de la ahuyama, ello se debe a que acumulan pigmentos carotenoides (la célula: estructura y función [Anónimo]) y las vacuolas (V) son importantes porque permiten controlar la turgencia, aspecto clave en esta investigación ya que un parámetro de respuesta clave para conocer la efectividad del recubrimiento.



**Figura 36. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 1, día 8, donde se observa vacuolas (V).**



**Figura 37. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 2, día 8, donde se observa almidones (A) y cromoplastos (Cr)**



**Figura 38. Micrografía electrónica de corte transversal de células del mesocarpio de ahuyama, tratamiento 2, día 8, donde se observa almidones (A).**

La anterior prueba permite inferir que el recubrimiento no afectó la estructura celular del mesocarpio puesto que se logró apreciar partes de la célula que son indispensables para el buen funcionamiento de la misma. Por otra parte y al concluir todas las pruebas se logró establecer que el uso de recubrimientos es una buena alternativa para preservar la calidad y la frescura de los productos y prolongar su vida útil<sup>162</sup>.

---

<sup>162</sup> SARRIA, Saúl, *et al.* Op. cit.

## CONCLUSIONES

El aceite esencial de tomillo no incidió sobre la pérdida de peso, firmeza, pH, sólidos solubles totales y pérdida de color, pero sí lo hizo sobre la aparición de contaminación microbiana y sobre la tasa de respiración al ejercer un efecto de barrera en combinación con el almidón de yuca modificado que aporta buenas propiedades contra la migración de vapor de agua.

La evaluación realizada permitió establecer que las concentraciones de 0,7% y 1% de aceite esencial de tomillo presentaron un mejor comportamiento sobre las variables de respuesta, ya que se observaron menores cambios, lo cual permite inferir que el aceite esencial de tomillo en estas concentraciones es una buena alternativa en la conservación de productos frescos

Las pruebas de microscopía permitieron establecer que el recubrimiento y el aceite esencial de tomillo no alteraron la integridad celular de la ahuyama, pues esta se observa intacta y conserva sus características inmunes, si bien es cierto se presentaron cambios estos se atribuyen al tiempo que desencadenan procesos fisiológicos propios de la ahuyama y en ningún caso al efecto del recubrimiento o el aceite esencial de tomillo.

El aceite esencial de tomillo reportó una importante actividad antifúngica en ahuyama debido posiblemente a la acción del carvacrol, esto resulta interesante en el campo de la poscosecha pues su uso puede ayudar a productos perecederos a conservar sus propiedades fisicoquímicas al tiempo que protege de agentes externos que afecten su calidad comercial.

Aunque estadísticamente los recubrimientos no ejercieron ningún efecto sobre los frutos, cabe anotar que ocurrieron cambios fisiológicos con su aplicación, permitiendo mayor tiempo de vida útil, como es el caso del T3 y T4 que generó cambios positivos en la pérdida de peso, oxígeno, sólidos solubles, luminosidad, parámetro a+ y análisis microbiológico, por el efecto del recubrimiento y la incorporación de aceite esencial de tomillo.

## RECOMENDACIONES

Se sugiere que para el almacenamiento de la ahuyama luego de aplicar el recubrimiento esta sea organizada en mallas con pequeños orificios para evitar el sobrenadante de recubrimiento que fomente el crecimiento de microorganismos no deseados y que el deterioro de la ahuyama.

Se recomienda implementar un sistema de secado para mitigar el exceso de humedad, y evitar el deterioro del producto.

Es importante para la correcta realización de pruebas microbiológicas disponer de material suficiente como cajas de Petri y medios de cultivo para la ejecución de la misma, si bien es cierto es costosa su elaboración, de esto dependerá el éxito y la confiabilidad de la prueba.

Se recomienda realizar un pretratamiento que permita controlar variables como humedad, temperatura, oxígeno, entre otras para garantizar la efectividad del recubrimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

ACOFARMA [en línea] 2009 [citado en agosto 31 de 2016]. Disponible en internet: <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/408613a7fe07629597df9e0d232a7707d11bf48fb03b/main/files/Tween.pdf>.

ACHIPIZ Sandra Marcela, CASTILLO Astrid, MOSQUERA Silvio, HOYOS José, NAVIA Diana *et al.* Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). En: Revista de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, edición especial, 2013, no. 2, p. 90 - 98. 2013.

AGRONET. Oferta nacional agropecuaria. [En línea] 2014. [Citado en febrero 27 de 2014] Disponible desde internet en: [https://www.agronet.gov.co/www/docs\\_agronet/201046112648\\_RESULTADOS\\_ENA\\_2014.pdf](https://www.agronet.gov.co/www/docs_agronet/201046112648_RESULTADOS_ENA_2014.pdf).

AGUILAR, M.M, *et al.* Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Coordinación General de Postgrados e Investigación. México D.F., México. 2005.

ALARCÓN, Alejandro, *et al.* Calidad Poscosecha de la ahuyama (*Cucúrbita máxima*) activada en sistemas ecológicos de fertilización. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Departamento de ingeniería rural. 2013.

ALCALDIA DE POPAYÁN. Nuestra geografía. [En línea] 2016. [Citado en agosto 31 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://popayan.gov.co/ciudadanos/popayán/nuestra-geografia>.

ALI, A.; Muhammad, M., Sijam K.; Siddiqui, Y, *et al.* Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya*) fruit during cold storage. Food Chemistry124: 620-626. 2011.

ÁLVAREZ Carlos; ARENAS.; Nayive; GARCÍA., Fermín; MARTÍNEZ Ana, *et al.* Evaluación del efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible en melones (*Cucumis melo L., var. Cantaloupe*) cortados y almacenados en refrigeración. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta, Departamento de Tecnología

de Alimentos, Departamento de Estadística, Boca del Río, Isla de Margarita, Venezuela, 2013.

ÁLVAREZ, Rafael, *et al.* Formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad poscosecha. Tesis doctoral. Universidad de Antioquia. Facultad de química farmacéutica, 2012.

ANDRADE, Johana C. Desarrollo de un recubrimiento comestible compuesto para la conservación del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* S.). Información tecnológica, vol. 25, no 6, p. 57-66. 2014.

ARCE Cristian Camilo. Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias departamento de química Bogotá, 2011.

BALDWIN E, *et al.* Edible coatings and films to improve food quality. Boca ratón: CRC Press, 2012.

BARCO, L, *et al.* Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca (*Monihot esculenta crantz*) modificado sobre la maduración del tomate de mesa (*Solanum lycopersicum*) bajo condiciones ambientales. En: Revista Lasallista de Investigación, 2011, vol. 8, no. 2. p. 96-103.

BARRERA, Elizabeth. Empleo de un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo poscosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. *Hawaiiana*). En: Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 2012, vol.65, p. 64.

BARRIENTOS A; GARCÍA., E Y AVITIA E. Anatomía del fruto de aguacate, ¿drupa o baya? Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo de México.1196.

BRADY, C.J. 1987. Fruit ripening. Anna. Rev. Plan Physiol. 38, 155-178. 1987.

BERBESÍ M; GUEVARA., L y TAPIA M. Calidad higiénica y patógenos asociados con melones mínimamente procesados expendidos en supermercados. Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. I Simposio Ibero-Americano de Vegetáis Frescos Cortados, San Pedro, SP Brasil. 2006.

BONILLA R. Determinación de la actividad enzimática de  $\alpha$  amilasa bacteriana (BAN 240 L). Universidad del Cauca, Popayán.2010.

BÓSQUEZ MOLINA E. “Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*).” Tesis de doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. México, 2010.

BOSQUEZ M, *et al.* Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en Fresco de Frutas y Hortalizas. España: Industria Alimentaria, 185 p, 2000.

BÓSQUEZ E. Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para la conservación de frutas. Rev. Mundo alimentario edición julio - agosto 2008. Pág. 28-31. 2008.

BROWNLEADER, M.; JACKSON, P.; MOBASHERI, A.; PANTELIDES, A.; SUMAR, S.; TREVAN, M.; DEY, P, *et al.* Molecular aspects of cell wall modification during fruit ripening. Critical Review in Food Science 39(2):149-164. 1999.

BRECHT J. Underground storage organs. In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Bartz J, J Brecht (Eds.). Editorial: Marcel Dekker Inc.: New York, 625-647.2003.

BRUMMELL D.A. Cell wall metabolism in fruit softening, quality, and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology* 47: 311-340 (2001).

CAGRI, A., USTUNOL, Z., and RYSER, E. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection* 67:833–848. 2004.

CAMPO RIVERA, Jeinst, *et al.* Encuentran hongos dañinos en zapallo. Universidad Nacional de Colombia. [En línea]. Julio 9 de 2011. Disponible desde internet en: <http://www.unperiodico.unal.edu.co/dper/article/encuentran-daninos-hongos-en-zapallo.html>.

CAÑAS Ana. Crenación, Hemólisis, Plasmólisis y Turgencia. Universidad Autónoma de Chiapas Facultad de Ciencias Químicas laboratorio de Biología Celular. 2015.

CHA, D.S., CHINNAN, M.S. Bipolymer-based antimicrobial packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 223-237, 2004.

CELORIO Francisco, GORDILLO Eduardo, RAMOS Joan, TREJO Alejandro y TRUJILLO Luis, *et al.* Cremación, hemólisis, plasmólisis y turgencia. Universidad autónoma de Chiapas Facultad de ciencias químicas. Extension Ocozocoautla.2015

CHIUMARELLI, M., Y HUBINGER M. Stability, Solubility, Mechanical and Barrier Properties of Cassava Starch – Carnuba Wax Edible Coatings to Preserve Fresh-cut Apples. *Food Hydrocolloids* 28, (1): 59–67. 2011.

CHORIANOPOULOS N.G, GIAOURIS E.D., SKANDAMIS, P.N., HAROUTOUNIAN, S.A, NYCHAS, G.J.E, *et al.* Disinfectant test against monoculture and mixed-culture biofilms composed of technological, spoilage and pathogenic bacteria: bactericidal effect of essential oil and hydrosol of *Satureja thymbra* and comparison with standard acid base sanitizers. *Journal of Applied Microbiology*, 104, 1586-1869, 2008.

CIMPA, Insumos y tecnología para la industria alimentaria. [En línea]. 2016 [citado en agosto 31 de 2016] Disponible en internet: <http://www.cimpaltda.com/modulo/quimicos/glicerina%20usp.pdf>.

CASAS N y CAEZ *et al.* Efecto de la aplicación de calcio bajo tratamiento térmico suave sobre la estabilidad del tejido de melón cantaloupe (*Cucumis melo*) fresco precortado. Universidad de la Sabana, Bogotá Colombia. 2011.

CASTRO, Andrea X. Efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en la calidad poscosecha de tomate de árbol (*solanum betaceum cav.*). Biblioteca digital EPN. 2013. Disponible desde internet en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/6103/1/CD-4809.pdf>.

CASTRO, Raúl Alberto; BLAIR, Gloria Helena. Evaluación fisicoquímica de la efectividad de un recubrimiento comestible en la conservación de uchuva (*Physalis peruviana L. var. Colombia*). En: *Revista Alimentos Hoy*, 2010, vol. 19, no 21, p. 16-34.

DEL-VALLE V, HERNÁNDEZ-MUÑOZ P, GUARDA A, GALOTTO MJ (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its



application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chem.* 91: 751-756.

DELLA Pedro, *et al.* Manual del cultivo del zapallo Anquito (*Cucúrbita moschata* Duch). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. San Juan.2013.

DOMÍNGUEZ, E, J A; HEREDIA-GUERRERO., A y HEREDIA. The biophysical design of plant cuticles: an overview. *New Phytol.* 189:938-949. 2011.

ESAÚ Katherine, *et al.* Anatomía vegetal. Universidad de California.1976.

FARAG, K. Enhancing ethephon effectiveness by modifying cuticular transport or stimulating ethylene production in cranberry fruit. Oh. D. thesis University of Wisconsin- Madison. PP 216.1989.

FERNÁNDEZ Natalia *et al.* Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimientos comestibles sobre el tomate (*solanum lycopersicum*). Universidad del Cauca, Popayán. 2014.

FIGUEROA, Jorge *et al.* Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva, al uso de propóleos en su formulación. En: *Rev. Colombiana cienc. Anim*, 2011, vol. 3, p. 23.

GARDE Gaizka. Cuantificación de la retención de Carvacrol y Eugenol durante la formación de películas comestibles activas. Universidad Pública de Navarra. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, 2013.

GÓMEZ – GALINDO, F; HERPPICH., W; GEKAS., V and SJOHOLM I, *et al.* Factor affecting quality and postharvest properties of vegetables: integration of water relations and metabolism. *Critical Review in Food Science and Nutrition* 44: 139-154, 2004.

GUILBERT, S. y BIQUET, B, *et al.* Technology and application of edible protective films. En "Food packaging and preservation". Editado por Mathlouthi, M. Ed. Elsevier. Londres. 1986.

HASSANI, A.; FATHI, Z.; GHOSTA, Y.; ABDOLAHI, A.; MESHKATALSADAT, M. H. and MARANDI, R. J, *et al.* Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. *J. Food Saf.* 32(1):94-101, 2012.

HORVÁTH, G. Essential oil composition of three cultivated thymus chemotypes from Hungary. J. of essential oils Research. JEOR, 2008. Disponible en: [indaarticles.com](http://indaarticles.com). 2006.

HURTADO B. La auyama: una hortaliza rica en potasio, calcio y vitamina A. [En línea] 2012. [Citado en septiembre 1 de 2014]. Disponible desde internet en: <http://m.avn.info.ve/contenido/auyama-una-hortaliza-rica-potasio-calcio-y-vitamina>.

JACKMAN R.L, STANLEY D.W. Perspectives in the textural evaluation of plant foods. Food Science and Technology 6: 187 -194, 1995.

JETTER R, L and KUNST, L SAMUELS. Composition of plant cuticular waxes. In: Biology of the Plant Cuticle. M Riederer, C Müller (eds). Julius-von-Sachs-Institut, für Biowissenschaften Universität Würzburg, Germany. pp: 145-175. 2006.

JIANG, YM, Li YB. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. En: Revista Food Chem, 2001, vol. 2, p. 39-143.

KADER, Adel *et al.* Tecnología Postcosecha de Cultivos Hortofrutícolas. Disponible en: <file:///C:/Users/peronal/Downloads/Capitulo%204.%20Biologi%CC%81a%20y%20tecnologi%CC%81a%20poscosecha.%20Un%20panorama.pdf>. 2002.

KADER, Adel. Índices de madurez, factores de calidad, normalización e inspección de productos hortícolas. pp. 49-58. En: Yahia, E. y C.I. Higuera (eds.). Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Limusa, México. 1992.

KESTER J.J. y FENNEMA, O.R. Edible Films and Coatings. A Review. Food Technology. 40: 47-59, 1986.

KUNST L, SAMUELS A L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. Prog. Lipid Res. 42:51-80. 2003.

\_\_\_\_\_ LA CÉLULA: Estructura y función. Disponible desde internet en: <http://eduteka.icesi.edu.co/gestorp/recUp/43b6a88358640e97d20e526f1b43d511.pdf>.

\_\_\_\_\_ LA CELULA vegetal. Disponible en internet en: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/labbiolvegetal/archivos/3%20La%20celula%20vegetal.pdf>

LÓPEZ DE LACEY, Ana María. Diseño, desarrollo y aplicación de envases comestibles potencialmente bioactivos. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de veterinaria. Departamento de Bromatología, Nutrición y tecnología de alimentos. 2013.

MAFTOONAZAD, N; RAMASWAMY, H. Postharvest shelf – live extension of avocados using methylcellulose – based coating. LWT – food Science and Technology 38 (6): 617 – 624, 2005.

MÁRQUEZ C, CARTAGENA, J. y PÉREZ, M. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.). Colombia. Vitae. 16(3):304-310. 2009.

MÁRQUEZ, Evelyn Rosa. Enfermedades. Conjunto Tecnológico para la Producción de Calabaza. Colegio de Ciencias Agrícolas. Estación Experimental Agrícola. Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. 2012.

MARTÍNEZ, Judith. Un tesoro percedero en México: el tomate, tecnologías para prolongar su vida de anaquel. En: Revista de la Universidad Autónoma de Aguascalientes, vol. 54, p. 42-48. 2012.

MARTÍNEZ, S. Caracterización y evaluación del potencial productivo de orégano (*Origanum Vulgare*) en el municipio de Mapimi, Durango. México: Universidad Autónoma Chapingo. 176 p, 1999.

MASTELIC I. Hydrodistillation–adsorption method for the isolation of water-soluble, non-soluble and high volatile compounds from plant materials. Talanta, Volume 76, Issue 4, 15 August 2008, Pp. 885-89. 2008.

MATIENKO. B.T.; Ob anatomy- morfologicheskoi prirode tsetka I ploda tykvennykh. [Sobre la naturaleza anatomicomorfológica de la flor y el fruto de las cucurbitáceas] en: Morfología y anatomía Rastenii. IV. Leningrado, Izdatel'stvo Akademii Nauk SSSR.1957.

MEGÍAS Manuel, MOLIST Pilar y POMBAL Manuel. Atlas de histología vegetal y animal tejidos vegetales. Conductore. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo.2014.

MEISSNER, F.; Die Korkbildung der Fruchte von Aesculus und Cuculis – Arten. Osterr. Bot. Ztschr.99:606-624. 1952.

MIHALIAK C.A. Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants. Implications for theories of plant chemical defense. Oecologia, 87, 373-376, 1991.

MIRAMONT Sofia. Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. Tesis de maestría en tecnología de los alimentos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires.2012

MONCAYO MARTÍNEZ, Diana Cristina. Aplicación de una dextrina como recubrimiento comestible en fresa (*Fragaria x ananases* L). Posgrado en ciencia y tecnología de alimentos. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional de Colombia. 2011. Disponible desde internet en: <http://www.aiquruguay.org/congreso/download/P79.pdf>

MORALES, M, *et al.* Generalidades y aplicación de películas y recubrimientos comestibles en la cadena hortofrutícola. Universidad autónoma agraria. Mexico.2011.

MORENO, Ana María. Sistema de exhibición y conservación de frutas estacionarias en supermercados. Cali (Colombia): Trabajo de agricultura, Facultad de Ingenierías, Universidad Ices, 2012.

MORENO H, PATIÑO N *et al.* Elaboración de un recubrimiento comestible antimicrobial y antioxidante a partir de aceite de orégano (*Origanum vulgare*) aplicado a la ensalada primavera mínimamente procesada de la empresa defrescura. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería de Alimentos Bogotá.2010.

MORILLON V, DEBEAUFORT F, BLOND G, CAPELLE M, and VOILLEY A, *et al.* Factors affecting the moisture permeability of lipid based edible films: A review Critical Review in Food Science and Nutrition 42: 67 – 89, 2002.

MOSQUERA SÁNCHEZ, Silvio Andrés. Fisiología de la maduración de las frutas. Primera edición. Popayán. Colombia 162-164p. 2010.

NIETO P. Atlas de histología vegetal y animal. [En línea]. 2010 [citado en julio 25 de 2014]. Disponible en internet: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>.

NYCHAS GJE. Natural antimicrobials from plants. En new Methods of Food Preservation. Gould G.W,5 Champman y Hall. London.1995

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Manual para el mejoramiento del manejo poscosecha de frutas y hortalizas. [En línea] 2014. [Citado en agosto 29 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://www.fao.org/docrep/x5055s/x5055S08.htm>.

PASCALL, M y LIN, S. J. The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. Food Procesing and Technology, 4(2), 1-2, 2013.

PASTOR NAVARRO Clara, *et al.* “Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación.” Tesis doctoral. Departamento de tecnología de alimentos. Universidad Politécnica de Valencia, 2010.

PERDOMO, Paola; INSUASTI, Alexandra. Efecto de recubrimiento a base de propóleos y proteína de soya sobre la calidad de la fresa (*Fragaria ananassa Duch*). Popayán (Colombia): trabajo de grado ingeniería agroindustrial, facultad de ciencias agrarias, Universidad del Cauca. 2015.

PERDONES A, SÁNCHEZ L, CHIRLAT A. and VARGAS M, *et al.* Effect of chitosan- lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. Postharvest Biol. Technol. 70:32-41 pp, 2012.

PÉREZ, B, y BAEZ, R, *et al.* Utilización de ceras comestibles en la conservación de frutas. Alimentaria, julio-agosto, 2011.

PÉREZ, M.B.; DEL RÍO, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles en frutas y Hortalizas en: Horticom. vol.11, no. 207, p. 54-57, 2008.

PINEDA, L. y SOLÍS, D. Efecto de la aplicación de un recubrimiento de almidón hidrolizado de yuca (*manihot sculenta crantz*) sobre la maduración del aguacate (*Persea americana* Miller) variedad Hass. Trabajo de grado (Ingeniería Agroindustrial). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Agroindustria. Popayán, 2011, p. 30-43.

PONCE, A. G., ROURA S. I., DEL VALLE C. E., MOREIRA M. R, *et al.* 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. 2008.

PONTIGO A.; TREJO M. y LIRA A *et al.* Desarrollo de un recubrimiento con efecto antifúngico y antibacterial a base de aceite esencial de orégano para conservación de papaya “ maradol”. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 2015.

POTTER, Steven. *Ciencia de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia, 5 ed. p. 178, 2001.

QUINTERO CERÓN J.; FALGUERA PASCUAL V. y MUÑOZ HERNÁNDEZ J, *et al.* Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga* 5, 93-118, 2010.

RAGLAND, C, H. The development of the peach fruit, with special reference to split-pit and gumming. *Amer. Soc. Hort. Sci. Proc.* 31:1 -21. 1934.

RAYBAUDI-MASSILIA, R., MOSQUEDA-MELGAR, J., and BELLOSO Martín, O, *et al.* 2008. Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf life and safety of fresh cut melon. *International Journal of Food Microbiology* 121:313-327.

RESTREPO J y ARISTIZÁBAL I. Conservación de fresa (*fragaria x ananassa duch* cv. camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera de carnauba. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 252-263. 2010.

RODRÍGUEZ, Michael. Evaluación agronómica y fisiológica del cultivo de ahuyama (*Cucúrbita moshata*): influencia del sistema de cultivo en condiciones salinas y del manejo de riego con altas temperaturas medioambientales. Tesis

Doctoral. Universidad Miguel Hernández de Elche. Departamento de tecnología agroalimentaria, 2013.

ROJAS-GRAÜ, M.A, y BELLOSO Martín, O. The use of packaking techniques to maintain freshness in fresh cut fruits and vegetables: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 4, 875-889. 2009.

ROJAS-GRAÜ, M.A, *et al.* Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis doctoral. Universidad de Lleida.2009.

SALAZAR Alexis y GAMBOA Alicia. Importancia de las pectinas en la dinámica de la pared celular durante el desarrollo vegetal. Departamento de Ecología Funcional, Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal, México.2013.

SAMS C.E. Preharvest factors affecting postharvest texture. *Postharvest Biology and Technology* 15: 249 – 254. 1999

SÁNCHEZ-GONZALES L, VARGAS, C GONZALES-MARTINEZ, *et al.*” Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimento.” VIII Congreso SEAE Bullas, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, 2008.

SARRIA, Saúl, *et al.* Efecto del recubrimiento comestible sobre los atributos físico-químicos de mango `Tommy Atkins´ mínimamente procesado y refrigerado. Palmira (Colombia). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Administración, Departamento de Ingeniería, 2014.

SOTO, E.; MORENO, J.; ESTARRÓN, M.; GARCÍA, J. y OBLEDO, E, *et al.* Composición química y actividad fungicida del aceite esencial de *Thymus vulgaris*L. Contra *Alternaria* Citri. México. *Rev. Dig. Científ. Tecnol.* 4:1-8, 2006.

Stahl-Biskup, E. and Saez, F. Thyme: the genius *Thymus* [online]. CRC Press, 2002. P. 330. Disponible en: <http://books.google.com/books/about/Thyme.html?id=9jnpVP6fvUIC>.

\_\_\_\_\_ TEJIDO DE protección: Tejido epidérmico o epidermis origen y células epidérmicas. 2012. disponible desde internet en: [http://anatomiavegetal.weebly.com/uploads/8/0/2/3/8023705/5.\\_tejidos\\_de\\_proteccion\\_1rio\\_cel\\_epidrmicas.pdf](http://anatomiavegetal.weebly.com/uploads/8/0/2/3/8023705/5._tejidos_de_proteccion_1rio_cel_epidrmicas.pdf).

TIMOTEO, N. Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifera* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis aobrusca* L.). En: *Food Microbiology*, vol.32, p.345-353. 2012.

TORRES M, A. La fisiología de la absorción y conducción de agua y minerales a través del xilema en plantas vasculares y el desarrollo de la inteligencia visual y espacial como propuesta para su aprendizaje. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias, Maestría en Enseñanza de las Ciencias Exactas y Naturales Bogotá, Colombia. 2012.

TRIVIÑO OROZCO, Pedro Pablo. Corporación de Abastos de Bogotá S.A - CORABASTOS-. Información anual de precios de mercado mayorista, calidad extra. [En línea] 20 de mayo de 2014. Disponible desde internet en: [precios@corabastos.com.co](mailto:precios@corabastos.com.co).

UNIVERSIDAD DEL CAUCA, *et al.* Unidad de Microscopía Electrónica. Servicio tarifas-equipos. Recuperado de <http://www.microscopia.unicauca.edu.co/servicios.htm>.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA. El zapallo poderosa fuente de carotenoides. [En línea] 2014. [Citado en agosto 4 de 2014]. Disponible desde internet en: <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/el-zapallo-poderosa-fuente-de-carotenoides.html>.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE. Morfología de plantas vasculares. [En línea] 2017. [Citado en mayo de 2016]. Disponible desde internet en: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/PROG2002.htm>.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA. Parénquima, colénquima y esclerénquima. [En línea] 2017. [Citado en 2016]. Disponible desde internet en: [http://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4/863437/4\\_parnq\\_colnq\\_esclernq.pdf](http://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4/863437/4_parnq_colnq_esclernq.pdf)

UQUICHE CARRASCO, Edgar; VILLARROEL TUDESCA., Mario y CISNEROS ZEVALLOS Luis. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial



de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L) durante el almacenamiento. Facultad de Ingeniería, Ciencias y administración. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile.2002.

URÍAS V, RANGEL D; OSUNA., T SAÑUDO., A, BAEZ., M; VALDEZ., B; SILLER., J Y CAMPOS J *et al.* Estado hídrico y cambios anatómicos en la calabacita (*Cucúrbita pepo* L.) ALMACENADA. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (3): 221-228. 2012.

VALLEJO CABRERA, Francisco Alirio; ESTRADA SALAZAR, Edgar Iván. Producción de hortalizas de clima cálido. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Diciembre de 2008.

VAROQUAUX P, R. 1994. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetable. In: Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables. Wiley RC (ed.), Editorial: Chappman and Hall: New York, pp. 226-268.1994.

YANISHLIEVA Emma, et al, Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. Food Chemistry, Volume 81, Issue 2, 2003, Pp. 189-197, 1999.

## **ANEXOS**

**Anexo A.**  
**DATOS PROMEDIO DE LAS TRES RÉPLICAS**

**Tabla 1. Promedio de los datos para pérdida de peso (%) en los tratamientos.**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		2	4	6	8
<b>T1</b>	R1	0	7,44	20,21	34,04
	R2	0	13,83	19,15	24,46
	R3	0	9,47	23,16	30,53
<b>T2</b>	R1	0	13,98	21,50	28,49
	R2	0	10,53	20,0	29,47
	R3	0	9,57	21,27	30,85
<b>T3</b>	R1	0	9,50	18,08	32,23
	R2	0	6,25	13,54	22,92
	R3	0	10,53	21,05	29,47
<b>T4</b>	R1	0	5,26	22,10	37,89
	R2	0	10,53	26,31	44,21
	R3	0	12,37	27,83	32,98

**Tabla 2. Promedio de los datos para tasa de respiración CO<sub>2</sub> (%) en los tratamientos.**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		2	4	6	8
<b>T1</b>	R1	3,5	8,0	11,7	11,6
	R2	1,9	9,5	8,6	10,2
	R3	2,6	8,8	9,5	12,3
<b>T2</b>	R1	3,4	4,7	9,6	8,9
	R2	3,5	6,3	5,4	4,2
	R3	3,1	4,7	6,1	5,7
<b>T3</b>	R1	3,6	4,9	10,1	10,2
	R2	2,9	3,8	8,7	9,8
	R3	2,7	4,5	9,6	9,4
<b>T4</b>	R1	2,4	5,3	8,0	8,1
	R2	2,3	6,0	8,1	7,7
	R3	3,8	4,7	5,8	6,3

**Tabla 3. Promedio de los datos para tasa de respiración O<sub>2</sub> (%) en los tratamientos.**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	13,6	12,1	11,8	11,2
	R2	14,8	12,5	11,1	10,3
	R3	15,3	13,6	12,4	9,2
<b>T2</b>	R1	13,9	12,9	11,7	10,9
	R2	15,3	14,3	11,7	10,6
	R3	14,7	13,1	11,7	10,1
<b>T3</b>	R1	14,1	13,8	12,7	9,6
	R2	15,3	15,7	12,2	11,4
	R3	15,1	14,7	11,9	10,3
<b>T4</b>	R1	13,8	13,2	12,7	10,1
	R2	14,3	12,1	11,7	9,3
	R3	14,9	12,1	11,5	9,8

**Tabla 4. Promedio de los datos de sólidos solubles totales (°Brix)**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	7,23	7,81	9,10	9,5
	R2	7,35	7,72	8,81	9,0
	R3	7,22	7,40	9,0	9,40
<b>T2</b>	R1	7,23	7,96	9,63	9,79
	R2	7,40	7,87	9,81	8,91
	R3	7,30	7,50	8,92	9,4
<b>T3</b>	R1	7,40	7,9	10,10	10,60
	R2	7,30	7,6	10,30	10,70
	R3	6,90	7,3	9,40	9,90
<b>T4</b>	R1	7,30	8,0	10,20	10,70
	R2	7,40	7,53	10,40	10,90
	R3	6,90	6,83	8,91	9,98

**Tabla 5. Promedio de los datos de pH.**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	6,80	7,0	7,73	7,80
	R2	6,9	7,2	7,6	8,0
	R3	6,97	7,3	7,5	8,0
<b>T2</b>	R1	6,76	7,16	7,53	7,60
	R2	6,8	6,9	7,4	7,6
	R3	6,9	6,9	7,4	7,5
<b>T3</b>	R1	6,90	7,10	7,5	7,8
	R2	6,9	7,2	7,5	7,7
	R3	6,80	6,27	7,3	7,6
<b>T4</b>	R1	6,9	7,2	7,6	8,0
	R2	7,0	7,3	7,3	8,0
	R3	6,97	7,17	7,3	7,4

**Tabla 6. Promedio de los datos de firmeza (N).**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	55,0850	55,3500	46,9025	39,3025
	R2	59,0175	42,9500	35,6425	42,0125
	R3	60,4250	64,5750	49,7075	32,8050
<b>T2</b>	R1	72,3500	63,2000	41,5150	608500
	R2	51,4250	61,6750	58,2350	61,5000
	R3	76,8750	66,1250	59,0500	54,0300
<b>T3</b>	R1	57,4700	53,2150	26,8950	29,5450
	R2	58,0500	54,6925	42,9950	73,4750
	R3	50,5975	30,2300	44,0100	44,4525
<b>T4</b>	R1	83,1000	69,2250	27,4900	69,2250
	R2	79,6500	61,6250	66,5000	18,5200
	R3	36,3600	25,0850	71,6500	53,1475

**Tabla 7. Promedio de los datos de índice de color, luminosidad (L)**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	72,150	71,640	63,820	67,00
	R2	72,080	69,050	63,050	54,570
	R3	73,490	69,210	66,020	65,820
<b>T2</b>	R1	72,680	63,380	58,530	54,190
	R2	73,680	64,320	60,150	59,050
	R3	74,240	66,180	61,860	57,390
<b>T3</b>	R1	74,58	63,260	60,860	59,630
	R2	72,060	64,240	60,060	59,780
	R3	75,950	77,440	66,390	57,220
<b>T4</b>	R1	74,870	65,330	62,310	58,400
	R2	74,113	73,720	70,220	67,910
	R3	75,410	65,330	60,040	58,400

**Tabla 8. Promedio de los datos de índice de color, parámetro A+**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	62,75	62,08	60,20	56,30
	R2	64,40	62,05	61,10	58,87
	R3	63,35	63,85	59,79	58,17
<b>T2</b>	R1	62,50	63,95	59,30	56,44
	R2	63,81	64,95	61,40	56,44
	R3	62,89	62,98	60,32	55,35
<b>T3</b>	R1	63,93	64,18	60,99	58,26
	R2	64,20	63,10	61,49	54,27
	R3	64,12	62,16	63,97	57,63
<b>T4</b>	R1	63,11	64,67	60,66	56,19
	R2	63,20	63,89	60,08	55,36
	R3	63,92	64,14	63,20	56,37

**Tabla 9. Promedio de los datos de índice de color, parámetro B+**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	58,06	53,91	49,38	48,16
	R2	58,99	52,58	50,07	46,38
	R3	57,03	52,42	47,55	42,53
<b>T2</b>	R1	57,31	52,50	46,67	40,31
	R2	58,51	50,72	44,28	40,83
	R3	55,40	50,15	44,84	37,17
<b>T3</b>	R1	57,41	52,29	40,17	41,53
	R2	56,20	52,19	44,36	40,27
	R3	55,85	41,82	39,70	36,34
<b>T4</b>	R1	56,19	48,63	45,75	41,38
	R2	55,71	50,54	48,65	39,66
	R3	56,49	53,92	50,37	47,37

**Tabla 10. Promedio de los datos de índice de color, parámetro ángulo de matiz (h)**

<b>DÍAS DE SEGUIMIENTO</b>					
<b>TRATAMIENTO</b>		<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>8</b>
<b>T1</b>	R1	72,19	69,67	58,95	45,80
	R2	71,19	65,42	58,63	50,06
	R3	74,14	71,08	60,63	57,80
<b>T2</b>	R1	71,73	70,25	68,44	65,74
	R2	71,65	68,36	65,67	62,76
	R3	70,69	64,39	59,27	54,30
<b>T3</b>	R1	70,89	66,40	60,64	55,55
	R2	70,20	65,88	62,35	52,53
	R3	72,35	68,43	63,67	57,69
<b>T4</b>	R1	71,92	65,56	54,09	47,75
	R2	73,13	70,94	69,37	65,03
	R3	71,52	68,19	66,56	63,75

**Anexo B.**  
**Análisis Estadístico para pérdida de Peso**

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 1. ANOVA para la pérdida de peso**

Análisis de varianza para % PERDIDA DE PESO, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	135,47	135,47	45,16	5,08	0,005
TIEMPO	3	6698,07	6698,07	2232,69	251,23	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	164,11	164,11	18,23	2,05	0,065
Error	32	284,38	284,38	8,89		
Total	47	7282,03				

S = 2,98109    R-cuad. = 96,09%    R-cuad. (ajustado) = 94,26%

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 11. Método LSD comparación de medias para pérdida de peso**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 8,89. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0,025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{MC * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$



$$LSD = 2,04 \sqrt{8,89 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 2,486$$

**Tabla 12. Aplicación de la prueba LSD para pérdida de peso para el día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,0<2,483	No significativa
T1-T3	0,0<2,483	No significativa
T1-T4	0,0<2,483	No significativa
T2-T3	0,0<2,483	No significativa
T2-T4	0,0<2,483	No significativa
T3-T4	0,0<2,483	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN Días-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=\alpha/2, ab(n-1)} = \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{8,89 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 4,966$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 13. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 1,113 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,486 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,860 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,6 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,073 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,626 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 14. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,083 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,283 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 4,573 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,366 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 4,49 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 7,856 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa

**Tabla 15. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,073 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,47 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 8,683 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,396 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 8,756 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 10,153 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa

## Anexo C. Análisis Estadístico para Tasa de Respiración

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 10 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

**Figura 2. ANOVA para porcentaje de CO<sub>2</sub> en los tratamientos.**

Análisis de varianza para % CO<sub>2</sub>, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	54,736	54,736	18,245	13,56	0,000
TIEMPO	3	255,889	255,889	85,296	63,41	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	47,454	47,454	5,273	3,92	0,002
Error	32	43,047	43,047	1,345		
Total	47	401,125				

S = 1,15983    R-cuad. = 89,27%    R-cuad. (ajustado) = 84,24%

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 16. Método LSD para tasa de respiración para tasa de respiración**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 1,345. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{1,345 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 0.966$$

**Tabla 17. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,667<0,966	No significativa
T1-T3	0,4 <0,966	No significativa
T1-T4	0,167<0,966	No significativa
T2-T3	0,267<0,966	No significativa
T2-T4	0,5 <0,966	No significativa
T3-T4	0,233<0,966	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{1,345 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 1,932$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 18. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 3,533 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 4,367 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,433 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,833 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0, < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,933 < LSD_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 19. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 2,9 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,467 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,633 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,433 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,267 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,167 > LSD_{B2(T)}$	Significativa

**Tabla 20. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 5,100 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,567 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 4,00 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,533 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,1 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,433 > LSD_{B2(T)}$	Significativa

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

### Figura 3. ANOVA para porcentaje de O<sub>2</sub> en los tratamientos

Análisis de varianza para % O<sub>2</sub>, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	5,9506	5,9506	1,9835	4,17	0,013
TIEMPO	3	126,5973	126,5973	42,1991	88,72	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	5,3969	5,3969	0,5997	1,26	0,295
Error	32	15,2200	15,2200	0,4756		
Total	47	153,1648				

S = 0,689656    R-cuad. = 90,06%    R-cuad. (ajustado) = 85,41%

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 21. Método LSD para tasa de respiración.**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 0,4756. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$\text{LSD} = 2,04 \sqrt{0,4756 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$\text{LSD} = 0,574$$

**Tabla 22. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,0666<0,574	No significativa
T1-T3	0,266<0,574	No significativa
T1-T4	0,233 <0,574	No significativa
T2-T3	0,2<0,574	No significativa
T2-T4	0,300 <0,574	No significativa
T3-T4	0,500<0,574	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{0,4756 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$\mathbf{LSD = 1.149}$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 23. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,699 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,999 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,266 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,3 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,966 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,266 > LSD_{B2(T)}$	Significativa

**Tabla 24. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,066 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,900 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,2 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,967 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,266 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,700 < LSD_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 25. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,3 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,2 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,499 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,1 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,799 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,699 < LSD_{B2(T)}$	No significativa



**Anexo D.**  
**Análisis Estadístico para Sólidos Solubles (° BRIX)**

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 4. ANOVA para sólidos solubles.**

Análisis de varianza para °BX CORREGIDOS, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	1,8998	1,8998	0,6333	4,15	0,014
TIEMPO	3	64,6665	64,6665	21,5555	141,23	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	3,8218	3,8218	0,4246	2,78	0,016
Error	32	4,8842	4,8842	0,1526		
Total	47	75,2723				

S = 0,390680    R-cuad. = 93,51%    R-cuad. (ajustado) = 90,47%

**Método LSD comparación de medias**

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 26. Método LSD para sólidos solubles (° brix).**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 0,1565. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$\text{LSD} = 2,04 \sqrt{0,1565 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$\text{LSD} = 0,329$$

**Tabla 27. Aplicación de la prueba LSD para sólidos solubles día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,043<0,329	No significativa
T1-T3	0,0 <0,329	No significativa
T1-T4	0,066<0,329	No significativa
T2-T3	0,043<0,329	No significativa
T2-T4	0,11<0,329	No significativa
T3-T4	0,066<0,329	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$\text{LSD}_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$\text{LSD}_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{0,1565 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$\text{LSD} = 0,659$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 28. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,133 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,043 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,19 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,176 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,323 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,146 < LSD_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 29. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,483 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,963 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,866 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,48 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,383 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,096 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 30. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8.**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,066 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,4 < LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,226 < LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,033 < LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,160 < LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,126 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

## Anexo E. Análisis Estadístico para pH

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 5. ANOVA para pH.**

Análisis de varianza para pH, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	0,50032	0,50032	0,16677	3,32	0,032
TIEMPO	3	6,01727	6,01727	2,00576	39,98	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	0,24088	0,24088	0,02676	0,53	0,839
Error	32	1,60540	1,60540	0,05017		
Total	47	8,36387				

S = 0,223984    R-cuad. = 80,81%    R-cuad. (ajustado) = 71,81%

### Método LSD comparación de medias

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 31. Método LSD para pH.**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 0,03197. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0,025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{0,03197 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 0,148$$

**Tabla 32. Aplicación de la prueba LSD para pH día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,07 < 0,148	No significativa
T1-T3	0,023 < 0,148	No significativa
T1-T4	0,076 < 0,148	No significativa
T2-T3	0,046 < 0,148	No significativa
T2-T4	0,146 < 0,148	No significativa
T3-T4	0,299 > 0,148	Significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{0,03197 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 0,298$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 33. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,18 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,31 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,09 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,13 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,27 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,4 > LSD_{B2(T)}$	Significativa

**Tabla 34. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,166 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,176 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,21 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,01 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,043 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,033 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 35. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,366 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,233 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,2 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,133 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,166 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,033 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Anexo F.  
Análisis Estadístico para Firmeza (N)**

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 6. ANOVA para firmeza**

Análisis de varianza para FIRMEZA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	1384,8	1384,8	461,6	1,94	0,142
TIEMPO	3	1547,3	1547,3	515,8	2,17	0,111
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	631,5	631,5	70,2	0,30	0,971
Error	32	7599,6	7599,6	237,5		
Total	47	11163,2				

S = 15,4106    R-cuad. = 31,92%    R-cuad. (ajustado) = 0,01%

**Método LSD comparación de medias**

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 36. Método LSD para firmeza**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 237,5. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{237,5 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 12, 835$$

**Tabla 37. Aplicación de la prueba LSD para firmeza día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	8,707 < 12, 835	No significativa
T1-T3	2,803 < 12, 835	No significativa
T1-T4	8,194 < 12, 835	No significativa
T2-T3	11,5 < 12, 835	No significativa
T2-T4	0,513 < 12, 835	No significativa
T3-T4	10,997 < 12, 835	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{237,5 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 25,669$$



Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 38. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 9,375 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 8,246 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,213 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 17,621 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 11,588 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 6,032 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 39. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 8,849 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 6,117 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 11,129 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 14,966 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,28 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 17,2466 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 40. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 20,803 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 11,119 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 8,924 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 9,693 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 11,879 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,195 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa

## ANEXO G. Análisis Estadístico para Índice de Color

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 7. ANOVA para el parámetro L.**

Análisis de varianza para PARÁMETRO L, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	95,21	95,21	31,74	2,24	0,103
TIEMPO	3	1326,82	1326,82	442,27	31,19	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	50,46	50,46	5,61	0,40	0,928
Error	32	453,73	453,73	14,18		
Total	47	1926,22				

S = 3,76552    R-cuad. = 76,44%    R-cuad. (ajustado) = 65,40%

### Método LSD comparación de medias

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 41. Método LSD para el parámetro L**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 14,18. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{14,18 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 3,136$$

**Tabla 42. Aplicación de la prueba LSD para el parámetro L día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,96<3,136	No significativa
T1-T3	1,62<3,136	No significativa
T1-T4	2,22<3,136	No significativa
T2-T3	0,663<3,136	No significativa
T2-T4	1,264<3,136	No significativa
T3-T4	0,601<3,136	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * (\frac{1}{n} + \frac{1}{n})}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{14,18 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 6,272$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 43. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 5,34 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,653 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,84 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,686 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,5 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,186 < LSD_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 44. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 4,116 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,86 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,106 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,256 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 4,01 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,75 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 45. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 5,586 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,586 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,89 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 4,693 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,693 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 8. ANOVA para el parámetro B +.**

Análisis de varianza para PARÁMETRO B, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	155,39	155,39	51,80	8,21	0,000
TIEMPO	3	1527,50	1527,50	509,17	80,67	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	67,27	67,27	7,47	1,18	0,338
Error	32	201,98	201,98	6,31		
Total	47	1952,15				

S = 2,51237 R-cuad. = 89,65% R-cuad. (ajustado) = 84,80%

### Método LSD comparación de medias

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 46. Método LSD para el parámetro B+**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 6,31. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0,025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{6,31 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 2,092$$

**Tabla 47. Aplicación de la prueba LSD para el parámetro B+ día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,953<2,092	No significativa
T1-T3	1,54 <2,092	No significativa
T1-T4	1,896<2,092	No significativa
T2-T3	0,586<2,092	No significativa
T2-T4	0,943<2,092	No significativa
T3-T4	0,356<2,092	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=t_{\alpha/2, ab(n-1)}} \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{6,31 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$LSD = 4,184$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 48. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 1,846 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 4,203 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,94 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,356 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,093 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,263 < LSD_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 49. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 3,736 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 7,59 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,743 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 3,853 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,993 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 6,846 > LSD_{B2(T)}$	Significativa

**Tabla 50. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 6,31 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 6,25 > LSD_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,886 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,056 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,423 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,37 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$ .

### Figura 9. ANOVA para el parámetro H.

Análisis de varianza para PARÁMETRO H, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	78,62	78,62	26,21	1,42	0,254
TIEMPO	3	1586,62	1586,62	528,87	28,73	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	136,76	136,76	15,20	0,83	0,598
Error	32	589,12	589,12	18,41		
Total	47	2391,12				

S = 4,29068 R-cuad. = 75,36% R-cuad. (ajustado) = 63,81%

### Método LSD comparación de medias

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

Tabla 51. Método LSD para el parámetro H

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 18,41. Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:



$$\text{LSD} = 2,04 \sqrt{18,41 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$\text{LSD} = 3,626$$

**Tabla 52. Aplicación de la prueba LSD para el parámetro H día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	1,15<3,626	No significativa
T1-T3	1,36<3,626	No significativa
T1-T4	0,3167<3,626	No significativa
T2-T3	0,21<3,626	No significativa
T2-T4	0,8333<3,626	No significativa
T3-T4	1,0433<3,626	No significativa

### **PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$\text{LSD}_{B2(A)=\alpha/2, ab(n-1)} = \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$\text{LSD}_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{18,41 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

$$\text{LSD} = 7,1467$$

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 53. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 1,0566 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,82 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,4933 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,7634 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,5633 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,3267 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa

**Tabla 54. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 5,0567 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,8167 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,9367 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 2,24 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,12 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,12 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 55. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 9,7133 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 4,0367 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 7,6233 > \text{LSD}_{B2(T)}$	Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 5,6766 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 2,09 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 3,5866 < \text{LSD}_{B2(T)}$	No Significativa

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 8 se aplicó un nivel de significancia de  $\alpha = 0,05$

**Figura 10. ANOVA para el parámetro A+.**

Análisis de varianza para PARÁMETRO A, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
TRATAMIENTO	3	2,812	2,812	0,937	0,81	0,497
TIEMPO	3	377,855	377,855	125,952	109,02	0,000
TRATAMIENTO*TIEMPO	9	16,501	16,501	1,833	1,59	0,161
Error	32	36,969	36,969	1,155		
Total	47	434,136				

S = 1,07483 R-cuad. = 91,48% R-cuad.(ajustado) = 87,49%

### Método LSD comparación de medias

Para determinar los pares de medias estadísticamente diferentes se probaron seis hipótesis.

**Tabla 56. Método LSD para el parámetro A+**

Ho:T1-T2	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T2
Ho:T1-T3	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T3
Ho:T1-T4	VS	H <sub>A</sub> :T1≠T4
Ho:T2-T3	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T3
Ho:T2-T4	VS	H <sub>A</sub> :T2≠T4
Ho:T3-T4	VS	H <sub>A</sub> :T3≠T4

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 32 y que el cuadrado medio del error CME = 1,155 Se usa una significancia predefinida de  $\alpha = 0,05$ , en el cuadro de la distribución T de Student con 32 grados de libertad, se obtiene que  $t_{0.025, 32} = 2,04$ . Como en cada tratamiento se hicieron  $n = 12$  pruebas, entonces:

$$LSD = 2,04 \sqrt{1,155 * \frac{1}{12} + \frac{1}{12}}$$

$$LSD = 0,90$$

**Tabla 57. Aplicación de la prueba LSD para el parámetro A+ día 2**

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
T1-T2	0,433<0,90	No significativa
T1-T3	0,58<0,90	No significativa
T1-T4	0,09<0,90	No significativa
T2-T3	0,89<0,90	No significativa
T2-T4	0,34<0,90	No significativa
T3-T4	0,673<0,90	No significativa

**PRUEBA LSD TOMANDO EN CUENTA LA INTERACCIÓN DIAS-TRATAMIENTO**

Se realizó la prueba LSD tomando en cuenta el efecto de interacción días-tratamiento para hacer las comparaciones múltiples de medias.

Entonces, para comparar estas medias la diferencia mínima significativa está dada por:

$$LSD_{B2(A)=\alpha/2, ab(n-1)} = \sqrt{MCE * \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte.)

$$LSD_{B2=3(T1)} = 2,04 \sqrt{1,155 * \frac{1}{3} + \frac{1}{3}}$$

**LSD = 1,80**

Al comparar las posibles diferencias en valor absoluto resulta lo siguiente.

**Tabla 58. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 4**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 1,3 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,48 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,57 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,8 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,27 < LSD_{B2(T)}$	No significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,08 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 59. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 6**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 0,0001 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,78 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,97 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,791 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,77 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,87 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Tabla 60. Prueba LSD teniendo en cuenta la interacción día- tratamiento para el día 8**

$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T2)} = 1,70 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 1,06 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T1)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 1,791 < LSD_{B2(T)}$	NoSignificativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T3)} = 0,643 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T2)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,103 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa
$\bar{Y}_{B2(T3)} - \bar{Y}_{B2(T4)} = 0,74 < LSD_{B2(T)}$	No Significativa

**Anexo G.**  
**Guía para la realización de la hidrólisis en el almidón de Yuca**

**HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE ALMIDÓN NATIVO DE YUCA CON  $\alpha$ -AMILASA COMERCIAL**

**1. OBJETIVO**

Establecer el procedimiento para la realización de hidrólisis enzimática de almidón nativo de yuca mediante la  $\alpha$ -amilasa comercial BAN 240L.

**2. FUNDAMENTO**

Las  $\alpha$ -amilasas son endoamilasas que atacan los enlaces  $\alpha$ , 1-4 glucosídicos en el interior de las cadenas de amilosa o amilopectina. Su uso en la hidrólisis de almidones es el método más usado en la industria alimentaria puesto que se obtienen productos más puros. La modificación enzimática de almidón permite obtener diversos productos con características y usos específicos tales como dextrinas, maltodextrinas, glucosa, maltosa y otros.

**3. MATERIALES**

<b>Material</b>	<b>Cantidad</b>
Beaker de 1L	1
Balón aforado de 500mL	1
Varilla de agitación	1
Micropipeta	1
Agitador magnético	1
Tubos de ensayo de vidrio	10
Espátulas	2
Bandejas de secado	2
Termómetro	2

#### 4. REACTIVOS

Reactivo	Cantidad
Almidón nativo	125g
Hidroxido de sodio 1N	10mL
Cloruro de calcio al 30%	100 µL
Solución enzimática BAN 240L	95µL
Ácido clorhídrico al 18.5%	300 µL
Etanol al 96%	1L
Agua destilada	10L

#### 5. EQUIPOS

Equipo	Cantidad
Balanza analítica	1
pHmetro	1
Plancha de agitación	1
Centrífuga	1
Estufa de secado	1

**Nota:** Los materiales, reactivos y equipos están especificados para las etapas hidrólisis de almidón y obtención del almidón sólido.

#### 6. PROCEDIMIENTO

##### 6.1 HIDRÓLISIS DEL ALMIDÓN

6.1.1 Pesar 125g de almidón nativo de yuca en base seca, llevarlo a beaker de 1L y suspenderlo en aproximadamente 400mL de agua destilada agitando vigorosamente con la varilla de vidrio para que el almidón no quede adherido a las paredes del beaker.

6.1.2 Transferir a balón de 500mL, aforar con agua destilada y transferir a beaker de 1L (Figura 1).

6.1.3 Medir el pH de la suspensión con pHmetro y verificar que este se encuentre en un valor de  $6.0 \pm 0.2$ , de lo contrario ajustarlo con hidróxido de sodio 1N o ácido clorhídrico al 18,5% según sea el caso (Figura 2).

6.1.4 Someter la suspensión a calentamiento en plancha, y mantener agitación continua (agitador magnético).

6.1.5 Cuando la suspensión alcance  $50^{\circ}\text{C}$  adicionar  $84\mu\text{L}$  de cloruro de calcio al 30% y  $80\mu\text{L}$  de solución enzimática de  $\alpha$ -amilasa BAN 240L y mantener esta temperatura constante durante 1 hora.

6.1.6 Pasado el tiempo de hidrólisis agregar ácido clorhídrico al 18,5% hasta que el pH de la suspensión se encuentre en un rango de 3 a 4 unidades (aproximadamente  $250\mu\text{L}$ ).

6.1.7 Transferir la suspensión a tubos de ensayo de vidrio cuidando de que todos queden al mismo nivel de llenado.

6.1.8 Tapar y disponer los tubos adecuadamente dentro de la centrifuga y someterlos a proceso por 10 minutos a 6000 rpm.

6.1.9 Recuperar el sobrenadante y pasarlo por papel filtro para realizar el análisis de dextrosa equivalente y por otro lado agregar etanol al 96% al sólido contenido en los tubos y agitar fuertemente para que el etanol entre en contacto con todo el almidón.

6.1.10 Tapar y someter nuevamente a centrifugación.

6.1.11 Retirar el sobrenadante y realizar la operación dos veces más reemplazando el etanol por agua destilada.

## **6.2 OBTENCIÓN DEL ALMIDÓN SÓLIDO**

6.2.1 Retirar con una espátula el material sólido de los tubos, colocarlo sobre placas de acrílico y distribuir uniformemente.



6.2.2 Someter a secado por 20 horas, o hasta una humedad de 13%B.H., en horno previamente calentado a una temperatura de 50°C.

6.2.3 Retirar el sólido seco y realizar proceso de molienda.

### **6.3 MEDIDA DEL GRADO DE HIDRÓLISIS**

#### **6.3.1 PORCENTAJE DE DEXTROSA EQUIVALENTE**

La medida del grado de hidrólisis se realiza midiendo el porcentaje de equivalente de dextrosa (E.D.) siguiendo la metodología de Rebelein para azúcares reductores reportada por Hurtado *et al.* (2009).

**Anexo H.**  
**Guía Para Determinar El Porcentaje De Dextrosa En El Almidón Hidrolizado De Yuca**

**DETERMINACIÓN DEL EQUIVALENTE DE DEXTROSA POR EL MÉTODO DE DNS**

**1. OBJETIVO**

Establecer el procedimiento para la determinación del equivalente de dextrosa empleando el método de DNS (Miller, 1959).

**2. FUNDAMENTO**

La determinación del equivalente de dextrosa por el método de DNS (Ácido Dinitrosalicílico) se fundamenta en el carácter oxidante del ácido dinitrosalicílico que reacciona con los grupos reductores de los productos de la reacción catalítica. El DNS se encuentra en exceso con respecto a dichos grupos reductores, y es adicionado en la misma cantidad en cada muestra, provocando distintas coloraciones, cuya absorbancia puede ser determinada por espectrofotometría visible a 540 nm. La coloración de las muestras se intensifica a mayores concentraciones de azúcares reductores.

**3. MATERIALES**

<b>Material</b>
Balón aforado de 100 ml
Balón aforado de 500 ml
Tubos de ensayo de vidrio
Beakers de 100 ml
Beakers de 600 ml
Pipeta de 10 ml
Pipeta de 1 ml

#### 4. REACTIVOS

Reactivo
Glucosa anhidrida
Ácido dinitrosalicílico (DNS)
Tartrato de sodio y potasio tetrahidratado
Agua destilada

#### 5. EQUIPOS

Equipos
Balanza analítica
Plancha de agitación
Espectrofotómetro UV-VIS

#### 6. PROCEDIMIENTO

##### 6.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIONES

6.1.1 Solución de ácido dinitrosalicílico (DNS) al 1%: Disolver con agitación 5 g de DNS en 200 mL de agua destilada y adicionar 8 g de NaOH disueltos en 75 mL de agua destilada. Llevar a baño de agua a 50°C por 20 minutos. Adicionar 150 g de Tartrato de sodio y potasio y agitar hasta disolución completa. Transferir a balón de 500 mL y aforar con agua destilada. Llevar a frasco ámbar, dejar reposar por 24 horas y filtrar. Almacenar en refrigeración.

6.1.2 Solución de Glucosa al 0,5%: Disolver 0,5 g de D(+)-Glucosa en 75 mL de agua destilada, transferir a balón de 100 mL y aforar con agua destilada.

##### 6.2 DETERMINACIÓN DE LA CURVA ESTÁNDAR DE GLUCOSA

6.2.1 A partir de la solución de glucosa al 0,5% preparar 25 mL de 6 soluciones así:

<b>Vol. de solución de Glucosa 0,5% (mL)</b>	<b>Concentración final (ppm)</b>
1	200
2	400
3	600
4	800
5	1000
6	1200

6.2.2 Tomar 1 mL de la solución de 200 ppm y transferir a tubo de ensayo.

6.2.3 Adicionar 1 mL del reactivo de DNS.

6.2.4 Adicionar 3 mL de agua destilada.

6.2.5 Realizar este mismo procedimiento para las restantes diluciones de glucosa.

6.2.6 Llevar los tubos a baño de agua en ebullición por exactamente cinco minutos y transferir inmediatamente a baño de hielo por 10 minutos.

6.2.7 Determinar absorbancia de las soluciones a 540 nm cuando estas se encuentren a temperatura ambiente.

6.2.8 Realizar el procedimiento por duplicado.

### **6.3 DETERMINACIÓN DEL EQUIVALENTE DE DEXTROSA**

6.3.1 Realizar la dilución de la muestra de tal modo que la absorbancia leída se encuentre en un rango de 0,2-0,6.

6.3.2 Tomar 1 mL de la disolución de la muestra preparada y transferir a tubo de ensayo.

Realizar este procedimiento por duplicado.

6.3.3 Adicionar 1 mL del reactivo de DNS a cada tubo.

6.3.4 Adicionar 3 mL de agua destilada.

6.3.5 Llevar los tubos a baño de agua en ebullición por exactamente cinco minutos y transferir inmediatamente a baño de hielo por 10 minutos.

6.3.6 Determinar absorbancia de las diluciones a 540 nm cuando estas se encuentren a temperatura ambiente.

#### **6.4 CÁLCULO DEL EQUIVALENTE DE DEXTROSA**

El equivalente de dextrosa, expresado como gramos de glucosa por gramos de materia seca, es calculado mediante la siguiente ecuación:

\_\_\_\_\_

Donde:

*cg*: Concentración de glucosa determinada por espectrofotometría en g/mL

*V*: Volumen de solución analizada

*cd*: Dilución de la muestra a cuantificar

*m*: Gramos de muestra en la solución

*H*: Humedad de la muestra