

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE AHUYAMA (*Cucúrbita moschata*) TROCEADA EN FRESCO CON RECUBRIMIENTO Y POLIETILENO



Universidad
del Cauca

**CRISTINA RUCO SÁNCHEZ
CARLOS HOLMES SANTIAGO CAMPO**

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

EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE AHUYAMA (*Cucúrbita moschata*) TROCEADA EN FRESCO CON RECUBRIMIENTO Y POLIETILENO

**CRISTINA RUCO SÁNCHEZ
CARLOS HOLMES SANTIAGO CAMPO**

Trabajo de grado en la modalidad de investigación para optar al título de Ingenieros
Agroindustriales

Director:

M. Sc. SILVIO ANDRÉS MOSQUERA SÁNCHEZ

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

CONTENIDO

	pág.
1 MARCO REFERENCIAL	19
1.1 CULTIVO DE AHUYAMA VARIEDAD BOLO VERDE	19
1.2 LA ESPECIE CUCÚRBITA MOSCHATA	19
1.3 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA DE LA AHUYAMA	19
1.4 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA AHUYAMA	20
1.5 FRUTO	20
1.6 DESARROLLO DEL FRUTO	20
1.7 ENFERMEDADES	21
1.8 ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS	22
1.8.1 Pudrición por <i>Phytophthora</i> (<i>Phytophthora fruitrot</i>).	22
1.8.2 Podredumbre de frutos por <i>Rhizopus</i> .	22
1.8.3 Pudrición negra (<i>Didymella bryoniae</i>).	23
1.9 POSTCOSECHA DE LA AHUYAMA	23
1.10 PROCESOS FISIOLÓGICOS	23
1.11 ASPECTOS FITOPATOLÓGICOS	23
1.12 CULTIVO DE AHUYAMA EN COLOMBIA	24
1.13 EMPAQUES	24
1.14 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	24
1.14.1 Proteínas.	25
1.14.2 Polisacáridos.	25
1.14.3 Lípidos.	25
1.14.4 Aditivos.	26
1.14.5 Almidón de yuca.	26
2 METODOLOGÍA	28
2.1 LOCALIZACIÓN	28
2.2 MATERIALES	28
2.2.1 Material vegetal.	28
2.2.2 Polietileno.	28

	pág.
2.2.3 Almidón hidrolizado de yuca.	28
2.2.4 Glicerol.	28
2.2.5 Tween 80.	28
2.2.6 Aceite esencial de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>).	29
2.3 MATERIALES UTILIZADOS PARA PRUEBA DE MICROSCOPIA	29
2.3.1 Glutaraldehído.	29
2.3.2 Buffer de fosfato salino (PBS).	29
2.3.3 Tetraóxido de Osmio.	29
2.3.4 Etanol.	29
2.3.5 Resina.	29
2.3.6 Azul de Toluidina.	30
2.3.7 Acetato de uranilo.	30
2.3.8 Citrato de Plomo.	30
2.3.9 Viales Eppendorf.	30
2.3.10 Capsulas poliméricas.	30
2.4 EQUIPOS.	30
2.4.1 Equipo HL2.	30
2.4.2 Balanza digital.	31
2.4.3 Colorímetro.	31
2.4.4 Máquina Universal de Ensayos.	31
2.4.5 OxyBaby Witt.	32
2.4.6 Microscopio óptico.	32
2.4.7 Microscopio electrónico de transmisión.	33
2.5 MÉTODOS	33
2.5.1 Preparación de la muestra.	33
2.5.2 Recubrimiento de almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1%.	34
2.5.3 Revestimiento con polietileno “vinipel”.	35
2.5.4 Obtención del sistema binario.	35
2.6 EVALUACIÓN DE VARIABLES	35
2.6.1 Pérdida de peso.	35

	pág.
2.6.2 Color.	35
2.6.3 Firmeza.	35
2.6.4 Prueba de microscopía.	36
2.6.5 Pruebas bromatológicas.	37
2.7 DISEÑO EXPERIMENTAL	37
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
3.1 Pérdida de peso	38
3.2 Color	40
3.3 Firmeza	44
3.4 Tasa de respiración	47
3.4.1 Porcentaje de CO ₂ .	47
3.4.2 Porcentaje de O ₂	49
3.5 pruebas Bromatológicas	50
3.6 Prueba microbiológica con respecto al crecimiento fúngico	53
3.7 Prueba de microscopía	56
3.7.1 Microscopia óptica de alta resolución (MOAR).	57
3.7.2 Microscopia electrónica de transmisión (MET).	67
4 CONCLUSIONES	71
5 RECOMENDACIONES	72
BIBLIOGRAFIA	73
ANEXOS	88

LISTA DE CUADROS

	pág.
Cuadro 1. Promedio de los datos de pérdida de peso acumulado (%) en los tratamientos.	88
Cuadro 2. Promedio de las mediciones de color en los tratamientos.	88
Cuadro 3. Resultados de firmeza vs tiempo de evaluación.	89
Cuadro 4. Promedio de las mediciones de tasa de respiración CO ₂ (%) en los tratamientos.	89
Cuadro 5. Promedio de las mediciones de tasa de respiración O ₂ (%) en los tratamientos.	90
Cuadro 6. Análisis bromatológico de los trozos de ahuyama en los tratamientos (%).	90
Cuadro 7. Crecimiento microbiano en los tratamientos (Unidades Formadoras de Colonia/g).	91
Cuadro 8. Método LSD comparación de medias para pérdida de peso.	92
Cuadro 9. Aplicación de la prueba LSD para pérdida de peso.	93
Cuadro 10. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	93
Cuadro 11. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	94
Cuadro 12. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	94
Cuadro 13. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	94
Cuadro 14. Método LSD comparación de medias para parámetro L* (Color).	95
Cuadro 15. Aplicación de la prueba LSD para parámetro L* (Color).	96
Cuadro 16. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	96
Cuadro 17. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	97
Cuadro 18. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	97

	pág.
Cuadro 19. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	97
Cuadro 20. Método LSD comparación de medias parámetro a^* (Cromaticidad).	98
Cuadro 21. Aplicación de la prueba LSD para parámetro a^* (Cromaticidad).	99
Cuadro 22. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	99
Cuadro 23. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	100
Cuadro 24. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	100
Cuadro 25. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	100
Cuadro 26. Método LSD comparación de medias parámetro b^* (Cromaticidad).	101
Cuadro 27. Aplicación de la prueba LSD para parámetro b^* (Cromaticidad).	102
Cuadro 28. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	102
Cuadro 29. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	103
Cuadro 30. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	103
Cuadro 31. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	103
Cuadro 32. Método LSD comparación de medias parámetro h^o (tonalidad).	104
Cuadro 33. Aplicación de la prueba LSD para parámetro h^o (tonalidad).	105
Cuadro 34. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	106
Cuadro 35. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	106
Cuadro 36. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	106
Cuadro 37. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	106
Cuadro 38. Método LSD comparación de medias parámetro c^* (Saturación).	107
Cuadro 39. Aplicación de la prueba LSD para parámetro c^* (Saturación).	108
Cuadro 40. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	109
Cuadro 41. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	109

	pág.
Cuadro 42. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	109
Cuadro 43. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	109
Cuadro 44. Método LSD comparación de medias parámetro c^* (Saturación).	110
Cuadro 45. Aplicación de la prueba LSD para parámetro c^* (Saturación).	111
Cuadro 46. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	112
Cuadro 47. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	112
Cuadro 48. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	112
Cuadro 49. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	112
Cuadro 50. Método LSD comparación de medias para tasa de respiración, % de CO_2	113
Cuadro 51. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración, % de CO_2 .	114
Cuadro 52. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	114
Cuadro 53. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	115
Cuadro 54. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	115
Cuadro 55. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	115
Cuadro 56. Método LSD comparación de medias para tasa de respiración, % de O_2	116
Cuadro 57. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración, % de O_2 .	117
Cuadro 58. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.	117
Cuadro 59. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.	118
Cuadro 60. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.	118
Cuadro 61. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.	118

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Equipo HL2	30
Figura 2. Balanza digital.	31
Figura 3. Colorímetro NR20XE.	31
Figura 4. Máquina Universal de Ensayos.	32
Figura 5. OxyBaby Witt.	32
Figura 6. Microscopio óptico.	33
Figura 7. Microscopio electrónico de transmisión.	33
Figura 8. Aplicación del recubrimiento en las muestras a evaluar.	34
Figura 9. Tratamientos a evaluar (SN, CR, CV, CB)	34
Figura 10. Comportamiento de la pérdida de peso vs tiempo de evaluación.	39
Figura 11. Comportamiento del Parámetro L* (Luminosidad) vs tiempo de evaluación	41
Figura 12. Comportamiento de la coordenada a* vs tiempo de evaluación.	42
Figura 13. Comportamiento de la coordenada b* vs tiempo de evaluación.	42
Figura 14. Comportamiento del parámetro h° (Tonalidad) vs tiempo de evaluación.	43
Figura 15. Comportamiento del parámetro c* (Saturación) vs tiempo de evaluación.	43
Figura 16. Comportamiento de firmeza (N) vs tiempo de seguimiento.	46
Figura 17. Comportamiento del porcentaje de CO ₂ vs tiempo de seguimiento.	48
Figura 18. Comportamiento del porcentaje de O ₂ vs tiempo de seguimiento.	50
Figura 19. Pruebas bromatológicas (azúcares totales, contenido de grasa, proteína, cenizas, humedad y otros materiales volátiles) en porcentaje (%) vs tiempo de seguimiento.	52
Figura 20. Pruebas bromatológicas (potasio, fósforo, calcio, Magnesio) en porcentaje (%) vs tiempo de seguimiento.	53

	pág.
Figura 21. Promedio desarrollo fúngico vs tiempo seguimiento.	55
Figura 22. Crecimiento fúngico en los tratamientos día 12.	55
Figura 23. Crecimiento fúngico al día 12 de seguimiento en placa Petri film.	55
Figura 24. Descripción estructural de la cáscara y de la pulpa de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>), día 0.	58
Figura 25. Micrografía de los cortes de cáscara y pulpa de ahuyama teñidos con azul de toluidina a 40X (muestra testigo), día 0.	59
Figura 26. Muestras de cáscara muestra testigo días 6 y 12.	60
Figura 27. Muestras de pulpa muestra testigo días 6 y 12.	60
Figura 28. Muestras de cáscara tratamiento CR días 6 y 12.	61
Figura 29. Muestras de pulpa tratamiento CR días 6 y 12.	61
Figura 30. Muestras de cáscara tratamiento CV días 6 y 12.	62
Figura 31. Muestras de pulpa tratamiento CV días 6 y 12.	62
Figura 32. Muestras de cáscara tratamiento CB días 6 y 12.	63
Figura 33. Muestras de pulpa tratamiento CB días 6 y 12.	63
Figura 34. Corte transversal a la cáscara, día 6 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).	64
Figura 35. Corte transversal a la cáscara, día 12 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).	65
Figura 36. Corte transversal a la pulpa, día 6 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).	66
Figura 37. Corte transversal a la pulpa, día 12 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).	67
Figura 38. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>) a 2 μ m, día 0.	68

	pág.
Figura 39. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la pulpa de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>) a 5 μm , día 0.	69
Figura 40. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>) con recubrimiento a 5 μm , día 12.	69
Figura 41. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>) con sistema binario a 2 μm , día 12.	70
Figura 42. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la pulpa de ahuyama (<i>Cucúrbita moschata</i>) con "vinipel" a 2 μm , día 12.	70
Figura 43. ANOVA de la prueba pérdida de peso.	92
Figura 44. ANOVA del Parámetro L* (Luminosidad).	95
Figura 45. ANOVA del parámetro a* (Cromaticidad).	98
Figura 46. ANOVA del parámetro b* (Cromaticidad).	101
Figura 47. ANOVA del parámetro h° (Tonalidad).	104
Figura 48. ANOVA del parámetro c* (saturación).	107
Figura 49. ANOVA de la prueba de firmeza.	110
Figura 50. ANOVA de la prueba tasa de respiración (% de dióxido de carbono).	113
Figura 51. ANOVA de la prueba tasa de respiración (% de oxígeno).	116

LISTA DE ANEXOS

	pág.
ANEXO A. DATOS PROMEDIO DE LAS TRES RÉPLICAS	88
ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PÉRDIDA DE PESO	92
ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO L* (LUMINOSIDAD)	95
ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO A* (CROMATICIDAD)	98
ANEXO E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO B* (CROMATICIDAD)	101
ANEXO F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO H° (TONALIDAD)	104
ANEXO G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO C* (SATURACIÓN)	107
ANEXO H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA FIRMEZA	110
ANEXO I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA TASA DE RESPIRACIÓN	113
ANEXO J. RESULTADOS PRUEBAS BROMATOLÓGICAS	118

Nota de aceptación:

El director y los jurados han leído el presente documento, escucharon la sustentación del mismo por sus autores y lo encuentran satisfactorio

Silvio Andrés Mosquera Sánchez
Director

Carmenza Liliana López Patiño
Presidente del Jurado

Clara Inés Giraldo Aristizabal
Jurado

Popayán, mayo 5 de 2017

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi fuerza, mi fortaleza, mi refugio y mi luz durante este caminar, en quien pongo mi confianza.

A mi familia por su apoyo constante, sus buenos deseos y su inmensa e incondicional compañía en cada momento de mi vida, especialmente a:

A mis padres Alcibíades Ruco y Gloria Amparo Sánchez, por su inmenso amor, sacrificio, esfuerzo, confianza, buenos consejos, grata admiración por su paciencia y por enseñarme a saber sufrir con humildad.

A mis hermanas, Eliana Sánchez, Alexandra Ruco, Amparo Ruco, por su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y dicha, por preocuparse por mí, le doy gracias a Dios por haberme dado esta familia, ustedes son únicas.

A mis sobrinas y sobrinos, Jasmin Marín, Mabel Chalá, Kevin Chalá y Yesid Chalá, por sus risas y darme la alegría de ser su tía.

A mis tías, Ismenia Sánchez y Doris Sánchez, por su apoyo y por estar pendiente de mí cuando más lo necesitaba, Dios las bendiga.

Le doy gracias a la vida porque ustedes están en ella.

Cristina Ruco Sánchez

A mis padres OLMEDO SANTIAGO AVILA y ASCENCIÓN CAMPO, quienes con gran esfuerzo, sacrificio y paciencia entregaron su vida por verme realizado como profesional, a mi hermana FERNANDA FLOR, quien desde su perspectiva universitaria profesional me aconsejó y orientó, a VICTORIA BUITRÓN, quien con su amor incondicional y compañía supo darme palabras de aliento para seguir adelante y JUAN JOSÉ SANTIAGO, mi motor y mayor fortaleza en los momentos de dificultad.

Carlos Holmes Santiago Campo

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la fuerza y bendición en cada instante de mi vida, a mis amigos por poder contar con ustedes y por los momentos vividos.

A mis profesores, por su enseñanza y capacidad de ver la vida diferente, al director Silvio Andres Mosquera por su apoyo en este proyecto, a mis jurados Carmenza López y Clara Inés Giraldo, por sus aportes y su tiempo.

A las ingenieras Agroindustriales Carolina Echeverría y Sandra Paz por su apoyo en realizar este proyecto, a la profesora Patricia Mosquera por sus conocimientos y tiempo.

A Wilson Orozco y Marisol Astaiza de las Plantas Piloto de la Facultad de Ciencias Agrarias, por su colaboración y buena disponibilidad.

Finalmente y no menos importante a la vida por poder lograr un nuevo triunfo.

Cristina Ruco Sánchez

Quiero agradecer a Dios por sus infinitas bendiciones a lo largo de este camino, a los profesores y amigos que durante este transcurso de la vida me enseñaron y compartieron sus experiencias y a la vida por darme la oportunidad de haber podido cumplir una de mis metas, SER INGENIERO AGROINDUSTRIAL.

Carlos Holmes Santiago Campo

RESUMEN

La ahuyama (*Cucúrbita moschata*) se caracteriza por su valor nutritivo especialmente por su contenido de vitamina A, carbohidratos, fósforo y minerales, así como por sus propiedades medicinales (Universidad Nacional De Colombia - Sede Palmira, 2011). El objetivo del proyecto fue evaluar las características fisicoquímicas (peso, color, firmeza, tasa de respiración), bromatológicas y microbiológicas de la de ahuyama variedad bolo verde (*Cucúrbita moschata*), troceada en fresco con respecto a los materiales de cubierta (recubrimiento de origen natural y polietileno de baja densidad (vinipel). se analizaron 4 tratamientos variando el tipo de cubierta así: SN (muestra testigo), CV con "vinipel", CR con recubrimiento de almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1% y CB con sistema binario (recubrimiento de fuente natural y "vinipel"). Se hicieron mediciones de las variables pérdida de peso, color, firmeza y tasa de respiración cada tres días y crecimiento microbiano cada seis días, adicionalmente se realizaron pruebas de microscopia (MOAR y MET) y análisis bromatológicos (azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales) cada seis días, a la misma hora (10:00 de la mañana), almacenando los frutos bajo condiciones ambientales (temperatura de 19°C y humedad media de 77.75%) con tres repeticiones y tres réplicas durante los 12 días de evaluación, encontrando que la ahuyama troceada en fresco puede conservarse de forma adecuada mediante el uso de películas de polietileno de baja densidad (vinipel) el cual permiten retrasar de manera efectiva los procesos de pérdida de calidad inducidos por las operaciones de corte y la manipulación.

Palabras Clave: ahuyama, recubrimiento de fuente natural, almidón de yuca, aceite esencial de tomillo.

INTRODUCCIÓN

La ahuyama (*Cucúrbita moschata*) es conocida en algunas regiones de Colombia como ahuyama, calabaza o zapallo y es un fruto 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 la enfermedad coronaria (Universidad Nacional de Colombia – Sede Palmira, 2014), además de poseer 300 mg/100 g de Potasio (K) y un alto contenido en vitaminas A, C y E, aportando 22 kcal, propiedades que permiten su inclusión en cualquier dieta. Además aporta fibra que proporciona una sensación de saciedad, es adecuada para las dietas de reducción de peso y mejora el tránsito intestinal (Ordoñez, 2008), sin embargo contiene un elevado porcentaje de agua cercano al 90% (Vallejo *et al.*, 2008) lo cual es vector de crecimiento bacteriano y/o fúngico, que requiere establecer posibilidades de control para ralentizar el proceso de senescencia y disminuir las pérdidas por podredumbre. Así mismo por el gran tamaño de la ahuyama se dificulta la compra del fruto entero para las familias con pequeño número de integrantes, por lo que, los supermercados, plazas de mercado y tiendas de barrio disponen el fruto en porciones facilitando su consumo y visualización de las características de la pulpa, sobre todo el color que es un elemento que incide en el momento de la compra ya que se relaciona directamente con la aceptabilidad. En ciertos casos, la pulpa se cubre con polietileno (vinipel), en otras ocasiones se exhibe sin protección en los anaqueles, quedando expuesta a partículas encontradas en el ambiente y al contacto directo con el comprador, convirtiéndose en foco de contaminación a un rápido deterioro de la calidad lo cual limita el tiempo de exposición en los anaqueles, al ser afectada por *Phytophthora spp.*, *Dydimella bryoniae*, *Colletotrichum orbiculare* causante de *Antracnosis*, *Fusarium spp.*, y la mancha bacteriana causada por *Pseudomonas syringae p.v. lachrymans* (Márquez, 2012)

Por lo anterior, se utilizó un recubrimiento de fuente natural con base en almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1%, que presenta un efecto biocida contra bacterias, hongos, virus, protozoos, insectos y plantas, obteniendo resultados efectivos en la mazorca de maíz fresco (Universidad Nacional De Colombia - Sede Palmira, 2012) y pimiento (Ordoñez *et al.*, 2014), ya que en la actualidad el empleo de películas y recubrimientos comestibles con base en polisacáridos, proteínas, lípidos, aditivos y compuestos activos ha jugado un papel importante en la industria de alimentos y ha demostrado ser efectivo en la conservación de frutas y hortalizas controlando transferencia de gases, crecimiento microbiano, manteniendo las características deseadas por los consumidores como apariencia fresca, firmeza, brillo, color, calidad y valor comercial, ya que crea una barrera entre el producto y la atmósfera que lo rodea (Fernández *et al.*, 2015).

El principal objetivo de este estudio fue evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) variedad Bolo Verde troceada en fresco con recubrimiento de fuente natural y polietileno, como materiales de empaque, almacenados bajo condiciones ambientales, con el fin de establecer el mejor método de cubierta para la comercialización, para ello se realizaron pruebas de pérdida de peso, color, firmeza, tasa de respiración y crecimiento microbiano, adicionalmente se realizaron pruebas de microscopia (MOAR y MET) y análisis bromatológicos (azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales).

1 MARCO REFERENCIAL

1.1 CULTIVO DE AHUYAMA VARIEDAD BOLO VERDE

La ahuyama variedad Bolo Verde pertenece a la especie *Cucúrbita moschata*, tiene tallos redondos acanalados, pubescentes, hojas con manchas plateadas, reniformes de bordes lobulados, hábito de crecimiento postrado, alto número de guías (4-8). Las plantas son monoicas con inicio de floración masculina entre 50 y 55 días, e inicio de floración femenina entre 55 y 65 días. Los frutos son redondos de color verde brillante en estado inmaduro y color verde opaco o ligeramente grisáceo en la madurez. Una planta desarrolla entre 3 y 4 frutos, en algunos casos excede este número, alcanzando un peso entre 2,5 y 4,0 kg. La pulpa es de color amarillo intenso, con diámetro interno que varía entre 3,5 y 5,5 cm, de textura densa que ocupa un alto volumen de la cavidad placentaria. El cultivo del zapallo requiere cantidades moderadas de agua bien distribuida en los periodos críticos: germinación, crecimiento y formación de guías, inicio de floración y llenado de fruto. Los ambientes secos con humedad de suelo, la capacidad de campo en la zona de raíces, son ideales para promover un buen crecimiento y desarrollo de la planta de zapallo y una buena formación de frutos (Estrada, 2004).

1.2 LA ESPECIE CUCÚRBITA MOSCHATA

Los registros arqueológicos existentes para *Cucúrbita moschata*, dan como centro de origen al sur de México, Guatemala y Panamá en América Central, y se extiende hasta Colombia y Venezuela, presentando una profusión de variedades ampliamente distribuidas en esta región. Es una especie domesticada en América Latina, encontrándose restos arqueológicos en las cuevas de Ocampo, Tamaulipas, al NE de México, que datan de 4900- 3500 a. C; en el norte de Belice y en Tikal, Guatemala (2000 a. C.-850 d. C.) y en Huaca Prieta, Perú (3000 A. C.). Debido a la gran variación morfológica que tiene la especie, resulta difícil precisar con exactitud el centro de origen, aunque recientemente se ha propuesto al norte de Colombia como dicho centro, debido a la existencia de razas locales que presentan una importante diversidad morfológica, aunque éstas no han sido totalmente exploradas (Whitaker y Davis, 1962).

1.3 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA DE LA AHUYAMA

La ahuyama es una hierba anual caulescente, de hábito trepador; su tallo es anguloso y densamente pubescente, con zarcillos apicales con los que se fija a la vegetación y al suelo, las hojas son anchas, cordadas a ovadas, de hasta 25 por 30 cm de superficie, de márgenes serrados, ubicadas al cabo de un pecíolo elongado de hasta 30 cm, flores solitarias, axilares y pentámeras, de pétalos carnosos y succulentos; las masculinas alcanzan los 18 cm de largo, de forma acampanada, con el cáliz corto y expandiéndose

hacia el ápice y las femeninas tienen un pedicelo ancho y robusto, contienen un ovario globoso a cónico. El fruto es una baya de gran tamaño; lisa o segmentada, pocas veces con la superficie granulosa y ovoide a cilíndrica, presenta una corteza verde a blanca o naranja claro, a veces irregular, la pulpa es blanquecina-verdosa en su estado inmaduro, cambiando al naranja a medida que alcanza la madurez, es de apariencia fibrosa, dulce y firme, en el interior del fruto hay hasta 200 semillas elípticas, achatadas, blanco grisáceo o amarillento, de hasta 1 x 2 cm, con un núcleo blanco, dulce y rico en aceite (Asohofrucol y Fondo Nacional de Fomento Hortofrutícola).

1.4 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA AHUYAMA

La ahuyama desde el punto de vista taxonómico pertenece a (FAO, 1994):

Reino: Plantae

Familia: Cucurbitáceae

Nombre Botánico: Cucúrbita moschata (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poiret

Género: Cucúrbita L.

Nombres Comunes: Ingles: Pumpkin, winter squash, musky squash, cushaw; Nahuatl: tamalayota (México, Colombia); español: calabaza (México), ayote (Guatemala a Costa Rica), auyama (Panamá a Venezuela), zapallo (Ecuador, Perú), joko (Bolivia).

1.5 FRUTO

El fruto de las Cucurbitáceas es uno de los más grandes del reino vegetal así como las variedades de zapallo criollo son numerosas y la lista aumenta constantemente debido a la hibridación y la selección artificial, por ello las características del fruto presentan amplias variaciones en cuanto a forma, tamaño, consistencia de la corteza y color. La forma de los frutos de *C. moschata* también es variable y algunos tienen cuellos alargados y encorvados, mientras otros son más ovales o esféricos, cuenta con una superficie que puede ser lisa, verrugosa, o cubierta de espinas u otros tipos de formaciones, a pesar de la acentuada variación de la forma, tamaño y color, los caracteres anatómicos son bastante constantes ya que la corteza del fruto es dura, mientras la porción central es hueca, contiene una masa de fibras viscosas entre las cuales se encuentran numerosas semillas chatas, en cuanto al pericarpio y los tejidos fusionados del receptáculo constituyen la masa del fruto, incluyendo la corteza y las fibras. En el proceso de maduración se presenta que el parénquima conjuntivo se desintegra antes de que se produzca la maduración completa del fruto (Whitaker y Davis, 1962).

1.6 DESARROLLO DEL FRUTO

El fruto de *Cucúrbita* se clasifica botánicamente como pepónide, un fruto carnosos cuenta con un número de semillas por fruto que va desde 100 a cerca de 500, su corteza o exocarpio está compuesta por células de paredes gruesas, prismáticas y epidérmicas,

formando una capa en empalizada, en la parte central del fruto se encuentra una masa de fibras duras junto con filamentos vasculares con las semillas, estos constituyen el tejido de la placenta, el endocarpio está formado por células pequeñas, de paredes finas que forman un tejido membranoso que se adhiere a la semilla, convirtiéndose en una piel transparente sobre las semillas secas (Hayward, 2013).

El desarrollo del fruto y la maduración se puede subdividir en tres fases superpuestas: expansión del fruto, incremento de la materia seca almidón principalmente junto con la acumulación en el tejido del pericarpio y maduración de la semilla (Nayar y More, 1998; Whitaker y Davis, 1962). El aumento de materia seca del pericarpio se da paralelamente a la expansión del fruto, sin embargo, el máximo de materia seca en el tejido del fruto generalmente se produce entre 30 y 40 días después de la polinización (DDP), en ello los picos de peso seco (PS) por lo general ocurren a los 40 DDP y puede haber un ligero aumento en PS entre los 40-60 DDP, pero a menudo el PS del mesocarpio disminuye durante este período, coincidiendo con las últimas etapas de llenado de las semillas (Loy, 2013).

El fruto no necesita permanecer unido a la planta para completar la etapa final de maduración, ya que los frutos de zapallo se pueden desprender de la planta cuando han iniciado el cambio de coloración exterior, entre 40 y 50 DDP y si se almacena durante un período suficiente, las semillas generalmente alcanzan el punto de viabilidad. Si los frutos se separan de la guía antes de tiempo, por ejemplo en el punto del 50% de llenado de las semillas, las reservas del mesocarpio se remobilizan a las semillas en desarrollo y se puede producir el llenado cercano a lo normal y para determinar que los frutos están maduros es cuando han logrado la coloración exterior típica de la variedad y el color interior y sabor óptimo (Loy, 2013).

1.7 ENFERMEDADES

La familia de las cucurbitáceas es una de las más vulnerables frente a enfermedades causadas por patógenos (Delhey, 1982), entre los patógenos hay varios que son polífagos, o sea que son capaces de infectar muchas especies de diversas familias botánicas, a los que pertenecen *Pythium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium spp.*, *Sclerotinia spp.*, *Pectobacterium carotovorum*, *Cucumber mosaic cucumovirus* y otros. Si bien las enfermedades causadas por estos agentes son importantes, la mayor parte de los patógenos son oligófagos quiere decir que son compartidos por diversas especies y géneros de la familia cucurbitáceas, estos patógenos pueden pasar de una especie a otra y de un género a otro, dentro de la familia, se encuentran los patógenos estrictamente monófagos que son los que aceptan una misma especie de planta estos prácticamente no se conocen en las cucurbitáceas (Della, 2013).

Las enfermedades causadas por patógenos se presentan en todos los estados fenológicos y en todos los órganos y tejidos de la planta, hay patógenos que destruyen prácticamente todos los órganos (*Sclerotinia clerotiorum*), otros especializados en sólo

alguno de ellos y están aquellos que invaden sistémicamente a la planta (virus) (Della, 2013).

1.8 ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS

Podredumbre de frutos por *Fusarium spp.* Los hongos del género *Fusarium* son ascomicetos filamentosos y cosmopolitas, tienen un micelio bien desarrollado, septado y conidióforos característicos, aunque algunas especies tienen un talo unicelular. Son considerados principalmente como hongos de campo, ya que causan un sin número de enfermedades en cultivos (Sumalan *et al.*, 2013).

La pudrición en la postcosecha puede empezar por el extremo del pedúnculo, en la parte del fruto que se encuentra en contacto directo con el suelo o a partir de heridas. Luego la podredumbre, de consistencia semiblanda y bastante seca, avanza dentro del fruto donde la coloración varía, según la especie involucrada, de color pardo claro a blanco (*F. equiseti*, *F. scirpi*, *F. solani*), o rosado a rojo vinoso, a veces con bandas o vetas fuertemente coloreadas (*F. acuminatum*, *F. culmorum*, *F. moniliforme*) (Bruton y Duthie, 1996). La superficie del fruto, así como la región seminal se cubren de un moho de color blanco, naranja o rosado, a veces muy abundante, al ser observada las fructificaciones del hongo (esporodoquios) se ven como masas húmedas más compactas de color naranja o rosado pegadas al fruto, además el hongo puede llegar a las semillas decolorándolas o bien otorgándoles una coloración rosada característica. En cuanto a las condiciones de almacenaje si son secas los frutos pueden terminar en una momificación corchosa y la enfermedad puede progresar a lo largo de todo el periodo de almacenaje, pero es más frecuente su aparición temprana (Della, 2013).

1.8.1 Pudrición por *Phytophthora (Phytophthora fruitrot)* Esta enfermedad puede ser causada por diferentes especies de *Phytophthora*, cuyos síntomas iniciales son manchas de apariencia acuosa con leves depresiones: el lado de la fruta en contacto con el suelo se afecta primero, extendiéndose gradualmente los síntomas y el daño a la parte superior, si se presenta bajo condiciones de humedad, este hongo produce una masa de micelio blanco de apariencia húmeda, que contiene los esporangios de *Phytophthora*, el cual puede cubrir toda la fruta afectada ocasionando pudrición blanda, eventualmente la fruta colapsa, aunque las frutas cosechadas estén aparentemente sanas pueden presentar síntomas durante el transporte y almacenamiento. Este hongo sobrevive en residuos de cosecha y en el suelo por dos años o más, se puede diseminar por insectos, obreros y maquinarias agrícolas (Márquez, 2012).

1.8.2 Podredumbre de frutos por *Rhizopus*. Una de las podredumbres de aparición más frecuente es la asociada con *Rhizopus spp* que se presenta generalmente durante el transporte y la comercialización, en frutos conservados durante un período prolongado, ha sido detectada, en *C. moschata* (Anco) (Vigliola, y Calot, 1982).

El zigomiceto *Rhizopus nigricans* (sinónimo *R. stolonifer*) es un hongo cosmopolita, ubicuo y abundante, siendo las zigosporas el producto de la reproducción sexual; mucho más

prolífica es la reproducción asexual constituida por aplanosporas formadas en esporangios negros que recubren los substratos previamente invadidos por el hongo, dándole el típico aspecto de un moho grisáceo, siendo un hongo saprótrofo que logra colonizar órganos y tejidos vegetales debilitados por senescencia y estrés tales como frutos sobremaduros, atacando cucurbitáceas, tomate, batata, zanahoria y muchas otras hortalizas (Della, 2013).

1.8.3 Pudrición negra (*Didymella bryoniae*). Esta enfermedad la causa el hongo *Didymella bryoniae* (Auersw) que cuando afecta el follaje se conoce como tizón gomoso y se considera una de las enfermedades de almacenaje más severas en la calabaza. Las frutas pueden presentar síntomas en el campo y después de la cosecha, síntomas como manchas grandes, redondas, grisáceas y de apariencia acuosa, al progresar la enfermedad se desarrollan unos pequeños puntos negros sobre las lesiones, estos puntos negros son las estructuras reproductivas del hongo, los mismos le confieren a la fruta una apariencia firme y de color negro, también puede estar presente un exudado gomoso color ámbar y lesiones que pueden ser superficiales o invadir el fruto internamente. La principal causa de invasión inicial de este hongo ocurre por heridas en la fruta, incluyendo las causadas por insectos o mal manejo durante y después de la cosecha (Márquez, 2012).

1.9 POSTCOSECHA DE LA AHUYAMA

Desde el punto de vista económico se puede diferenciar entre tres formas de daños que resultan en pérdidas de postcosecha de la ahuyama: 1) la reducción de peso de frutos individuales, la que se debe a ciertos procesos fisiológicos como respiración y transpiración; 2) la eliminación de frutos por graves defectos, principalmente podredumbres progresivas que ocurren durante el almacenaje, y 3) ciertos defectos visibles como arrugamientos, grietas, magulladuras, etc., de origen fisiológico o físico, si son leves, que no llevan a la eliminación de los frutos, pero provocan la disminución de su valor comercial(Della, 2013).

1.10 PROCESOS FISIOLÓGICOS

Los frutos de zapallo, una vez cosechados, siguen siendo órganos metabólicamente activos, hasta su procesamiento o consumo. Esta actividad metabólica postcosecha puede tener consecuencias deseadas (curado, cicatrizado), pero mayormente el efecto resultará negativo e indeseado resultando en la pérdida de peso por procesos fisiológicos (transpiración, respiración, etc.) así como el avance de infecciones fúngicas y bacterianas (Della, 2013).

1.11 ASPECTOS FITOPATOLÓGICOS

Los frutos de los zapallos y demás cucurbitáceas son muy atractivos para microorganismos ya que poseen nutrientes y una gran cantidad de agua, lo que permite la actividad de hongos y bacterias. Cuando se acerca la cosecha y en forma acelerada

después de la misma, los tejidos entran en un estado de senescencia y los mecanismos de resistencia frente a patógenos se relajan, lo que facilita la infección y colonización por parte de hongos y bacterias (Sams, 1994), a lo que se suma que el manipuleo de cosecha y postcosecha produce contusiones que permiten su más fácil entrada (Della, 2013).

1.12 CULTIVO DE AHUYAMA EN COLOMBIA

En 2007 se sembraron en el mundo 1.503.336 Ha de esta hortaliza, con una producción total de 20.296.443 ton y un rendimiento promedio de 13,5 ton/ha. Durante este mismo periodo, en América se sembraron 175.064 ha, con una producción total de 2.208.930 ton y rendimiento promedio de 12,62 ton/ha.

En Colombia ocurrió un incremento del 7,35% en el área de siembra, al pasar de 3.400 ha en 2002 a 3.650 ha en 2007, con una producción de 60.000 ton y rendimiento promedio de 16,44 ton/ha. En el país, la demanda de zapallo se ha incrementado debido a sus múltiples formas de uso, bien sea en la alimentación humana por sus altos contenidos de carotenos (provitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), minerales (calcio, hierro, fósforo) y aminoácidos como tiamina y niacina; o como materia prima para la agroindustria, las artesanías y la decoración (Jaramillo, 1980; Estrada, 2003).

1.13 EMPAQUES

El empaque de un alimento es fundamental para la conservación del mismo, sin embargo, una vez que el alimento es consumido, el empaque se desecha y pasa a formar parte de las grandes cantidades de basura que se acumulan día a día en el planeta. Adicionalmente, la mayor parte de los materiales usados en la fabricación de empaques para alimentos son plásticos, los cuales provienen de una fuente no renovable y no son biodegradables (S.M.A., 2008).

Debido a lo anterior, ha surgido una creciente preocupación entre los especialistas en la conservación de alimentos, por disponer de materiales de empaque que además de proteger a los productos que contienen, permitan reducir los problemas causados por la generación y acumulación de basura. Es así como en las últimas décadas se ha realizado un número importante de estudios relacionados con el desarrollo de materiales de empaque, específicamente películas, que puedan ser ingeridos junto con el alimento que protegen (películas comestibles) o que puedan descomponerse en corto tiempo como resultado de la acción de microorganismos y/o enzimas (películas biodegradables). Las investigaciones sobre estos últimos incluyen tanto polímeros de origen natural (hidratos de carbono, proteínas, lípidos) como de origen sintético (ácido poliláctico, polihidroxialconato) (Rubio y Guerrero, 2012).

1.14 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

McHugh y Krotcha (2011) definen un recubrimiento comestible como una capa delgada de material comestible formado como un revestimiento sobre el alimento, lo que difiere de una película comestible pues está según el mismo autor, es una capa preformada y

delgada elaborada con material comestible y la cual una vez elaborada puede ser colocada sobre el alimento o entre los componentes del mismo. Sánchez *et al.* (2008) afirman que la finalidad de la aplicación de recubrimientos comestibles es retrasar las principales causas de alteración a través de diferentes mecanismos: evitando ganancia o pérdida de humedad que puede provocar una modificación de la textura, ralentizando cambios químicos que pueden afectar al color, aroma o valor nutricional del alimento, actuando como barrera al intercambio de gases que puede influir en gran medida en la estabilidad de los alimentos sensibles a la oxidación de lípidos, vitaminas y pigmentos, mejorando la estabilidad microbiológica, mejorando la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas.

Los recubrimientos comestibles son elaborados a partir de biopolímeros naturales, (Bósquez, 2003) empleando macromoléculas como proteínas, polisacáridos y lípidos, así como resinas y otras sustancias con funciones plastificantes, emulsificantes, surfactantes, entre otros.

1.14.1 Proteínas. Para la elaboración de recubrimientos comestibles se encuentran disponibles la caseína, zeína, soya, albumina de huevo, lactoalbúmina, suero de leche, gluten de trigo y colágeno, entre otras, y se caracterizan por adherirse fácilmente a superficies hidrofílicas. Aguilar (2005) afirma que los materiales a base de proteínas consisten de redes macromoleculares continuas, de baja humedad y más o menos ordenadas aportando elevada barrera contra los gases, sin embargo, esto se ve descompensado por la alta permeabilidad al vapor de agua que se relaciona con su naturaleza hidrofílica.

1.14.2 Polisacáridos. Entre los polisacáridos empleados en la formulación de recubrimientos comestibles se encuentran la celulosa, la pectina, el almidón, el alginato, el quitosano, la carragenina, las gomas y mezclas de los mismos que han sido ampliamente usados para recubrir frutas debido a sus propiedades mecánicas de adherencia y flexibilidad en la superficie de los productos hortofrutícolas (Ramos – García *et al.*, 2010).

1.14.3 Lípidos. Los recubrimientos de naturaleza lipídica tienen una larga historia en la industria de alimentos siendo empleados componentes como las ceras naturales, ácidos grasos, derivados de monoglicéridos, aceites vegetales y lecitinas, cuya principal característica es su alta barrera contra el paso de humedad que se relaciona con la baja polaridad que tienen este tipo de moléculas sin embargo, su uso es restringido al presentar una apariencia poco atractiva, razón por la que principalmente se emplean mezclados con sustancias de tipo proteico o con polisacáridos (Ramos – García *et al.*, 2010).

1.14.4 Aditivos. Con el fin de mejorar o mantener las características de los recubrimientos formulados bien a partir de polisacáridos, proteínas, lípidos o la mezcla de ellos, se incorporan sustancias que influyen en las propiedades mecánicas, protectoras y sensoriales de los recubrimientos; dentro de este grupo de sustancias se pueden plastificantes, conservadores químicos, surfactantes y emulsificantes (Herrera, 2011).

1.14.5 Almidón de yuca. El almidón constituye una excelente materia prima para modificar la textura y consistencia de los alimentos dado que su funcionalidad depende del peso molecular promedio de la amilosa y la amilopectina, así como de la organización molecular de estos glucanos dentro del gránulo.

Los almidones nativos o naturales se utilizan porque regulan y estabilizan la textura y por sus propiedades espesantes y gelificantes, pero frecuentemente no son los más adecuados para procesamientos específicos, ya que la estructura nativa del almidón puede ser poco eficiente debido a que las condiciones del proceso (por ejemplo: temperatura, pH y presión) limitan su uso en otras aplicaciones industriales, por la baja resistencia a esfuerzos de corte, baja descomposición térmica, alto nivel de retrogradación y sinéresis.

1.14.6 Aceites esenciales. Raybaudi-Massilia, Soliva y Martín (2006) indican que el interés en la aplicación de aceites esenciales para el control de patógenos pre y postcosecha se ha incrementado en años recientes debido a que poseen características especiales y presentan un gran potencial en la conservación de alimentos. Los aceites esenciales son mezclas complejas en cuya composición se encuentran los terpenos junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos (Ronquillo, 2007) producidos en determinadas partes de las plantas (hojas, flores, raíces, etc.), y se los define como mezclas de varias sustancias químicas sintetizadas por las plantas que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, semillas y a ciertos extractos de origen animal que se caracterizan por ser intensamente aromáticos, no grasos y volátiles (Sánchez *et al.*, 2008).

Los aceites esenciales se obtienen a partir de las plantas que los producen, normalmente plantas aromáticas o especias, mediante diferentes tecnologías de extracción. El método industrial más utilizado es la destilación por arrastre de vapor, pero también se usa la extracción líquido-líquido utilizando solventes apolares orgánicos como el hexano, el uso de fluidos supercríticos (utilizando CO₂ en condiciones supercríticas) que permite un mayor rendimiento en la obtención de aceites esenciales pero a un costo más elevado con respecto a los métodos tradicionales (Herrera, 2011). Estudios realizados permiten afirmar que los aceites esenciales poseen actividad antimicrobiana pero, debido a la gran variedad de grupos químicos presentes en su composición, la acción antimicrobiana no puede atribuirse a un único mecanismo, sino a varios debido a los múltiples blancos de la célula (Huertas, 2008). Una característica importante de los aceites esenciales es su hidrofobicidad, característica que les permite unirse a los lípidos de la membrana celular desestabilizando su estructura y aumentando su permeabilidad, generando la salida de

iones, metabolitos y demás moléculas que pueden conllevar a la muerte de los microorganismos. Los estudios realizados han permitido identificar la responsabilidad de sustancias de naturaleza terpénica como el carvacrol, el p-anisaldehído, la l-carvona, el eugenol o la d-limolina en la capacidad antifúngica de algunos aceites esenciales.

Sánchez *et al.* (2008) mencionan que la localización y la cantidad de grupos hidroxilo sobre los grupos fenólicos de las moléculas terpénicas están relacionadas con su toxicidad: una mayor oxidación es responsable de una mayor capacidad bactericida. En la actualidad se considera que los mecanismos de acción de los aceites esenciales son parecidos a los de los compuestos fenólicos con relación a la desestabilización de la membrana citoplasmática, la interrupción de la fuerza protón motriz (FPM), el flujo de electrones, el transporte activo, la coagulación de componentes celulares y actuar sobre las proteínas de la membrana citoplasmática.

Se ha demostrado que los aceites esenciales presentan actividad fungicida contra un amplio intervalo de patógenos en la postcosecha: aceites esenciales de tomillo y limón incorporados en recubrimientos comestibles para inhibir el desarrollo de *Rhizopus* y *Colletotrichum* en papaya reduciendo la incidencia de estos microorganismos (Ronquillo, 2007), en tanto que Wilson *et al.* (2011) evaluaron la actividad antifúngica de 49 aceites esenciales extraídos de diversas plantas frente a *Botrytis cinerea* encontrando los mejores resultados al emplear aceite esencial de clavo, canela, palmarosa y tomillo rojo.

2 METODOLOGÍA

A continuación se describe la metodología empleada en el desarrollo del proyecto.

2.1 LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología, Microbiología, Textura y Empaques, en la Planta Piloto de lácteos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca, ubicados en la Vereda Las Guacas del Municipio de Popayán a 1760 msnm, temperatura promedio de 19°C y humedad relativa del 77,75% (Alcaldía de Popayán, 2014).y el laboratorio de Microscopia Electrónica en la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca en Popayán (Cauca).

2.2 MATERIALES

2.2.1 Material vegetal. Se utilizaron ahuyamas variedad Bolo Verde cultivada en el municipio de Guachené (Cauca), recolectadas con 60 días después de la floración en estado maduro, considerando tamaño, forma, color (color de la cáscara verde oscuro no opaco y color del pedúnculo 50% marrón) (Sollier *et al.*, 2005). Se trasladaron hasta las plantas piloto de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca en donde se seleccionaron siete frutos sin magulladuras, manchas, decoloraciones, perforaciones, residuos químicos y signos de pudrición, olor y sabor característico (NTC 1291, 1977).

2.2.2 Polietileno. También llamado “vinipel” fabricado con base en polietileno de baja densidad, es una película de plástico extensible, atóxica y adherente en PVC (producto de la polimerización del monómero de cloruro de vinilo a policloruro de vinilo (Pachón; Montaña y Fischer, 2006).

2.2.3 Almidón hidrolizado de yuca. Se utilizó almidón nativo de yuca de la variedad SM 707-17, el cual se modificó con alpha amilasa de *Bacillus amyloliquefaciens* Ban 240 L (Sigma Aldrich), con grado de modificación de 10% de Dextrosa Equivalente (DE) (Bonilla, 2010), con una humedad del 12% en base seca y un tamaño de partícula de 300 µ.

2.2.4 Glicerol. En la fabricación del recubrimiento se empleó glicerol como agente plastificante con 99% de pureza, certificado por el proveedor.

2.2.5 Tween 80. Es un surfactante hidrofílico, soluble en agua y etanol, insoluble en Aceite Mineral y Propilenglicol, usado para lograr la emulsificación del aceite de tomillo en agua (O/W) en la preparación del recubrimiento natural.

2.2.6 Aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*). Son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas, producto del metabolismo secundario de las plantas, generalmente extraíbles a través de la técnica de arrastre con vapor. El aceite de tomillo contiene compuestos tales como timol 38,5%, p-Cimeno 19,5%, y-Terpineno 9,7% y Carvacrol 4,3% a los que se les atribuye una actividad microbiciada, se usó con el objetivo de lograr un efecto biocida del recubrimiento natural en los trozos de ahuyama (Morales, 2015).

2.3 MATERIALES UTILIZADOS PARA PRUEBA DE MICROSCOPIA

2.3.1 Glutaraldehído. Forma puentes entre las moléculas de los tejidos y se usa en proporción de entre el 0,5 y el 3 %. Tiene una alta capacidad para preservar la estructura celular, por lo que es el fijador de referencia para observación de ultraestructuras celulares con el microscopio electrónico, pero hay que tener cuidado con su baja penetración tisular que puede producir retracciones (Megías *et al.*, 2015)

2.3.2 Buffer de fosfato salino (PBS). Es uno de los buffers más utilizados por ser isotónico y no tóxico para las células, que se utiliza para mantener la tonicidad y osmolaridad de tejido y así evitar el deterioro de las células (Pietrasanta y Von Bilderling, 2011).

2.3.3 Tetraóxido de Osmio. Utilizado para aumentar la fijación; aunque es más lento en penetrar la célula que los aldehídos, es un oxidante fuerte que reacciona vigorosamente con los dobles enlaces de los lípidos insaturados. Las soluciones de osmio también reaccionan lentamente con las proteínas, incluyendo las histoproteínas, ayudando así a preservar el tejido y el ADN asociado (Kuo, 2007).

2.3.4 Etanol. Es un alcohol líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78°C. Al mezclarse con agua en cualquier proporción, da una mezcla azeotrópica con un contenido de aproximadamente el 96% de etanol, su fórmula química es CH₃-CH₂-OH, es un líquido incoloro y volátil que se puede consumir como bebida alcohólica, como antiséptico, como insumo químico y como combustible alterno (Mosquera, 2011).

En microscopia, tiene como objetivo eliminar el agua de la muestra sustituyéndola por etanol, proceso conocido como deshidratación. Este proceso se hace de manera gradual evitando así encogimiento drástico de las células, para ello se preparan diluciones con agua destilada y etanol. Para el proceso de deshidratación de la ahuyama, se inició a una concentración de 30%, hasta llegar a etanol al 100%, se hace un segundo cambio y se deja mayor tiempo para asegurar la completa remoción del agua (Nieto, 2010).

2.3.5 Resina. Es una sustancia utilizada para polimerizar y proporcionar a la muestra soporte y dureza, se polimeriza utilizando una cámara de rayos UV, dando como resultado un tejido preservado químicamente rodeado por un plástico duro.

A partir de este proceso, es posible cortar secciones ultrafinas de las células embebidas de plástico y teñirlas para contraste (Kuo, 2007).

2.3.6 Azul de Toluidina. Es un colorante básico que posee una propiedad denominada metacromasia, que hace que tiña ciertos componentes celulares con un color que difiere del color original del tejido. Las tinciones o coloraciones se realizan para posibilitar el estudio morfológico o estructural de un tejido, en el caso de la ahuyama, identificar algunas estructuras y componentes celulares presentes en el tejido expuesto (Megías *et al.*, 2015).

2.3.7 Acetato de uranilo. Es una solución utilizada para efectuar tinciones negativas, a fin de realizar contraste en la muestra, se combina con proteínas y ácidos nucleicos, y sólo se puede obtener información de la estructura de la superficie (Lozano; Yáñez y Morales, 2014).

2.3.8 Citrato de Plomo. Debido a la baja nube de electrones que presentan los átomos de las muestras, es necesario incrementar el contraste de los tejidos para observarlos en el microscopio de transmisión por deposición de metales pesados en la ultra estructura (Lozano, Yáñez y Morales, 2014).

2.3.9 Viales Eppendorf. Contenedor cónico elaborado de vidrio o plástico, utilizado para depositar la muestra, en el cual se realiza la fijación y deshidratación mediante la adición de las soluciones.

2.3.10 Capsulas poliméricas. Capsulas utilizadas como contenedores, almacenando las muestras para polimerización.

2.4 EQUIPOS.

A continuación se lista el equipo utilizado para realizar el recubrimiento, también los equipos usados en la medición de variables.

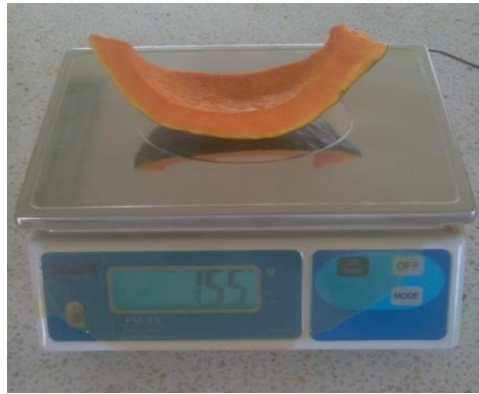
2.4.1 Equipo HL2. Se empleó el equipo HL2 marca DWORKS en la elaboración del recubrimiento, la temperatura y el tiempo de agitación fueron 75°C por 15 minutos respectivamente, tiene capacidad de 11 litros, un sistema de mezclado a doble aspa, baño maría, control automático de velocidad y temperatura (figura 1).

Figura 1. Equipo HL2



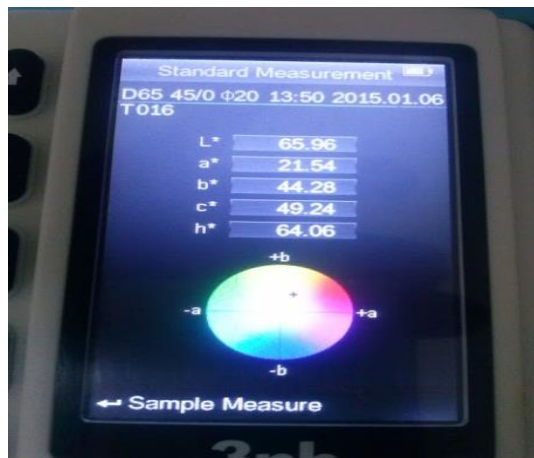
2.4.2 Balanza digital. Se empleó la balanza digital marca OHAUS, con división de escala de 0,1 g y capacidad máxima de 5000 g para determinar la pérdida de peso durante los días de seguimiento (figura 2).

Figura 2. Balanza digital.



2.4.3 Colorímetro. Se utilizó el colorímetro NR20XE, marca 3nh, en el que se ubicó la muestra de la forma más estable posible y se pulsó el botón blanco para tomar la muestra ($L^*a^*b^*C^*h^\circ$), alrededor de 1 segundo se obtuvo el resultado (figura 3).

Figura 3. Colorímetro NR20XE.



2.4.4 Máquina Universal de Ensayos. Se utilizó la máquina universal de ensayos marca SHIMADZU referencia EZ-L 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 (Perdomo e Insuasti, 2015) (figura 4).

Figura 4. Máquina Universal de Ensayos.



2.4.5 OxyBaby Witt. Se utilizó la referencia OXYBABY 6.0 O₂/CO₂, el equipo 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 CO₂ a partir del principio de absorción de infrarrojo y oxígeno por celda electroquímica (Fernández, 2015) (figura 5).

Figura 5. OxyBaby Witt.



2.4.6 Microscopio óptico. Se utilizó el microscopio óptico marca Nikon modelo microphot en la prueba de microscopía en la técnica de microscopía óptica de alta resolución (MOAR) (figura 6).

Figura 6. Microscopio óptico.



2.4.7 Microscopio electrónico de transmisión. Se utilizó el microscopio electrónico de transmisión marca Joel modelo JEM 1200 EX en la prueba de microscopia en la técnica de microscopia electrónica de transmisión (MET) (figura 7).

Figura 7. Microscopio electrónico de transmisión.



2.5 MÉTODOS

2.5.1 Preparación de la muestra. Las ahuyamas fueron seleccionadas sin defectos visibles (magulladuras, manchas, decoloraciones, perforaciones, residuos químicos y signos de pudrición), olor y sabor característico (NTC 1291, 1977).

Los posibles factores de contaminación como tierra, carga microbiana (hongos) que pudieron deteriorar la materia prima y por lo tanto la calidad del fruto, se retiraron mediante limpieza con toallas absorbentes húmedas, posteriormente se realizó la desinfección con toallas absorbentes humedecidas con solución de hipoclorito de sodio a

50 ppm frotando las ahuyamas y se secaron con toallas absorbentes. No se realizó la limpieza y desinfección por inmersión, debido a que el manipuleo durante la inmersión produce lesiones que permiten la entrada de patógenos, el medio acuoso permite la dispersión de inóculo entre los frutos y el cloro activo provoca daños en el exocarpo que favorece la posterior infección y elimina la microbiota naturalmente presente en la corteza que actúa como control natural (Della, 2013). Una vez lavadas y desinfectadas las ahuyamas fueron cortadas en trozos (20 cm largo y 8 cm de ancho) y se le retiraron las semillas. Posteriormente, se colocaron en canastillas previamente lavadas y desinfectadas, los trozos se identificaron con letras de acuerdo con los siguientes tratamientos: SN (muestra testigo), CV (con "vinipel"), CR (con recubrimiento) (figura 8) y CB (sistema binario), luego se almacenaron a temperatura ambiente de 19 °C durante 0 (inicial), 3, 6, 9, 12 días (figura 9). En cada momento de almacenamiento se realizaron las mediciones fisicoquímicas y microbiológicas a los tratamientos por triplicado.

Figura 8. Aplicación del recubrimiento en las muestras a evaluar.



Figura 9. Tratamientos a evaluar (SN, CV, CR, CB)



2.5.2 Recubrimiento de almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1%. Las materias primas se mezclaron en el equipo HL2 (figura 1) a una temperatura de 30°C, adicionando 4% de almidón de yuca, 2% (v/v) de glicerina y 0,02% Tween 80 con 1% (v/v) de aceite esencial de tomillo, luego la mezcla se llevó a baño maría a 75 °C por 15 minutos con agitación constante, posteriormente se llevó a aspersión (Paz, 2014).

La aplicación del recubrimiento se llevó a cabo usando el aspersor modelo Autojet 1550+, Marca Spraying System Co, en donde se controlaron las siguientes variables del proceso para garantizar la uniformidad del recubrimiento en la ahuyama: porcentaje de ciclo 20%, tiempo de anticipación 2 segundos, tiempo posterior 2 segundos, presión del líquido 30 bar, presión de aire 40 bar, con una boquilla neumática, en modo tiempo de pulverización fijo, posteriormente se colocaron las ahuyamas en canastillas previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 horas, luego de lo cual se almacenaron en la plata de lácteos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad del Cauca.

2.5.3 Revestimiento con polietileno “vinipel”. El revestimiento con “vinipel” se realizó de forma manual distribuyendo uniformemente el “vinipel” sobre los trozos de ahuyama, aplicando tres capas de “vinipel” sobre el fruto, posteriormente se colocaron las ahuyamas en las canastillas previamente lavadas y desinfectadas con hipoclorito de sodio.

2.5.4 Obtención del sistema binario. El sistema binario es una mezcla de los dos sistemas de cubierta (recubrimiento de origen natural y revestimiento con “vinipel”) el procedimiento de obtención se llevó acabo de la misma manera que se aplicaron las anteriores, siendo primero la aplicación del recubrimiento de origen natural y después el revestimiento con “vinipel”.

2.6 EVALUACIÓN DE VARIABLES

Se realizó en los laboratorios de Microbiología, Biotecnología, Textura y Empaques, Microscopia Electrónica y en la planta piloto de lácteos.

2.6.1 Pérdida de peso. se determinó mediante los datos que se obtuvieron de las muestras desde el día 0 peso inicial (Pi), hasta el día 12 de almacenamiento peso final (Pf). Las pérdidas acumuladas de peso se expresan como porcentaje de pérdida de peso (%) mediante la siguiente ecuación (Ordoñez *et al.*, 2014):

$$\%PP = (Pi - Pf/Pi)*100$$

Dónde:

PP= Pérdida de peso promedio.

Pi= Peso inicial.

Pf= Peso final.

2.6.2 Color. Fue medido utilizando un colorímetro NR20XE. Se determinaron las variables L* (Luminosidad, 0 = negro a 100 = blanco), a* (- a = verde, a = rojo) y b* (-b = amarillo, b = azul). El color de los trozos de ahuyama fue determinado por triplicado por tratamiento midiéndose en el lado lateral la pulpa en cada momento de almacenamiento.

2.6.3 Firmeza. Se determinó con una celda de 500 N, con máximo desplazamiento de 12 mm y velocidad del cabezal de 5 mm/min. Una vez calibrado el equipo, se colocó la ahuyama en una base y se procedió a hacer la medición en la zona central (Achipiz *et al.*, 2013) por triplicado, expresando los resultados en Newton (N).

2.6.4 Tasa de respiración. Los trozos de ahuyama se colocaron en bolsas selladas herméticamente y con la ayuda del Oxybaby se midió el porcentaje de CO₂ y O₂ durante los días de seguimiento, por triplicado.

2.6.5 Recuento microbiológico. Para la preparación del medio Yeast Glucose Cloranphenicol (YGC), se disolvieron 40 g de medio en 1000 mL de agua destilada, se llevó a ebullición hasta disolver el agar y se esterilizó durante 15 min a 121°C y se sirvió en cajas de Petri estériles. Se pesaron 10 g de ahuyama debidamente cortada y macerada y se llevaron a 90 mL de agua peptonada. Se realizaron diluciones sucesivas hasta 10⁻³. Según el estado de muestra, se esparcieron las diluciones necesarias por duplicado (100 µL) en superficie de la caja de Petri, con el medio anteriormente servido, se esparció la muestra con perlas de vidrio. Se invirtieron las cajas y se incubaron a 28°C. Se contaron las colonias de las cajas después de 3, 4 y 5 días de incubación, se retuvieron las cajas que tenían menos de 150 colonias. (NTC 4132, 1977).

El número de mohos por gramo se obtuvieron aplicando la siguiente fórmula:

$$(\sum C)/v(n1+0,1n2)d$$

Dónde:

Σ C: suma de las colonias contadas en todas las cajas.

n1: número de cajas contadas en la primera dilución.

n2: número de cajas contadas en la segunda dilución.

d: factor de dilución.

V: volumen sembrado.

2.6.6 Prueba de microscopía. Se realizó el procesamiento de las muestras por dos técnicas (MOAR Y MET), microscopia óptica de alta resolución y microscopia electrónica de transmisión respectivamente, cuya finalidad, fue observar los cambios estructurales que sufrió el tejido de la ahuyama después de ser cortado, así mismo el efecto del recubrimiento, sobre las principales estructuras evaluadas (cáscara y pulpa).

2.6.6.1 Procesamiento de muestras mediante técnica MOAR. Se realizaron cortes a los tejidos de la ahuyama expuestos a los tratamientos (SN, CR, CV y CB), tomándose muestras por triplicado de la cáscara y la pulpa en cada uno.

A continuación se fijó el tejido en solución de glutaraldehído al 2,5%, para mantener la estructura celular interna y evitar el deterioro celular durante 24 horas, pasado el tiempo se realizaron tres lavados con buffer de fosfato salino (PBS) cada 5 minutos, dejándose con Tetraóxido de osmio (OsO₄) al 1% como solución fijadora, en refrigeración por una hora y media. Posteriormente, se efectuaron 3 lavados con buffer de fosfato salino (PBS), seguidamente la deshidratación con etanol ascendente de 30% a 100%, se pre embebieron las muestras en una mezcla de etanol y resina a diferentes proporciones (3:1, 1:1, 1:3), finalmente estas se colocaron en resina pura y se polimerizaron en un túnel de rayos UV. Una vez polimerizadas, se hicieron cortes semifinos, con un tamaño entre 300 y 500 nm, empleando el equipo ultra micrótopo Lerca UTC, se fijaron las muestras con

calor en placas portaobjeto, tiñéndose con azul de toluidina, se observó con el microscopio de campo Nikon eclipse 80i el tipo de corte y estructura presente, determinando así, el área de interés (Mosquera, 2011).

2.6.6.2 Procesamiento de muestras mediante técnica MET. Después de seleccionar los mejores cortes de la técnica MOAR, estos se fijaron en Tetraóxido de Osmio (OsO₄) durante una hora para aumentar el contraste en algunas estructuras, pasado el tiempo, se realizaron los cortes ultrafinos con un tamaño entre 40 y 60 nm, obteniendo una tonalidad grisácea; los cortes generados se recolectaron sobre rejillas recubiertas con formvar, con la finalidad de contrastar las muestras con acetato de uranilo al 4% en flotación, ubicados en cámara húmeda durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo, se lavaron con agua destilada por técnica de goteo, evitando retirar el acetato del tejido. Posteriormente sobre solución de citrato de plomo previamente alistada se colocaron las muestras durante un tiempo de diez minutos en cámara húmeda, con la finalidad que reaccionara y caracterizara estructuras del tejido. Finalmente el contraste de la imagen se realizó mediante micrografía electrónica, utilizando el microscopio electrónico de transmisión, el cual mediante las imágenes obtenidas se pudo determinar la morfología y estructuras del tejido de ahuyama evaluado en cada tratamiento (SN, CR, CV, CB), mediante la cámara y negativos Kodak 4489. Para el revelado del tejido analizado, se utilizó el equipo Epson perfection 4490 photo scanner (Mosquera, 2011).

2.6.7 Pruebas bromatológicas. Se enviaron las muestras al laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín para el análisis de azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales para los tres sistemas de cubierta y la muestra testigo.

2.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se aplicó un diseño factorial de dos factores, tiempo vs tratamiento y se analizaron 4 tratamientos variando el tipo de cubierta así: SN (muestra testigo) sin cubierta, CV con revestimiento de “vinipel”, CR con recubrimiento de almidón de yuca modificado por vía enzimática y aceite esencial de tomillo al 1% y CB con sistema binario (recubrimiento de fuente natural y “vinipel”). Se hicieron mediciones de las variables pérdida de peso, color, firmeza, tasa de respiración cada tres días y crecimiento microbiano cada seis días, adicionalmente se realizaron pruebas de microscopia (MOAR y MET), y análisis bromatológicos (azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales) cada seis días, a la misma hora (10:00 de la mañana), almacenando los frutos bajo condiciones ambientales (temperatura promedio de 19°C y humedad media de 77,75%) con tres repeticiones y tres réplicas durante los 12 días de evaluación. Los resultados obtenidos fueron sometidos 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 (LSD) con el fin de encontrar las diferencias significativas teniendo en cuenta la interacción entre medias de tratamientos.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos promedios de cada tratamiento se encuentran en el ANEXO A.

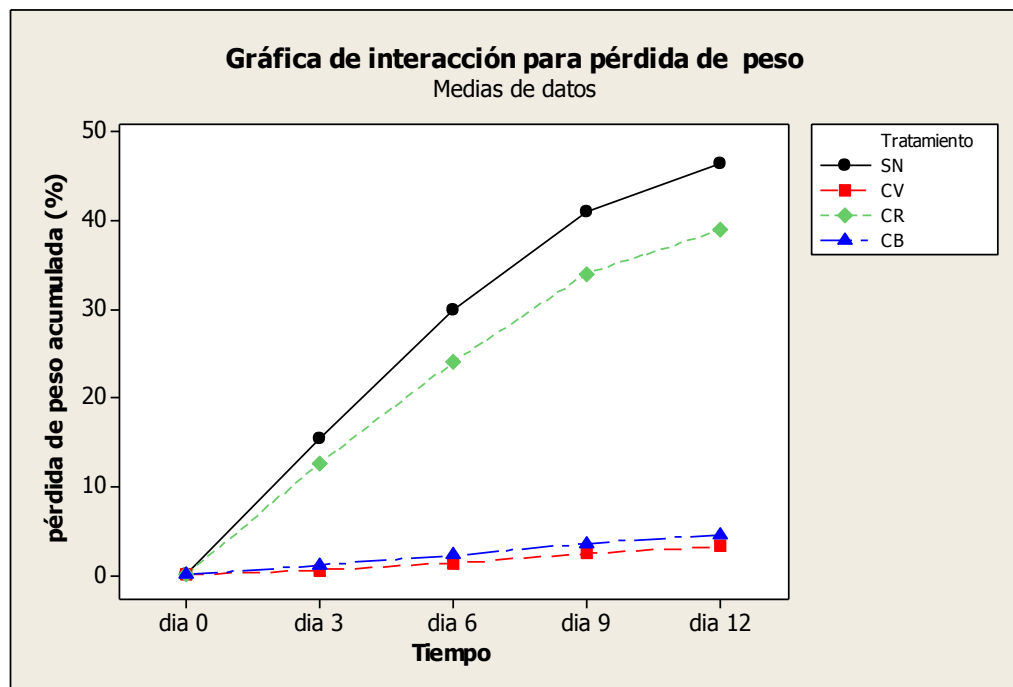
3.1 PÉRDIDA DE PESO

La pérdida de peso es una de las causas más representativas en el deterioro de las cosechas durante el almacenamiento; en ese sentido, es importante procurar disminuirla utilizando materiales de cubierta que prolonguen las características iniciales postcosecha. Por lo tanto, en este proyecto se utilizaron diferentes materiales de cubierta (recubrimiento de origen natural y polietileno de baja densidad (vinipel)) para evitar el incremento en la pérdida de peso en los trozos de ahuyama. En la figura 10 se observa que hubo un efecto negativo al realizar el corte a la ahuyama sobre la pérdida de peso de la muestra testigo (SN), comportamiento que es notorio desde el primer día, debido a que en frutos enteros, el agua de los espacios intercelulares no está directamente expuesta a la atmósfera exterior (Villegas, 2005); sin embargo, al haber realizado el corte se expuso el interior del tejido y drásticamente se incrementó la velocidad de evaporación de agua, como consecuencia el fruto sufre una serie de alteraciones fisiológicas que aceleran los procesos de senescencia, deterioro de tejidos, marchitez y arrugamiento del producto (FAO, 2000), sumado a la actividad de distintas enzimas que inducen cambios en los componentes de la pared celular, provocando de esta forma menor succulencia y firmeza del tejido vegetal (Varoquaux y Wiley, 1994; Mercado y Aquino, 2005; Artés *et al.*, 2007), además de que la diferencia de velocidad de pérdida de agua entre la superficie de frutos enteros y dañados varía de 5 a 500 veces dependiendo de la facilidad del tejido para reparar el daño a través del proceso de suberización (cicatrización de la células exteriores) (Brecht, 2005), información que se corrobora con la comparación de los trozos de ahuyama de la muestra testigo que perdió el 46,4% de su peso en 12 días frente a un fruto de ahuyama entero “tipo kabutia” que solo perdió el 8,6% de su peso a los seis meses en condiciones de temperatura (12°C, 80% HR) (Zaccari, Galeazzi, & Rahi, 2015). Por otro lado los frutos de Litchi cv. Bombay almacenados bajo condiciones ambientales presentaron pérdida de peso de 33,1% en la muestra control (Villegas, 2005) similar a lo observado en este estudio.

Para esta investigación los datos son muy dicentes respecto al comportamiento particular de cada muestra, es notoria una pérdida de peso excesiva para los trozos en los tratamiento SN y CR, donde la disminución supera la tercera parte del peso inicial de los trozos (figura 10), en este caso la aplicación del recubrimiento no tuvo efecto positivo sobre la conservación del producto, mientras con los tratamientos donde se efectuó el empaque con “vinipel” con o sin recubrimiento si hubo diferencias estadísticas

La pérdida de peso fue mayor con el sistema de cubierta de “vinipel”, estos resultados son consecuente con los obtenidos por Pachón; Montañó y Fischer (2006) en un ensayo postcosecha de gulupa (*pasiflora edulis f. edulis*) evaluando el comportamiento a 6°C y 18°C con empaque “vinipel” y cera, donde tomaron como referencia el tiempo de almacenamiento (16 – 24 días), obteniendo que la pérdida de peso con la película (vinipel) igualmente fue menor. El uso de la película de vinipel parece reducir el intercambio gaseoso en rangos favorables para el mantenimiento del trozo de ahuyama, siendo el mejor sistema de cubierta.

Figura 10. Comportamiento de la pérdida de peso vs tiempo de evaluación.



El ANOVA (ANEXO B) muestra que el 95,87% de la información obtenida se ajusta de forma aceptable al modelo matemático y se observó que hay un efecto significativo de las diferentes condiciones evaluadas (SN, CV, CR, CB) sobre la variable, pérdida de peso, como factor principal de evaluación ($P < 0,05$). Con el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos se encontró diferencias significativas entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, CV y CR, CR y CB, lo que permite inferir que los tratamientos presentan un comportamiento diferente respecto a la muestra testigo, además no hubo diferencias significativas entre los tratamientos CV y CB lo que quiere decir que estos tratamientos tuvieron un comportamiento similar en la pérdida de peso, comportamiento que se mantuvo durante el tiempo de valoración.

3.2 COLOR

El color es un factor que incide en el momento de la compra ya que se relaciona directamente con la aceptabilidad del producto, es en este sentido la ahuyama parece ser una de las fuentes más promisorias en términos de contenido de provitamina A, el cual varía significativamente entre muestras del mismo alimento debido a factores tales como etapa de madurez, efectos climáticos o geográficos, parte utilizada del fruto, manejo post-cosecha y almacenamiento (Rodríguez, 1999). Por ello, se evaluó en este estudio los cambios de color de los trozos de ahuyama a través de los parámetros: luminosidad L^* ($L^* = 0$ para el negro y $L^* = 100$ para el blanco), cromaticidad a^* (verde [-], rojo [+]) y b^* (azul [-], amarillo [+]) y se midieron las coordenadas C^* (croma) y h° (tono).

En la figura 11 exhibe el valor de L^* de los trozos de ahuyama que disminuyó continuamente, lo que parece indicar que el trozo fue más oscuro al final del almacenamiento que al inicio, esto pudo explicarse por la ruptura de las células por el corte que permitió que las enzimas entraran en contacto con sustancias de las cuales normalmente se encuentran separadas, como consecuencia, se producen una serie de reacciones químicas que conducen al deterioro de las células y el tejido dañado frecuentemente se torna marrón o negro debido a la síntesis de melanina, la producción de olores y sabores atípicos y desagradables es también una característica de los tejidos afectados (FAO, 2000). No se encontraron diferencias de luminosidad entre los tratamientos.

Las figuras 12 y 13, presentan los valores medios de las coordenadas a^* , b^* medidos en el lado lateral de los trozos de ahuyama evaluados en los días 0, 3, 6, 9 y 12 de almacenamiento, en el día 3 la muestra testigo aumento el parámetro a^* , en el día 6 el recubrimiento y en el día 9 los trozos con “vinipel”, esto se puede explicar por lo que el fruto una vez cosechado sigue su proceso de maduración fisiológica, la conversión de almidón a azúcares continúa y el contenido de β -caroteno puede mejorar (Guillermo y Fornaris, 2012), se puede decir que la muestra testigo alcanzó este proceso en menor tiempo, luego es notoria la pérdida de color esto pudo suceder porque la ahuyama al ser cortada en pedazos pequeños aumenta la exposición al oxígeno y se ponen en contacto los carotenoides con las enzimas (peroxidasa y lipoxidasa) que catalizan la oxidación de los carotenoides (Rodríguez, 1999) además de la enzima polifenoloxidasas (PPO) que genera el oscurecimiento en las frutas y hortalizas (Escobar, 2013) y algunos fenómenos fisiológicos en los tejidos como la transpiración, se ven reflejados en la pérdida de humedad durante el almacenamiento lo cual puede afectar el cambio de color (Del valle *et al.*, 2005), en este caso la aplicación del recubrimiento tuvo un efecto positivo en el aumento de las síntesis de carotenoides hasta el día 6, luego presenta un comportamiento similar con la muestra testigo y los trozos con “vinipel” con o sin recubrimiento conservan el color hasta el día 9, por lo que se puede inferir que empaque con “vinipel” actuó mejor ya que conservó el color, mientras que el recubrimiento presentó un efecto menos favorable a partir del día 6.

Las figuras 14 y 15, enseñan los valores de Croma (C^*) y Tono (h°), los cuales son considerados valores importantes en este trabajo debido a que incluyen las variaciones en las longitudes de onda a^* y b^* abarcando el espectro de color de los trozos de ahuyama en su proceso de maduración (color verde pálido hasta naranja intenso), la escala chroma indica que el color tiende hacer menor saturado, característica conferida por los carotenoides presentes que son menos representativos, asociado con el parámetro b^* que también muestra la disminución con el tiempo. La disminución de h° es el indicador del cambio de matiz de naranja a marrón por efecto de la marchitez del fruto, consistente con la disminución de la saturación (C^*). En los trozos de ahuyama con “vinipel” y recubrimiento presentaron un comportamiento similar en la gráfica, en donde se observó disminución y aumento de la tonalidad cada tres días consistente con la gráfica de saturación y el parámetro b , lo que indica que la aplicación de un empaque sea recubrimiento o “vinipel” ocasiona cambios en el comportamiento de los trozos de ahuyama en donde no presentan una disminución constante, se recomienda realizar pruebas del contenido de carotenoides y el efecto de pardeamiento en los trozos.

Resultados similares se encontraron en un estudio con mora castilla (*Rubus glaucus* Benth) durante 10 días de almacenamiento presentando disminución en el color en ambas coordenadas a^* y b^* (Ramírez, 2013) y en los cubos de mango de la variedad Tommy Atkins se presentó pérdida de color (Dussán, Torres y Hleap, 2014) tal como se presentó en este estudio.

Figura 11. Comportamiento del Parámetro L^* (Luminosidad) vs tiempo de evaluación.

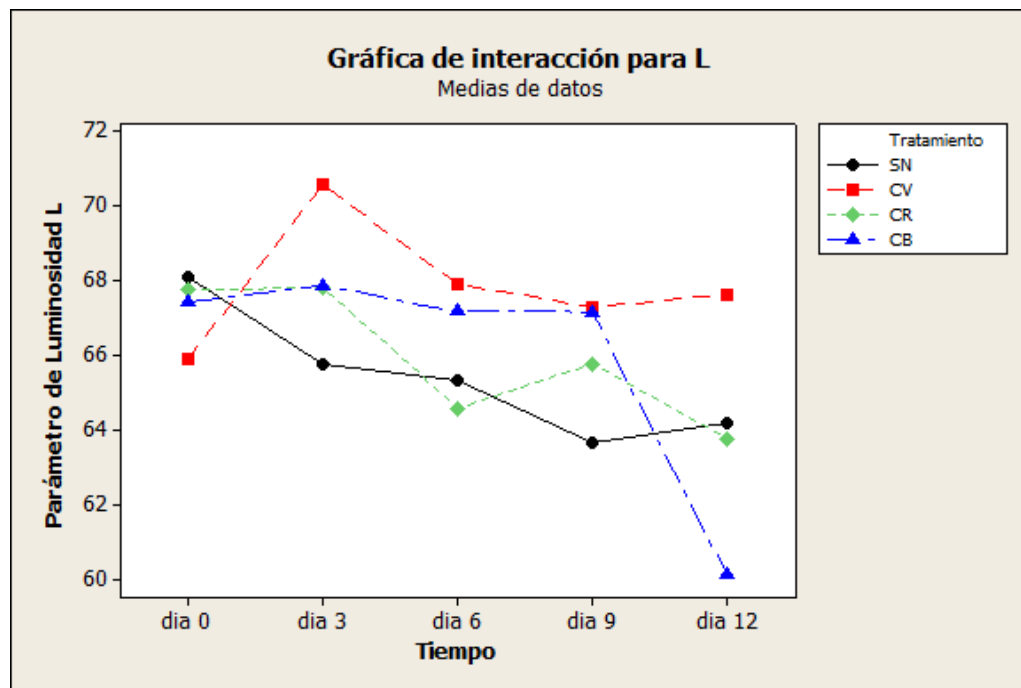


Figura 12. Comportamiento de la coordenada a* vs tiempo de evaluación.

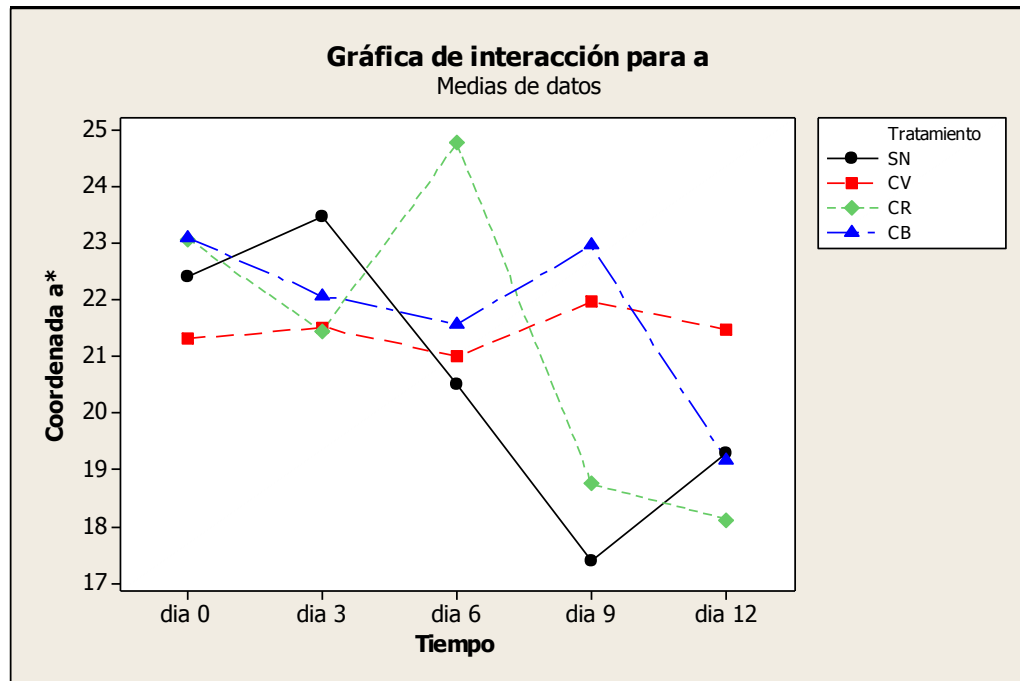


Figura 13. Comportamiento de la coordenada b* vs tiempo de evaluación.

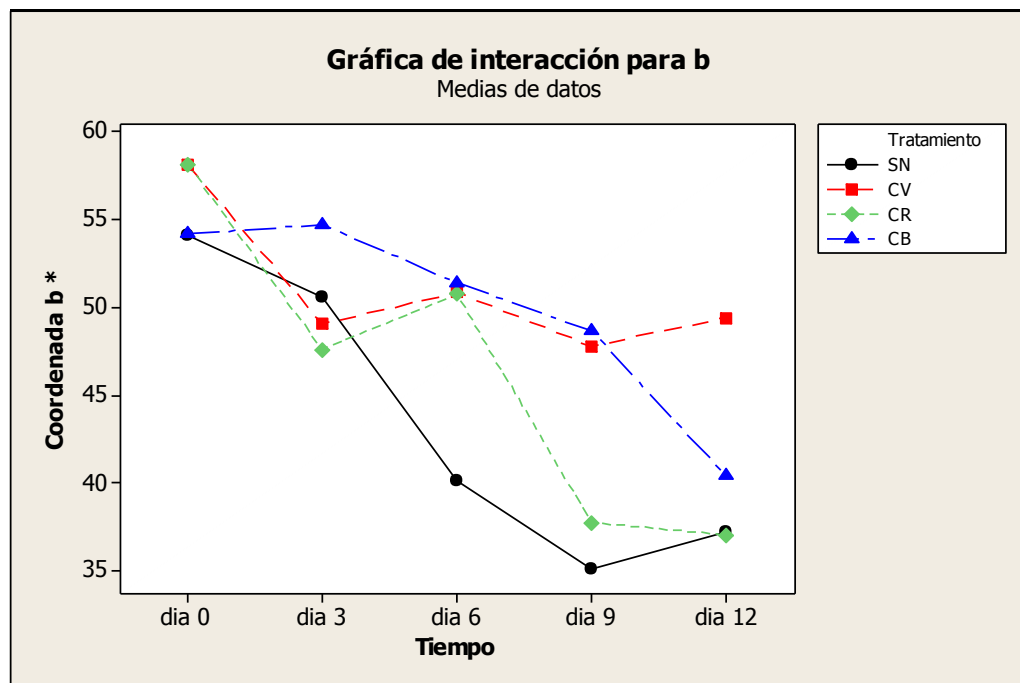


Figura 14. Comportamiento del parámetro h° (Tonalidad) vs tiempo de evaluación.

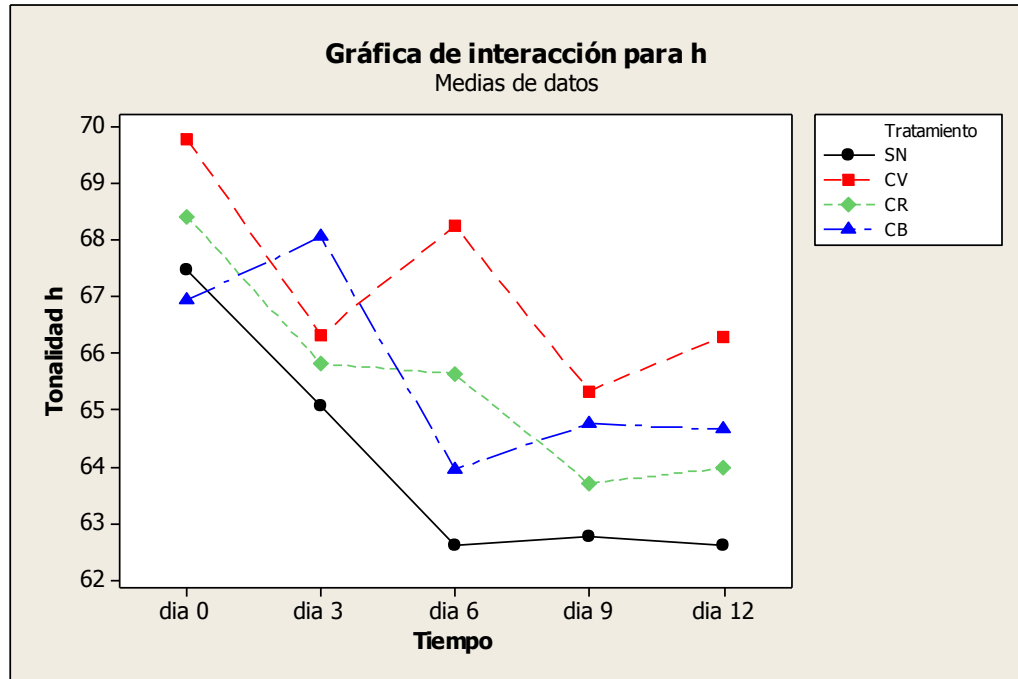
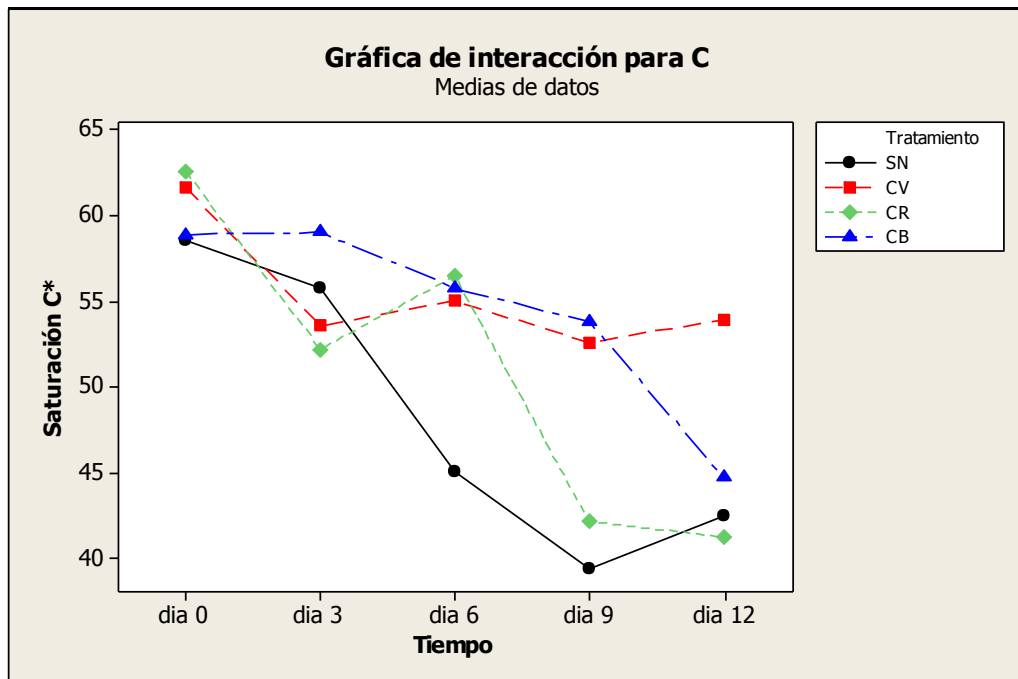


Figura 15. Comportamiento del parámetro c^* (Saturación) vs tiempo de evaluación.



Al evaluar los resultados mediante ANOVA (ANEXO C), se observó que en la coordenada L^* no se presentó diferencias significativas entre los tratamientos al día 12 de almacenamiento lo que indica que la disminución de luminosidad es similar en los

tratamientos. Con respecto a la coordenada a^* (ANEXO D), no se encontraron diferencias significativas siendo similar el comportamiento entre los tratamientos. En la coordenada cromática b^* (ANEXO E), se presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) por efecto del factor tiempo entre el día 0 y el día 12 en los tratamientos SN y CV, SN y CB, CV y CR, lo que indica que hay influencia de los tratamientos sobre la variable pérdida de color. Al realizar el análisis comparativo de medias LSD en relación tratamiento – tiempo se encontró que en el día 6 hubo una diferencia significativa entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, lo que permite inferir que los tratamientos mostraron un comportamiento diferente respecto a la muestra testigo. En los días 9 y 12, no se presentaron diferencias entre SN y CR, CV y CB, lo que quiere decir que la muestra control y el recubrimiento presentaron un comportamiento similar en la pérdida de color, en este caso la aplicación del recubrimiento no tuvo ningún efecto positivo sobre la conservación del color, mientras que los tratamientos donde se efectuó el empaque con “vinipel” con o sin recubrimiento si hubo diferencias estadísticas. En cuanto a C^* (ANEXO G), se presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) por efecto del factor tiempo entre el día 0 y el día 12 en los tratamientos SN y CV, SN y CB, CV y CR, lo que indica que hay influencia de los tratamientos con “vinipel” sobre la saturación. Al realizar el análisis comparativo de medias LSD en relación tratamiento – tiempo se presentó que en el día 6 existe una diferencia significativa entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, lo que permite inferir que los tratamientos mostraron un comportamiento diferente respecto a la muestra testigo resultado similar en el parámetro b^* . En los días 9 y 12 no se presentaron diferencias entre SN y CR, CV y CB, lo que quiere decir que la muestra control y el recubrimiento presentaron un comportamiento similar en la disminución de saturación del color. En los resultados de la matiz h° (ANEXO F), se presentó diferencia significativa ($p < 0,05$) por efecto del factor tiempo entre el día 0 y el día 12 en los tratamientos SN y CV, SN y CB, CV y CR, CV y CB lo que indica que cambia la tonalidad del color amarillo de la ahuyama a un color marrón siendo similar el comportamiento en los tratamientos CR y CB. Al realizar el análisis comparativo de medias LSD en relación tratamiento – tiempo se evidenció que en el día 6 sucedió una diferencia significativa entre SN y CV, CV y CR, esto se debe a que el tratamiento con “vinipel” presentó un aumento en la tonalidad siendo lejado este valor a los demás tratamientos. En último día hubo diferencia entre SN y CV, lo que quiere decir que el comportamiento tiende a ser similar entre los demás tratamientos.

3.3 FIRMEZA

Las frutas y hortalizas sufren varios cambios fisiológicos durante el almacenamiento postcosecha incluyendo ablandamiento de tejido (pérdida de firmeza) y arrugamiento esto se debe a que la textura de las frutas cambia debido a la hidrólisis de los almidones y de las pectinas, la reducción de su contenido de fibra y por los procesos degradativos de las paredes celulares que provocan una partición de las moléculas, facilitando el contacto de enzimas (proteolíticas y pectolíticas) y sustratos (FAO, 2000).

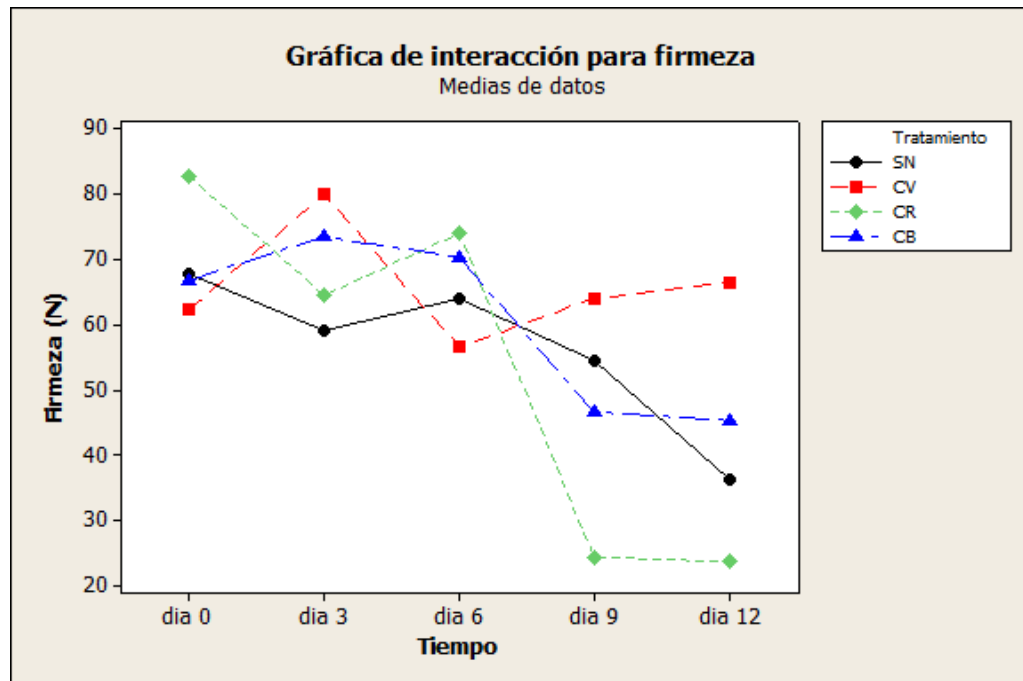
En el primer día de evaluación se permite observar resultados heterogéneos de los frutos respecto a la firmeza (figura 16); para esta estancia se encontraron valores con un mínimo de 62,3 y un máximo de 82,7 N, acontecidos posiblemente al estado de madurez del fruto y a las condiciones en que se encuentre en la plantación tales como el clima (exposición al sol) y la superficie expuesta al suelo. Prosiguiendo con las mediciones, para el día 3, solamente los frutos pertenecientes a los tratamientos CV y CB aumentaron su firmeza en un margen de 17,7 y 6,7 N respectivamente, desde allí y hasta el final del ensayo, estas dos fueron las muestras que obtuvieron los más altos valores de firmeza. La tendencia promedio tiende a disminuir a medida que pasaba el tiempo de almacenamiento, esto pudo verse con mayor claridad en los tratamientos SN y CR, los cuales dan lugar a los valores más bajos al final de las mediciones, debido a la degradación por hidrólisis de las paredes celulares durante la maduración, que afecta las fuerzas de cohesión que mantienen unas células unidas con otras y da paso a un ablandamiento del fruto y consecuente disminución de su resistencia a la penetración (Barco *et al.*, 2011). Además, para todos los tratamientos se presentó un determinado momento donde hubo un incremento esporádico de la firmeza; esto es debido a la severa deshidratación que sufrieron algunos frutos, generando características “corchosas” en la corteza lo que dificultaba la ruptura de la misma.

En el caso de los trozos utilizados en los tratamientos CV, los datos obtenidos en la finalización del experimento (Figura 16), difieren muy poco en comparación con los anotados inicialmente. Es válido recordar que la ahuyama (*cucúrbita moschata*) Variedad Bolo Verde posee un epicarpo (cáscara) delgado, además posee una capa de cera natural en la superficie, llamada cutícula, por lo generalmente tiene una baja permeabilidad para el vapor de agua, al aplicar una capa externa como el “vinipel” se aumenta la barrera natural o la reemplazará en el caso de que la capa se haya removido o alterado durante el manejo postcosecha, mejorando la manipulación mecánica adecuada para ayudar a mantener la integridad estructural y retener los compuestos volátiles de sabor (Barco *et al.*, 2011). El uso de la película de vinipel parece reducir el intercambio gaseoso en rangos favorables para el mantenimiento del trozo de ahuyama y su efecto es independiente del empleo del recubrimiento, la cual de forma específica no es un método viable para evitar pérdidas de firmeza, debido a que presentó mayor pérdida de firmeza y crecimiento fúngico superando al de la muestra testigo, esto pudo suceder debido a que el uso de recubrimiento de fuente natural, al ser aplicado aumentó la humedad del fruto mientras se secó, de igual manera la carga microbiana inicial del almidón. Además, la rotura de los tejidos de la fruta (corte) facilitó la invasión por microorganismos e incremento la pérdida de agua de los trozos de ahuyama provocando el ablandamiento del tejido.

Los resultados son consecuentes con los obtenidos por Pachón; Montañó y Fischer (2006) en un ensayo postcosecha de gulupa (*pasiflora edulis f. edulis*) evaluando el comportamiento a 6°C y 18°C con empaque “vinipel” y cera, tomando como referencia el tiempo de almacenamiento (16 – 24 días), donde las muestras con “vinipel” obtuvieron los

más altos valores de firmeza igualmente presentaron un incremento esporádico de la firmeza, generando características “corchosas” en la corteza lo que dificultaba la ruptura de la misma.

Figura 16. Comportamiento de firmeza (N) vs tiempo de seguimiento.



Se empleó el modelo estadístico ANOVA (ANEXO H) que muestra que el 89,09% de la información obtenida se ajusta de forma aceptable al modelo matemático y se observó que hay un efecto significativo de las diferentes condiciones evaluadas (SN, CV, CR, CB) sobre la variable, pérdida de firmeza, como factor principal de evaluación ($P < 0,05$). Al realizar el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos se encontró diferencias significativas entre SN y CV, CV y CR, CR y CB, lo que quiere decir que existió influencia del “vinipel” sobre la variable firmeza, debido a que este parámetro está relacionado con las propiedades mecánicas de la hortaliza y por otra parte la pérdida de agua 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 en relación tratamiento – tiempo se encontró que en el día 3 hubo diferencias significativas entre SN y CV, SN y CB, CV y CR que corresponden a los tratamientos con “vinipel” respecto al testigo y el recubrimiento con respecto al “vinipel”. En el día 6 hubo diferencias significativas entre CV y CR y entre CV y CB en el que permanece un comportamiento diferente entre el recubrimiento y el “vinipel”. En los días 9 no se evidenció diferencia entre SN y CV, SN y CB, donde es notoria la disminución excesiva de firmeza en los trozos con recubrimiento. En el último día se presentaron diferencias entre todos los tratamientos, menos entre SN y CB, lo que indica que la muestra testigo y el sistema binario presentaron un comportamiento similar en la firmeza, aunque el comportamiento

de los cuatro tratamientos fue diferente al final de los seguimientos se observó una diferencia notable entre la muestra con “vinipel” y el recubrimiento, ya que el tratamiento CV fue el que menor pérdida de firmeza presentó, por lo que se puede considerar el mejor tratamiento con respecto a esta variable.

3.4 TASA DE RESPIRACIÓN

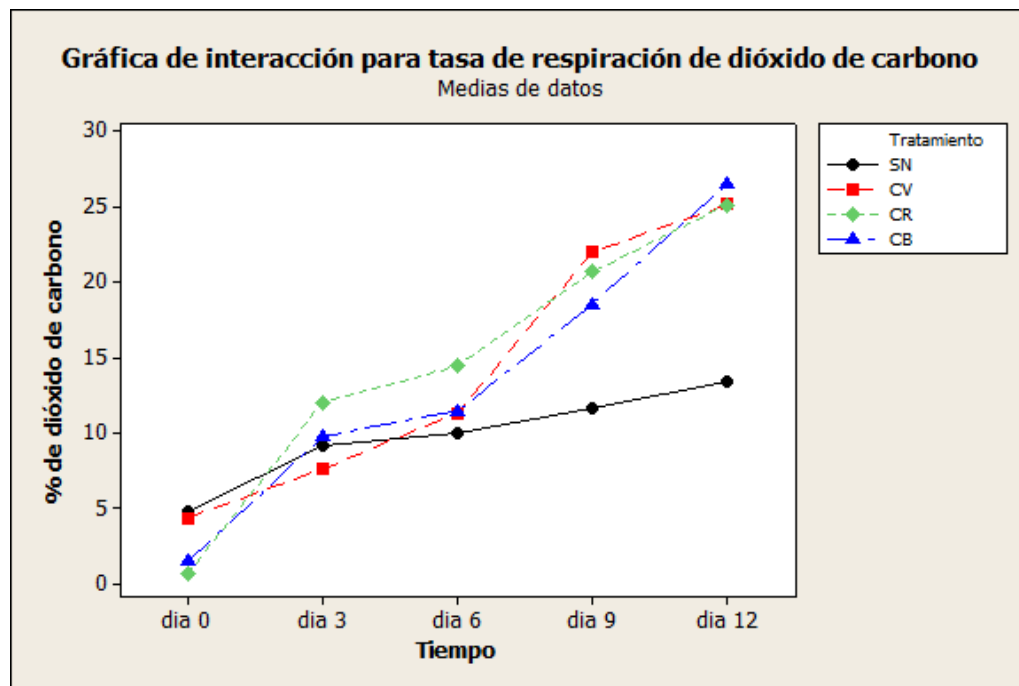
La respiración es el principal proceso fisiológico que regula la mayoría de las alteraciones bioquímicas que se traducen en modificaciones de color, sabor y aroma. A su vez, la tasa de respiración es función de diversos factores intrínsecos y extrínsecos como la variedad de la fruta, el punto de cosecha (grado de madurez), la temperatura ambiente, la concentración de gases alrededor del producto, cortes y los daños mecánicos ocasionados en la fruta (Chitarra *et al.*, 2008). La ahuyama se puede clasificar como un fruto no climatérico ya que las frutas no climatéricas solo maduran para consumo en la planta, manteniendo niveles bajos de respiración y producción de etileno (FAO, 2000).

3.4.1 Porcentaje de CO₂. Las frutas y hortalizas frescas necesitan respirar a fin de obtener la energía suficiente para realizar sus procesos metabólicos, por el cual la producción de energía proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos (FAO, 2013). En este proceso respiran absorbiendo oxígeno de la atmósfera y liberando dióxido de carbono además que una vez la fruta es cortada, se desencadenan una serie de reacciones fisicoquímicas que originan el aumento de la tasa de respiración, el corte provoca daño en los tejidos de la fruta, aumentando el oscurecimiento, la pérdida de agua y un deterioro general de la calidad, lo cual tiene una influencia directa en la vida postcosecha del producto (Wiley, 1994).

En la figura 17, se observa mayor liberación de CO₂ en los tratamientos con sistema de cubierta, estos resultados se deben posiblemente a que la temperatura incide en la modificación de la composición atmosférica dentro de los materiales de cubierta (“vinipel” y recubrimiento) y la superficie modificada, alterando la temperatura alrededor del corte debido a la permeabilidad y estructura del material de revestimiento, lo cual para el proceso de respiración es un factor negativo ya que acelera e induce a una degradación celular y difusión del gas hacia el exterior de la célula (Kader, 1992), evidenciado en la superficie del material de revestimiento “vinipel”, como formación de exudados en forma de pequeñas gotas. Resultados similares se presentaron en zanahoria que al ser cortada en tamaños de 2 pulgadas, su respiración aumentó del 25 al 50%; o en el caso de lechuga que aumentó de 2-3 veces su tasa de respiración. La velocidad de respiración de zanahoria entera y pelada fue de 6 $\mu\text{L/g h}$, mientras que cortada en forma de discos o tiras su velocidad se incrementó a 8 y 12 $\mu\text{L/g h}$, respectivamente; en col también se incrementó su velocidad de respiración a 6, 13 y 17 $\mu\text{L/g h}$, al ser cortada en cuartos, tiras de 0,5 x 3 cm y 0,25 x 1,5 cm, respectivamente. Una velocidad de respiración más alta indica un metabolismo más rápido (Cantwell, 1998).

En general, se observó que los trozos de ahuyama con material de cubierta y recubrimiento de fuente natural en comparación con la muestra testigo marcaron una curva ascendente en términos de actividad respiratoria, hasta registrar en promedio, 25,2% CO₂ CV, 26,1% CO₂ CR y 27,1 CO₂ CB, respecto a 13,4 % CO₂ de SN en el día 12 (figura 17), lo que pone en manifiesto las significativas diferencias entre los tratamientos. Así mismo, el recubrimiento de fuente natural no logró reducir la actividad respiratoria de los trozos, ya que presentó diferencias significativas con la muestra control y se observó un aumento en dicha intensidad respiratoria, esto coincide con el resultado de Ghidelli, (2012), quien utilizó un recubrimiento con base en proteína de soja, ácido cítrico y glicerol encontrando de igual manera un incremento en la tasa de respiración con respecto al control (muestras no recubiertas).

Figura 17. **Comportamiento del porcentaje de CO₂ vs tiempo de seguimiento.**



Se utilizaron materiales de cubierta (recubrimiento de fuente natural y “vinipel”) para evitar el incremento en la tasa de respiración en los trozos de ahuyama evaluados. Para el análisis se empleó el modelo estadístico ANOVA (figura 51, Anexo I) que muestra que el 98,12% de la información obtenida se ajusta de forma aceptable al modelo matemático y se observó que hay un efecto significativo de los diferentes tratamientos evaluados (SN, CV, CR, CB) sobre la tasa de respiración con ($P < 0,05$). Al realizar el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos se presentaron diferencias significativas entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, lo que permite inferir que existió influencia de los tratamiento sobre la variable porcentaje de CO₂. También se realizó la prueba LSD teniendo en cuenta la interacción tiempo – tratamiento en CO₂, donde se encontró que en el día 3 arrojó diferencia entre CV y CR y entre CV y CB, debido a que la película de

“vinipel” genero una barrera de protección entre el trozo y el ambiente ayudando a disminuir la producción de CO₂. En el día 6 hubo diferencias significativas entre SN y CR, CV y CR, CR y CB, debido a que el tratamiento con recubrimiento presentó mayor producción de dióxido de carbono con respecto a los demás tratamiento, por lo tanto mayor degradación celular. En el día 9 se observaron diferencias significativas entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, lo que quiere decir que hubo disponibilidad de oxígeno para la producción de dióxido de carbono, como consecuencia no se evidenció un pico respiratorio de la maduración organoléptica. En el día 12 se observó diferencias entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, CV y CB, ya que la muestra testigo presentó menor porcentaje de CO₂, este resultado se presentó probablemente a la presencia de hongos que causan daño físico e incrementan la pérdida de agua y respiración (FAO, 2013). Los tratamientos con recubrimiento no presentaron un resultado positivo en la disminución de porcentaje de CO₂.

3.4.2 Porcentaje de O₂. La respiración como proceso fisiológico fundamental en la degradación y síntesis de metabolitos en el fruto, involucrando reacciones complejas que en condiciones normales requiere como sustrato principal el oxígeno y genera como producto CO₂ y H₂O, por ello los niveles de O₂ retardan o aumentan la respiración y el metabolismo de carbohidratos.

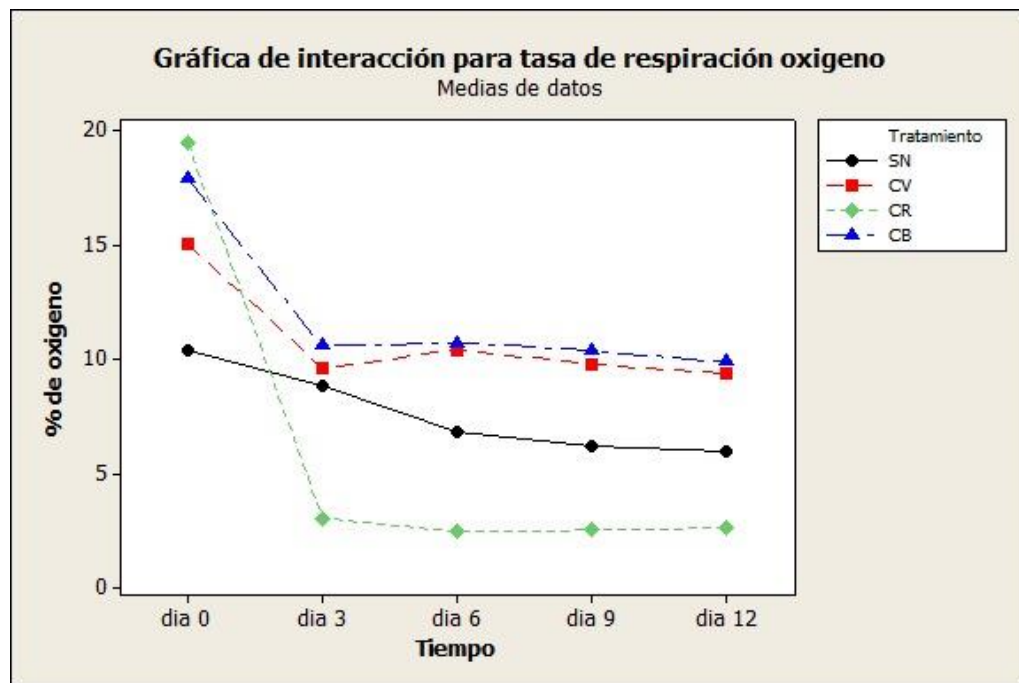
Al realizar el corte en la estructura del fruto es notoria la disminución excesiva en el contenido de oxígeno (figura 18), ya que una vez realizado el corte inició un proceso de reparación celular donde su principal sustrato es el oxígeno, resultado que se comparó con los frutos enteros que no han sufrido daño físico como el tomate larga vida (*Solanum lycopersicum*) con aplicación de recubrimiento con base en aloe vera, aceite esencial de naranja y extracto etanólico de propóleo, donde el comportamiento en la disminución de la tasa de respiración del oxígeno es constante y menor (Fernández, 2015) en relación a este estudio.

En la figura 18 se observa mayor efectividad en los tratamientos con “vinipel” con o sin recubrimiento con una disminución progresiva en el porcentaje de oxígeno, creando una modificación en la composición atmosférica, por ello al bajar la concentración de oxígeno y/o subir la de dióxido de carbono se pudo suprimir el crecimiento del fúngico con el “vinipel” en este estudio.

Para el análisis de los resultados del porcentaje de oxígeno se empleó el modelo estadístico ANOVA (figura 52, Anexo I) que muestra que el 88,57% de la información obtenida se ajusta de forma aceptable al modelo matemático y se observó que hay un efecto significativo ($P < 0,05$) de los diferentes tratamientos evaluados (SN, CV, CR, CB) sobre la tasa de respiración evaluada como porcentaje de O₂, al realizar el análisis comparativo de medias LSD entre tratamientos hubo diferencias significativas entre SN y CV, SN y CR, SN y CB, CV y CR, CR y CB, lo que permite inferir que los tratamientos presentan un comportamiento diferente respecto a la muestra testigo, además se obtuvo que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos CV y CB, lo que quiere decir

que estos tratamientos tuvieron un comportamiento similar en el incremento de la tasa de respiración. Se realizó la prueba LSD teniendo en cuenta la interacción tiempo – tratamiento, se encontró que en el día 3 arrojó diferencias significativas entre SN y CR, CV y CR, CR y CB, ya que el tratamiento con recubrimiento aceleró su consumo de O₂ para transformarlo en CO₂, iniciando su fase de senescencia, los demás tratamientos presentaron una tendencia decreciente. En los días 6 y 9 se observaron diferencias significativas entre SN y CR, SN y CB, CV y CR, CR y CB, presentando tendencia decreciente constante y un comportamiento similar entre los tratamientos SN y CV, CV y CB. Para el último día de seguimiento, las diferencias se presentaron entre SN y CB, CV y CR, CR y CB debido a que el recubrimiento disminuyó el oxígeno de 19% a 3% iniciando su fase de senescencia desde el día 3, lo que quiere decir que 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 (Álvarez, 2012).

Figura 18. Comportamiento del porcentaje de O₂ vs tiempo de seguimiento.



3.5 PRUEBAS BROMATOLÓGICAS

En el deterioro de las frutas y hortalizas y en general el de los alimentos, se involucran en particular cambios en la composición química, física, sensorial y microbiológica. Entre los principales cambios en la composición química y física que sufren los productos en fresco desde el momento que son procesados hasta el momento de ser almacenados se incluyen la pérdida de sólidos totales, carbohidratos, ácidos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, deterioro de la textura, deshidratación y oscurecimiento enzimático (Escobar, 2013).

Los resultados obtenidos de análisis bromatológico de la ahuyama son de las muestras enviadas al laboratorio de análisis químico y bromatológico de la Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín para el análisis de azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales para los tres sistemas de cubierta y la muestra testigo (ANEXO J).

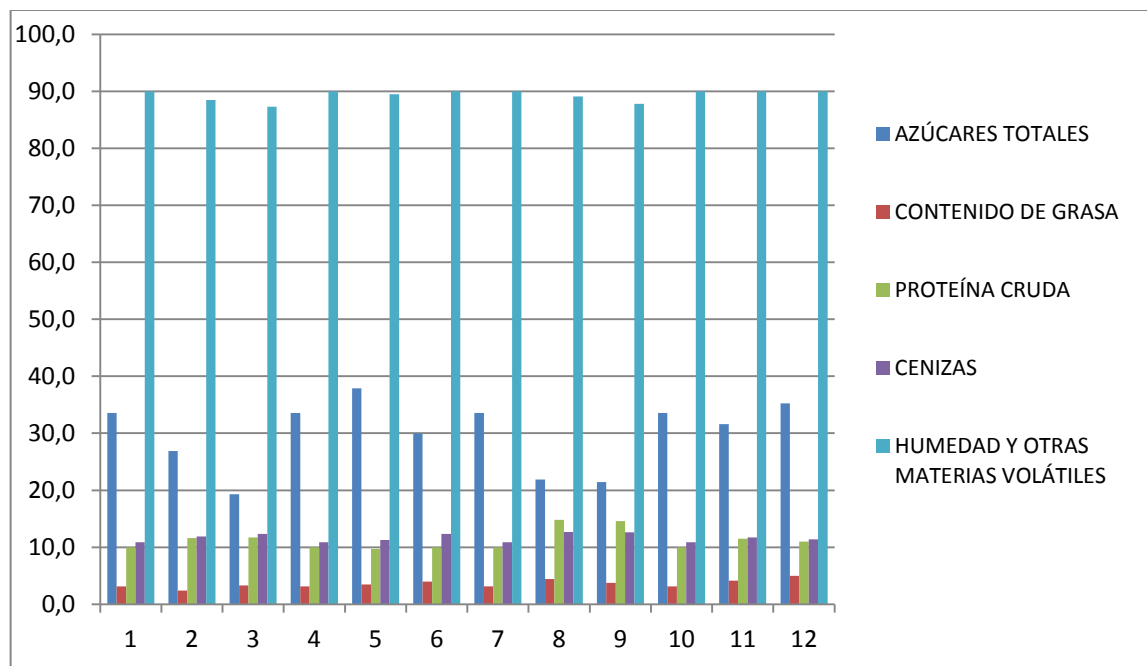
Durante la maduración, los carbohidratos de los trozos de ahuyama principalmente el almidón es degradado rápidamente acumulándose azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa (Marriott *et al.*, 1981; Hubbard *et al.*, 1990). Cuantitativamente, el cambio más importante asociado a la maduración de frutos es la degradación de los carbohidratos poliméricos; estas transformaciones tienen el doble efecto al alterar tanto el gusto como la textura del producto (Wills *et al.*, 1984). En este estudio se pudo observar que el contenido de carbohidratos (figura 19) fue de 33,6% (día 0), durante el tiempo de evaluación se presentó una disminución de azúcares totales en los trozos SN, CV y CR con valores de 19, 30 y 21,5% (día 12), disminución que se debe a la respiración, donde la producción de energía proviene de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos y a la deshidratación donde inicia la activación de algunas enzimas (alfa-amilasa, beta-amilasa e invertasa) (Reyes, 1972). Además, las levaduras también usan los azúcares como fuente de carbono, para las necesidades de crecimiento y reproducción (Casallas, s.f)

En los trozos de ahuyama se encontró un contenido de grasa inicial de 3,12% (día 0), se observa un incremento en el porcentaje de grasa en los trozos SN, CV, CR Y CB con valores de 3,3, 4, 3,7 y 5% respectivamente (la figura 19), lo cual es debido a la pérdida de agua que produjo la concentración de este nutriente en el fruto, esto es consistente con los resultados obtenidos por Casallas (s.f). donde el contenido de grasa aumento en el banano deshidratado frente al fresco presentando un contenido de grasa de 1,1 g en 100 g.

El análisis de humedad indica la cantidad de agua que contiene un alimento, lo cual es de gran importancia para la calidad del mismo, debido que a mayor humedad en el alimento, será más fácil de conservar y de esta forma podrá tener menos probabilidad de contaminación (Ureña y Encina, 2007). En la figura 19 se puede observar un porcentaje de humedad de los trozos de ahuyama de 90% (día 0), este valor es similar a los datos reportados por Villegas *et al* en el 2008 que muestra un valor de 90%. En la maduración el contenido de agua en la pulpa aumenta no sólo por la hidrólisis del almidón, sino también por el movimiento osmótico del agua de la cáscara hacia la pulpa; una vez el agua se encuentra en la pulpa se producen pérdidas de agua en los trozos de ahuyama conforme continúa el proceso de maduración. En el caso de los trozos de ahuyama SN y CR presentó una disminución de humedad del 90% a 87,3 – 87,8%, respectivamente, posiblemente como consecuencia directa de la diferencia de humedad entre la ahuyama y el ambiente, este diferencial genera un proceso de deshidratación celular (Buitrago y Escobar, 2009).

El contenido de proteína determina la cantidad de nitrógeno orgánico presente en el alimento. Los trozos de ahuyama presentaron un elevado contenido de proteína cruda de 10% (día 0) (figura 19), resultado que indica que la ahuyama es un alimento rico en proteína. En esta investigación el contenido de proteína aumentó en los tratamientos SN, CR y CB con valores de 11,7, 14,6 y 11% respectivamente, siendo notorio el incremento en los trozos de ahuyama con recubrimiento natural, debido a la composición del recubrimiento que pudo aportar proteína a la muestra, de igual manera el aumento pudo suceder ya que al perder agua se concentró el contenido de nutrientes, aumentándose su valor, además se produce debido a la síntesis de enzimas donde existe producción enzimática y por ende proteínas (Wills *et al.*, 1984), es consistente en investigaciones donde ha aumentado este nutriente con valores de 3,0 y 3,9 g en secado y deshidratado de banano (Aurore *et al.*, 2009).

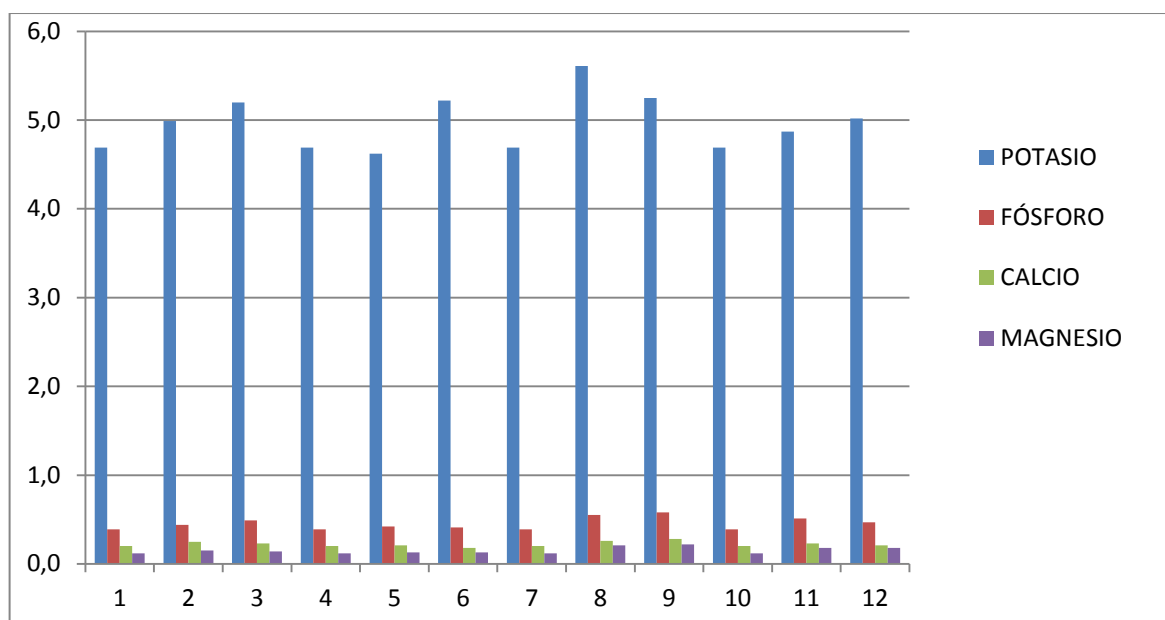
Figura 19. Pruebas bromatológicas (azúcares totales, contenido de grasa, proteína, cenizas, humedad y otros materiales volátiles) en porcentaje (%) vs tiempo de seguimiento.



Nota. 1, 2, 3 indica el tratamiento SN (días 0, 6 y 12). 4, 5, 6 indica el tratamiento CV (días 0, 6 y 12). 7, 8, 9 indica el tratamiento CR (días 0, 6 y 12). 10, 11, 12 indica el tratamiento CB (días 0, 6 y 12).

La ahuyama cuenta con un alto valor nutritivo, presentando un alto contenido de minerales con un valor de cenizas de 10,9% en el día 0, pertenecientes a minerales como el potasio, fósforo, calcio y magnesio entre otros, durante el tiempo de evaluación este contenido aumentó (figura 20), se le atribuyó a la deshidratación de los trozos de ahuyama.

Figura 20. Pruebas bromatológicas (potasio, fósforo, calcio, Magnesio) en porcentaje (%) vs tiempo de seguimiento.



Nota. 1, 2, 3 indica el tratamiento SN (días 0, 6 y 12). 4, 5, 6 indica el tratamiento CV (días 0, 6 y 12). 7, 8, 9 indica el tratamiento CR (días 0, 6 y 12). 10, 11, 12 indica el tratamiento CB (días 0, 6 y 12).

3.6 PRUEBA MICROBIOLÓGICA CON RESPECTO AL CRECIMIENTO FÚNGICO

La presencia de hongos y levaduras en la fruta ocasiona ablandamiento, deterioro de los tejidos y aspecto desfavorable en la calidad, al realizar daño físico a la fruta esta queda expuesta al ataque de microorganismos (hongos y levaduras), en este sentido, se evaluó la aplicación de sistemas de cubierta “vinipel” y recubrimiento de fuente natural con base en almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1% con el objetivo de disminuir el crecimiento fúngico. El aceite esencial de tomillo se utilizó como agente antifúngico de acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación de cuatro aceites esenciales *Ruta chalepensis* L. (*ruda*), *Pimpinella anisum* L. (*anís*), *Cymbopogon citrus* (DT) Stapf (*limoncillo*) y *Thymus zygis* L. (*tomillo*) contra el crecimiento in vitro del *Fusarium sp*, siendo el aceite esencial de tomillo *Thymus zygis* L. el que presentó una degradación mayor a la ocurrida en los otros aceites, determinado experimentalmente en el proyecto de Colciencias “propuesta de mejoramiento de las condiciones de conservación de la ahuyama var. Bolo Verde, cultivado en el municipio de Guachené (Cauca), para su comercialización en fresco.

En los resultados obtenidos se pudo observar (figura 21), que a partir del día 6 inició el notorio cambio en el crecimiento de hongos en los tratamientos, presentando el tratamiento con recubrimiento incremento excesivo en el contenido de hongos, en cuanto a los tratamientos con “vinipel” con o sin recubrimiento presentaron un crecimiento microbiano inferior, con respecto a los demás tratamientos, probablemente debido a que

la capa protectora de “vinipel” aisló el trozo, minimizando el contacto de la superficie evaluada con el ambiente. En el día 12, se observó una diferencia marcada del recubrimiento con respecto a los demás tratamientos, siendo el que mayor crecimiento fúngico presentó, indicando que el recubrimiento de fuente natural no logró reducir la actividad microbiana en los trozos de ahuyama, permitiendo deducir que no es efectivo en frutos que han sufrido modificaciones mecánicas (cortes), al contrario induce y potencia el desarrollo microbiano. Los tratamientos con “vinipel” presentaron un crecimiento de hongos relativamente bajo y de forma constante, lo cual indica que el uso del material de cubierta “vinipel”, minimizó la contaminación y crecimiento fúngico, además se puede decir que las propiedades de barrera del “vinipel” como la permeabilidad, favorecieron la creación de una atmósfera que evitó el desarrollo de microorganismos de tipo aerobio.

Se puede apreciar como los tratamientos SN y CR, presentaron el mayor desarrollo de microorganismos (mohos) sobre la superficie del trozo de $3,1 \cdot 10^4$ y $1,1 \cdot 10^5$ UFC/g respectivamente (figura 21), probablemente, a que la alta humedad de la ahuyama y las superficies cortadas proporcionaron las condiciones ideales para el crecimiento fúngico (Ahvenainen, 1996), siendo el tratamiento CR el que presentó mayor crecimiento de hongos (figura 22), el aceite esencial de tomillo adicionado al recubrimiento presenta un efecto fungistático *in vitro* efectivo contra el *fusarium*, en esta investigación se determinó el crecimiento de diferentes tipos de hongos no realizando la clasificación (figura 23), por lo que no se sabe sobre cuales microorganismos tuvo efecto inhibitorio el aceite esencial del tomillo, además, este resultado puede ser atribuido a que algunos microorganismos aerobios psicrófilos, mesófilos y levaduras, encontraron disponibilidad de sustrato proveniente del almidón de yuca y materia orgánica de la ahuyama, así mismo la temperatura de evaluación, que en el desarrollo del seguimiento se encontraba en un promedio de 19°C, temperatura ideal para el crecimiento y multiplicación de este tipo de microorganismos.

Además, los posibles factores por el cual no pudo ser efectivo el efecto inhibitorio del aceite esencial de tomillo fue posiblemente a que la permeabilidad del almidón de yuca modificado enzimáticamente no fue adecuada como propiedad de barrera para frutos troceados y el recubrimiento, al ser aplicado aumentó la humedad del fruto mientras se secó, de igual manera la carga microbiana inicial del almidón. Asimismo, la rotura de los tejidos de la fruta (corte) facilitó la invasión por microorganismos e incremento la pérdida de agua de los trozos de ahuyama provocando el ablandamiento del tejido, por otro lado, el pH de los trozos pudo incidir en el desarrollo de microorganismos.

Figura 21. Promedio desarrollo fúngico vs tiempo seguimiento.

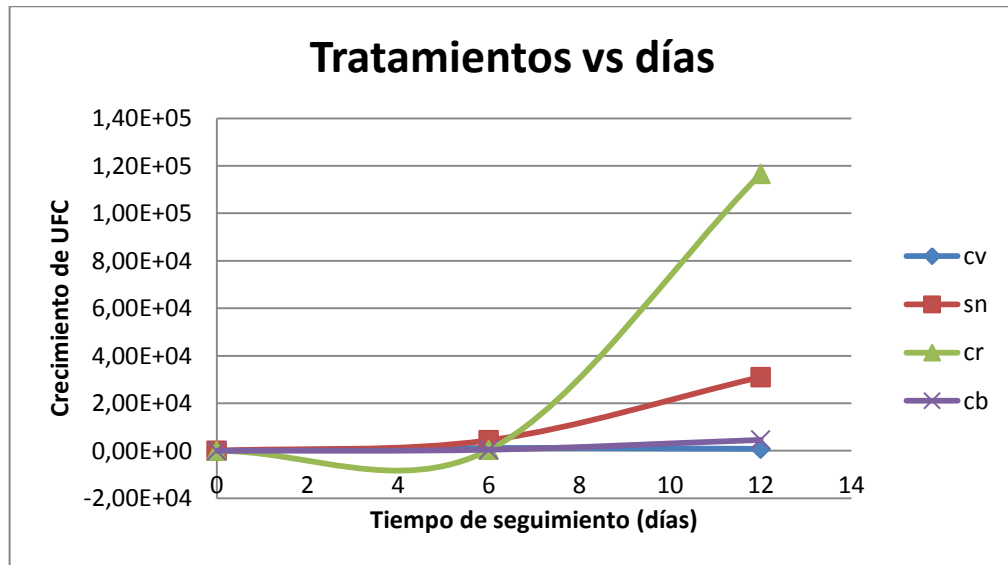


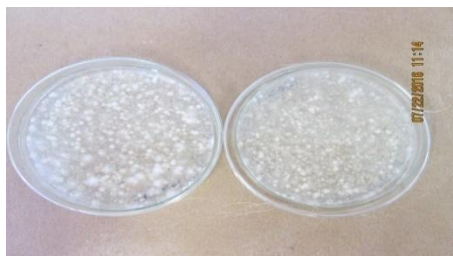
Figura 22. Crecimiento fúngico en los tratamientos día 12.



Crecimiento microbiano observado en el día 12, de izquierda a derecha, 1. SN; 2. CV; 3. CR; 4. CB. Se observa presencia de hongos y levaduras, mejor muestra conservada 2. CV.

Crecimiento microbiano observado en el día 12, a la muestra CR, evidenciando el desarrollo microbiano que tuvo esta respecto a los demás tratamientos.

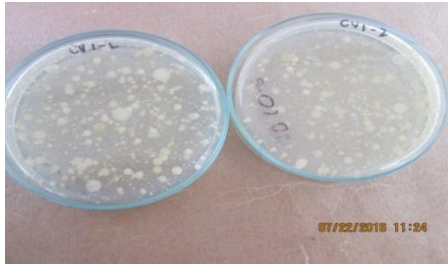
Figura 23. Crecimiento fúngico al día 12 de seguimiento en placa Petri film.



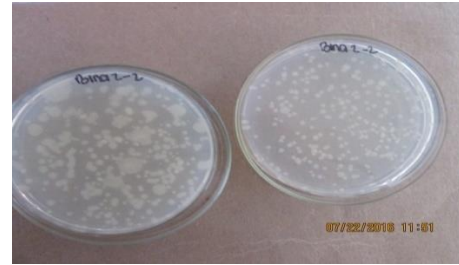
Trat. SN Pulpa, día 12, medio de cultivo YGC, se evidencia desarrollo de estructuras y texturas microbianas diferentes.



Trat. CR Pulpa, día 12, medio de cultivo YGC Crecimiento Selectivo de hongos y levaduras.



Trat. CV Pulpa, día 12, medio de cultivo YGC se observa crecimiento inferior respecto a las demás muestras, pero se encuentra una UFC de gran tamaño.



Trat. CB Pulpa, día 12, medio de cultivo YGC se observa crecimiento similar a CV, pero en algunas muestras el crecimiento promedio de CB, respecto a CV, fue mayor.

3.7 PRUEBA DE MICROSCOPIA

Los efectos físicos inmediatos en los procesos de corte en frutas y hortalizas, incluidos los daños mecánicos en los tejidos, la eliminación de la capa protectora de la epidermis, la acumulación de humedad en la superficie y la exposición de los tejidos, genera reacciones metabólicas que desencadenan en la pérdida de calidad del producto, que se visualizan en características como: peso, firmeza, decoloración y tasa de respiración. A medida que el tejido comienza a responder fisiológicamente, se producen unas alteraciones fisicoquímicas que el tejido realiza para reparar el daño producido, entre estas la difusión de gas, el aspecto superficial (pérdida de firmeza), aumento transitorio en la producción de etileno y aumento de la tasa de respiración, la cual puede estar interrelacionada con la inducción del metabolismo fenólico y la respuesta de curación del tejido, además el corte provoca respuestas fisiológicas y bioquímicas en tejidos adyacentes y distantes (Ke y Saltveit 1989; Saltveit 1997), respuestas que son perjudiciales para la calidad de los productos cortados, ocurriendo rápidamente después del corte o pueden tardar muchos días en completarse.

Mediante las técnicas de microscopia (MOAR y MET), se observó el mejor efecto de los tratamientos evaluados (SN, CV, CR, CB), sobre la estructura celular y tejidos constituyentes de la ahuyama, evidenciando el grado de afectación y/o conservación que sufrió la estructura durante la modificación mecánica (corte) y la aplicación del material de cubierta (recubrimiento de origen natural y revestimiento con "vinipel") durante el tiempo de seguimiento.

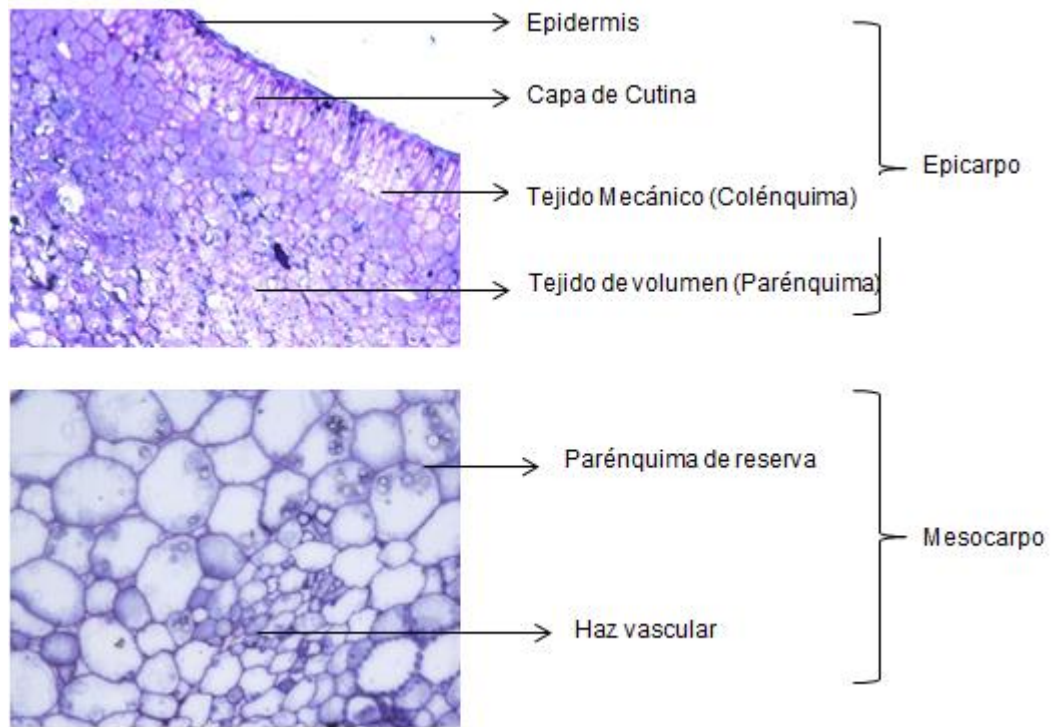
3.7.1 Microscopia óptica de alta resolución (MOAR). Mediante la técnica de microscopia MOAR se observó la estructura de la cáscara la cual basa su función en proteger y mantener la estructura interna del fruto. Por el cual las reacciones fisicoquímicas presentadas en la epidermis de la ahuyama minimizan el daño hacia el interior del tejido y evitan la contaminación y modificación de este, actuando como barrera de protección hacia posibles reacciones negativas que afectan la estabilidad fisiológica del fruto. Respecto a la cáscara (figura 25), la muestra testigo presentó células rotas desde el día 0, lo que induce a determinar que los cambios producidos por el corte afectaron la estructura.

Respecto a la pulpa (figuras 27, 29, 31 y 33), en todos los tratamientos se observa como el corte afecta de manera considerable la fisiología del fruto, causando, liberación de agua, evidenciado en los espacios extracelulares y degradación de los lípidos de la membrana (Rolle y Chism, 1987, Deschene *et al.*, 1991, Picchioni *et al.*, 1994, Zhuang *et al.*, 1997). La degradación enzimática extensa ocurre en sistemas dañados de la membrana, causando la pérdida de componentes lipídicos y la pérdida de la compactación de enzimas y de sustratos (Marangoni *et al.*, 1996). El etileno producido por el corte puede jugar un papel en este proceso aumentando la permeabilidad de las membranas y reduciendo la biosíntesis de fosfolípidos (Watada *et al.*, 1990). De esta manera, con base en las imágenes analizadas, se evidencia presencia del recubrimiento en las células de la epidermis y tejido mecánico (colénquima) (figura 28), corroborado con los resultados bromatológicos los cuales mostraron un incremento en la composición lipídica de la estructura (ANEXO J), posiblemente atribuido al aceite esencial de tomillo, que debido a la permeabilidad de las membranas fracturadas y porosas, permitieron el alojamiento de este material dentro de sus estructuras.

Aunque el número de células cortadas fue relativamente pequeño, el tejido vegetal dañado produjo la aparición de espacios intra y extracelulares en la cáscara y pulpa (figura 26, 28, 30 y 32), por la respuesta fisiológica de reparación del tejido, que como señal de herida se cree que es responsable del aumento de la respiración, aumento de la producción de etileno, inducción de síntesis fenólica e inicio de la cicatrización de heridas. La evidencia para la propagación de una señal de corte incluye la progresión temporal y espacial de la inducción de la importante enzima fenilalanina amoniaco-liasa (PAL) lejos del sitio de la herida (Ke y Saltveit 1989).

A continuación se hace una descripción estructural en la ahuyama mediante un análisis histológico y técnica de microscopia MOAR (imágenes tomadas a una definición de 40X) (figura 24).

Figura 24. Descripción estructural de la cáscara y de la pulpa de ahuyama (*Cucúrbita moschata*), día 0.



En las imágenes del microscopio óptico de la cascara y la pulpa se evidenció histológicamente tejidos protectores (epidermis), tejidos de sostén (colénquima) y tejidos vasculares que constituyen el sistema conductor (Esau, 1985).

Los tratamientos y el tiempo de almacenamiento afectaron la integridad celular de los tejidos de ahuyama. En el día cero el epicarpo del fruto presentó células compactas sin deterioro, totalmente hidratadas y turgentes; mientras que en las células del mesocarpo se apreciaron espacios vacíos.

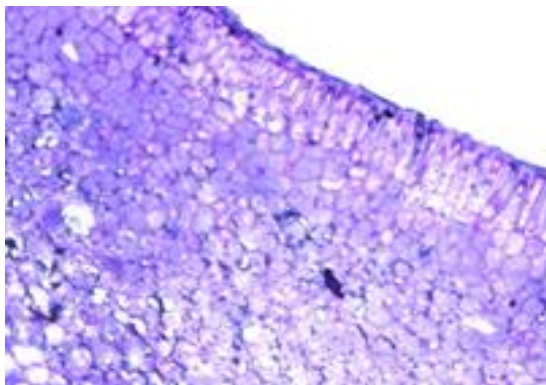
A los 12 días de almacenamiento en los tratamientos SN y CR (figura 35), las células de la epidermis y la capa de cutina no mostraron cambios considerables con relación al día cero, el tejido de volumen (parénquima) en la muestra testigo presentó pérdida de integridad celular y en el tratamiento con "vinipel" no presentó. En el tratamiento con recubrimiento se formó una capa de tejido de refuerzos en el epicarpo, posiblemente se generó la penetración del recubrimiento en las células, manteniendo la estructura compactada y turgente (figura 34 y 35). En el tratamiento con CV, se observó que las células de la epidermis disminuyeron su grosor y se detectó desintegración celular desde el epicarpo. En el tratamiento con CB se reflejó desintegración celular desde el epicarpo y se presentó que las células de la epidermis y tejido mecánico (colénquima) sufrieron un proceso de transformación, modificando sus refuerzos y aumentando el tamaño de la epidermis. En los tratamientos (SN, CR, CV y CB) (figura 36 y 37), se observó que en las

células del mesocarpo presentaron un incremento gradual de aerénquima (espacios intercelulares llenos de aire), con presencia de tejido colapsado, pérdida de turgencia y plasmólisis con mayor deterioro en los tejidos CR y CV. El tratamiento con CR presentó mayor deterioro en el mesocarpo resultado similar con la pérdida de firmeza.

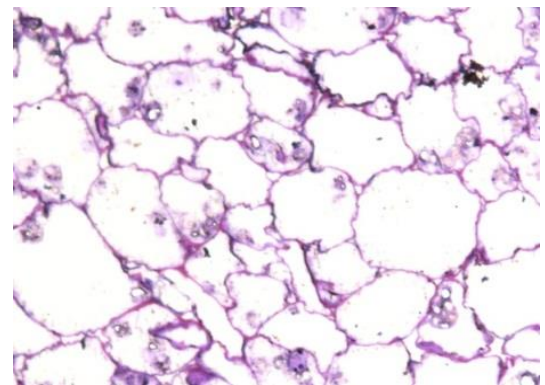
Resultados que coinciden con los reportados por Walter *et al.* (1990) en el fruto de pepino variedad 'Pickle' almacenado a 15°C con 93 % HR que mostrando daño en las células del parénquima debido a la pérdida de agua y a daños en la estructura de los componentes de la pared celular. En frutos de pèrsimo (*Diospyros kaki* L.) se observó pérdida de integridad de las paredes celulares y adhesión entre células cuando los frutos se almacenaron por 20 días a 15°C (Salvadora *et al.*, 2008). También, Urías *et al.* (2012) reportaron que los cambios histológicos en la calabacita (*cucurbita pepo* L.) presentaron células colapsadas y pérdida de adhesión celular en los frutos almacenados a 20°C, similar a las características aquí observadas en el epicarpo y mesocarpo de las células de ahuyama en los tratamientos SN, CV, CR y CB durante los 12 días de almacenamiento.

En las siguientes figuras se realizaron los análisis histológicos de la cáscara y la pulpa de acuerdo a los días de evaluación.

Figura 25. Micrografía de los cortes de cáscara y pulpa de ahuyama teñidos con azul de toluidina a 40X (muestra testigo), día 0.



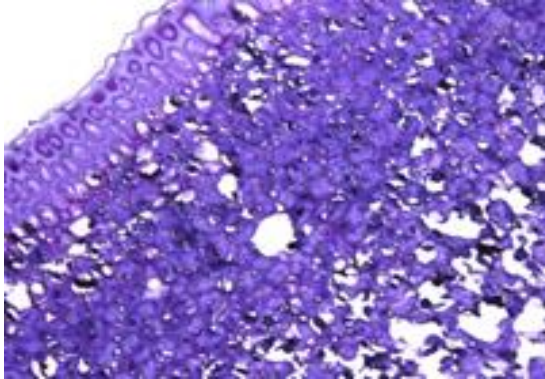
Corte transversal realizado a la cáscara, se evidencia células rotas al inicio del seguimiento en el tejido de volumen (Parénquima), resultado posible a la respuesta fisiología de reparación del tejido.



Corte transversal realizado a la pulpa, se evidencia células con paredes delgadas sin refuerzos y compactación entre estas, así mismo aparición de espacios extracelulares.

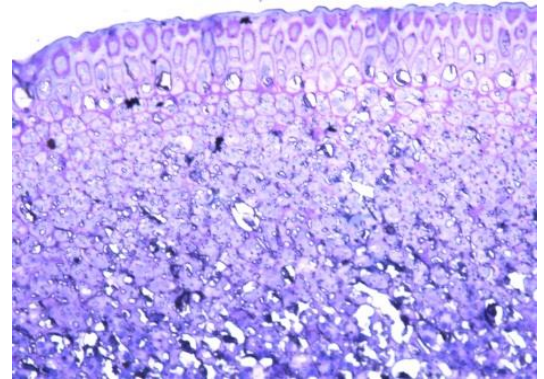
Figura 26. Muestras de cáscara muestra testigo días 6 y 12.

DÍA 6



Corte transversal a la cáscara, se observa división celular en la epidermis respecto al día 0, donde las células epidérmicas van perdiendo su forma alargada para hacerse redondas, hay presencia de espacios y ruptura celular en el tejido de volumen.

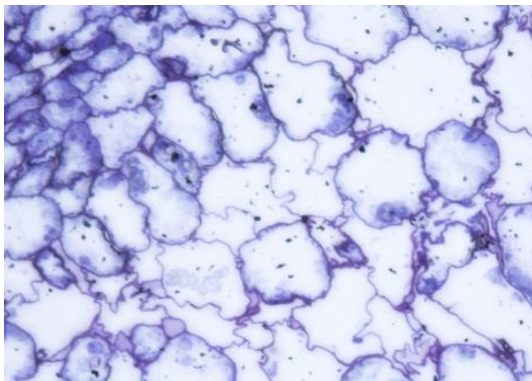
DIA 12



Se observa que las células de la epidermis han perdido su grosor, posiblemente por la respuesta fisiológica de reparación de tejido, así mismo las células del tejido mecánico (colénquima) presentan compactación y agrupamiento, mientras que las células del tejido de volumen (parénquima) sigue el proceso de ruptura celular.

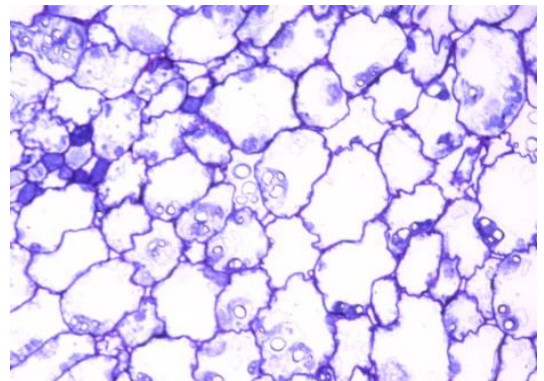
Figura 27. Muestras de pulpa muestra testigo días 6 y 12.

DÍA 6



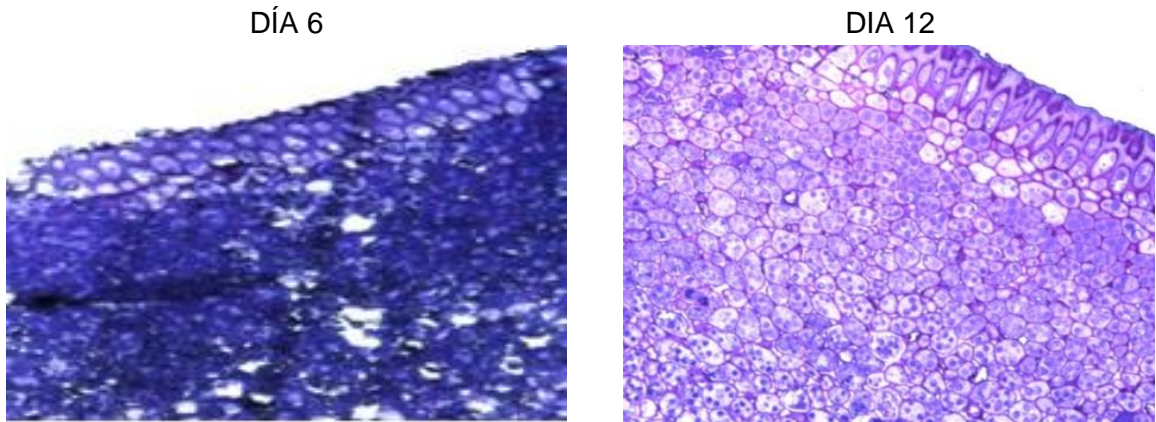
Se evidencia pérdida de consistencia a nivel de las paredes entre células, aparición de espacios extracelulares y disminución en el tamaño de las células respecto al testigo.

DIA 12



Se evidencia pérdida de turgencia, disminución de tamaño y aumento de espacios intra y extracelulares, generando pérdida de compactación entre las células. Posiblemente atribuidos a procesos de plasmólisis.

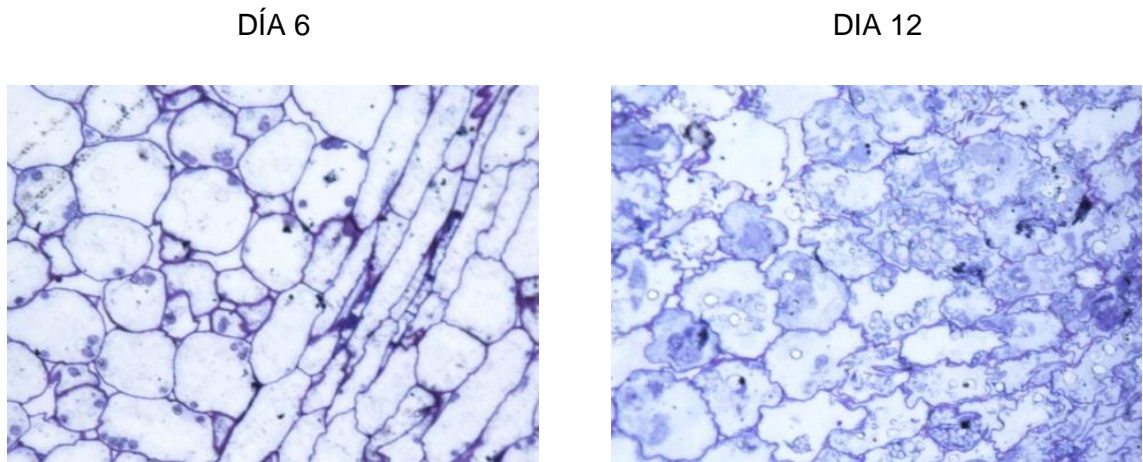
Figura 28. Muestras de cáscara tratamiento CR días 6 y 12.



Se observa que las células de la epidermis se han transformado, modificando los refuerzos de la cutícula y los tejidos mecánicos (colénquima), comparado con la muestra testigo (figura 26), así mismo se evidencia ruptura en las células del tejido de volumen (parénquima).

Se observa que las células de la epidermis siguen manteniendo su grosor, poseen refuerzos en la estructura de cutícula y los tejidos mecánicos (colénquima) a lo largo del seguimiento mantienen su estructura compactada y turgente.

Figura 29. Muestras de pulpa tratamiento CR días 6 y 12.

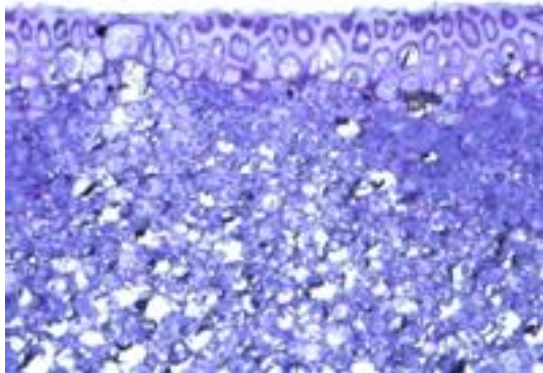


Se evidencian células compactadas y delimitadas por la pared celular, hay conservación en el tejido de relleno (parénquima), posiblemente porque los tejidos de refuerzo están más compactados.

En comparación con las muestras 0 y 6, se evidencia una pérdida de consistencia, degradación celular, rupturas a nivel intracelular y una gran deshidratación del tejido.

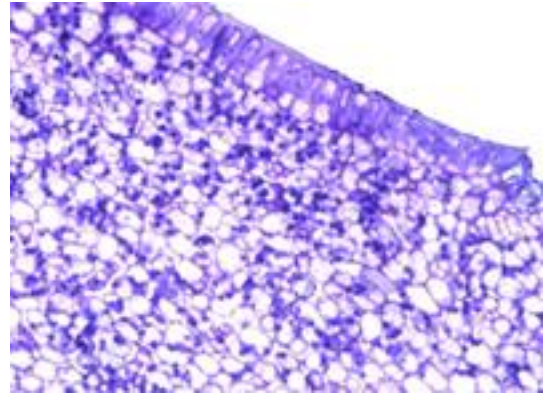
Figura 30. Muestras de cáscara tratamiento CV días 6 y 12.

DÍA 6



Se observa que las células de la epidermis han sufrido división celular y hay presencia de refuerzos en la estructura de la cutícula y tejido mecánico; se evidencian espacios en el tejido de volumen (parénquima) y ruptura celular.

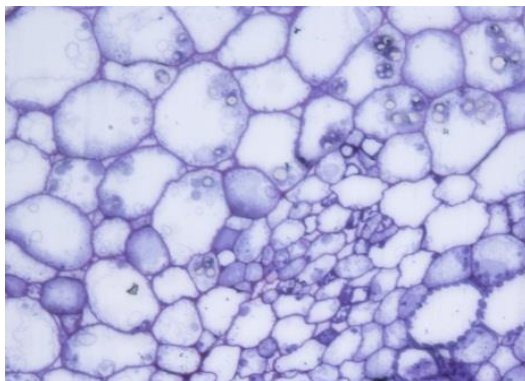
DIA 12



Se evidencia que las células de la epidermis están más delgadas y presentan refuerzos sobre la estructura. Las células del tejido mecánico (colénquima) y de volumen (parénquima) presentan espacios translucidos en el interior de la célula, continúan compactadas y no han generado espacios extracelulares.

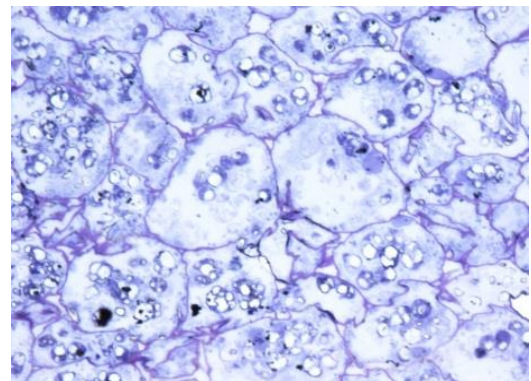
Figura 31. Muestras de pulpa tratamiento CV días 6 y 12.

DÍA 6



Se observa como las células del tejido de reserva (colénquima), empiezan a presentar espacios extracelulares, a perder forma y tamaño.

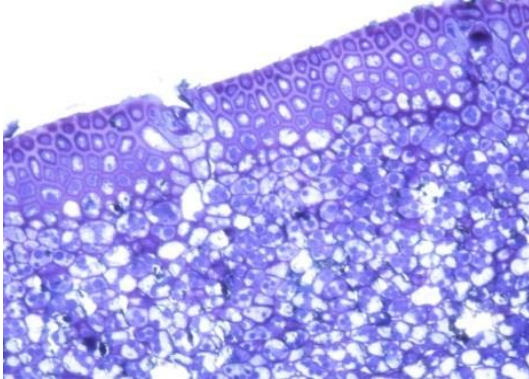
DIA 12



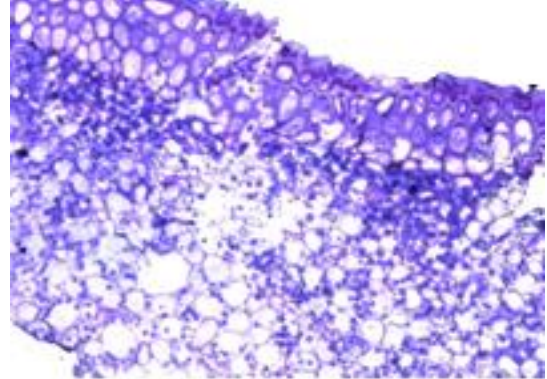
Se evidencia pérdida de turgencia, ocasionando modificaciones de tamaño y generación de espacios extracelulares y no hay compactación entre las células.

Figura 32. Muestras de cáscara tratamiento CB días 6 y 12.

DÍA 6



DIA 12

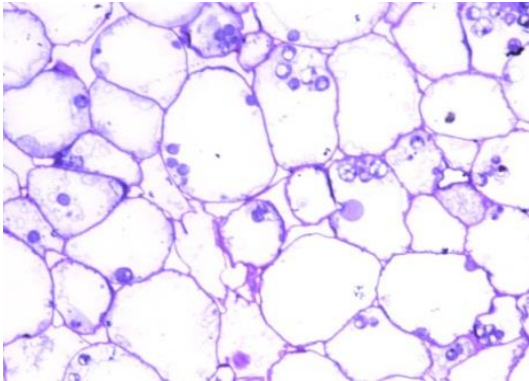


Las células de la epidermis y tejido mecánico (colénquima) han sufrido un proceso de transformación, modificando sus refuerzos y aumentando el tamaño de la epidermis. Las células del tejido de volumen (colénquima) presentan espacios a nivel intracelular, pero conservan su compactación.

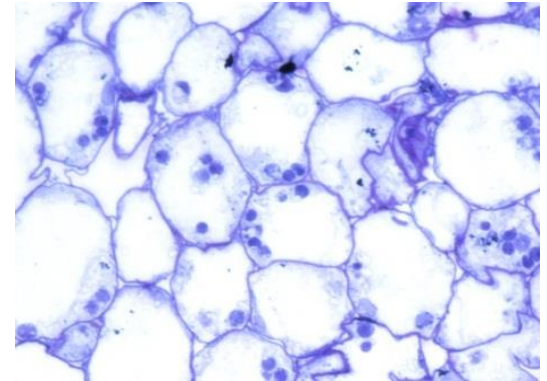
Se evidencia que las células epidérmicas continúan con la estructura de refuerzo, por la penetración del recubrimiento en esta estructura, pero se observa mayor degradación celular en el tejido de volumen (parénquima), presentando mayor cantidad de espacios y menor compactación.

Figura 33. Muestras de pulpa tratamiento CB días 6 y 12.

DÍA 6



DIA 12



Se observa como las células presentan pérdida de tamaño y forma, evidenciado en los espacios intracelulares generados. Se inicia proceso de descompactación y pérdida de turgencia.

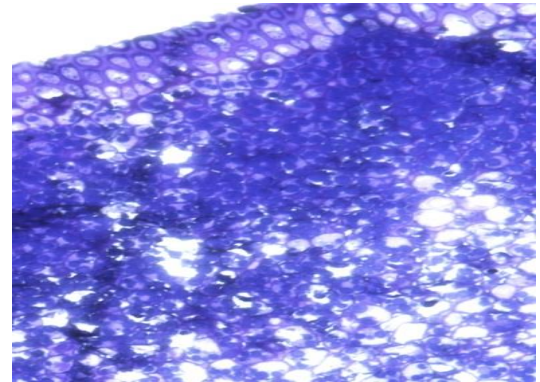
Las células han perdido forma y se evidencia mayor cantidad de espacios, hay deterioro general en el tejido de reserva (parénquima) y cambios en la anatomía general de tejido.

En las siguientes figuras, se analizaron las estructuras de la cáscara y la pulpa, mediante un análisis histológico realizando la comparación entre tratamientos (SN, CR, CV y CB), en cada día de evaluación.

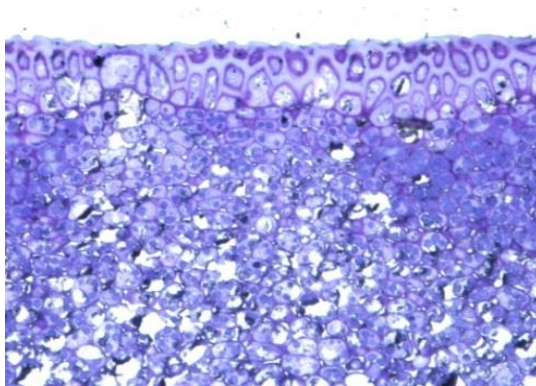
Figura 34. Corte transversal a la cáscara, día 6 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).



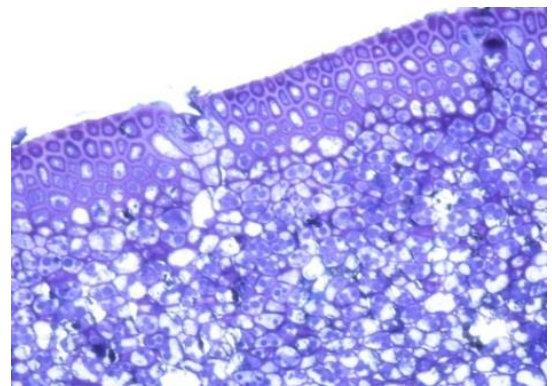
Trat. SN Cáscara, se observan pequeños cambios en la distribución celular de la epidermis y mesocarpio.



Trat. CR Cáscara, se observa compactación y tejido de refuerzo en la colénquima y parénquima del epicarpo.

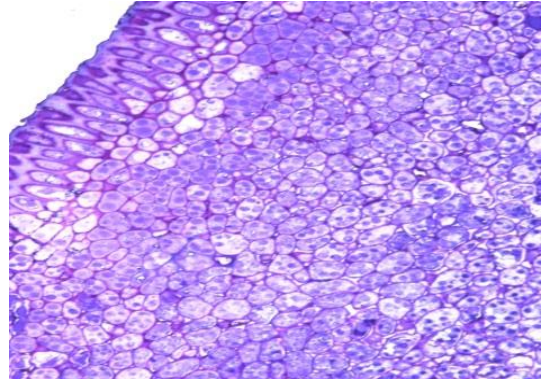
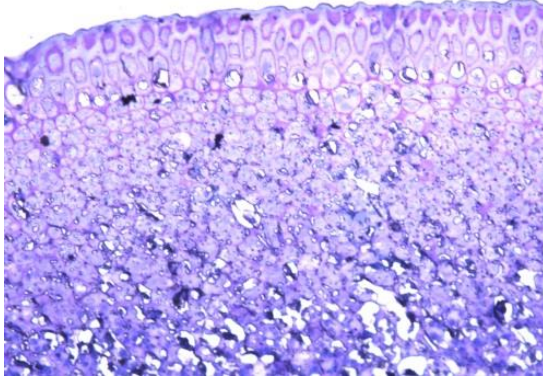


Trat. CV Cáscara, se observan modificaciones en la estructura celular de la epidermis (células ovoides)



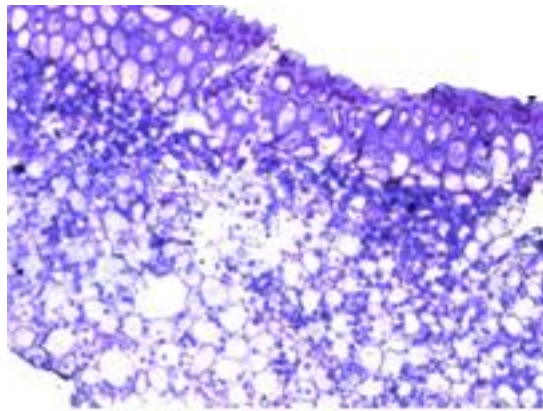
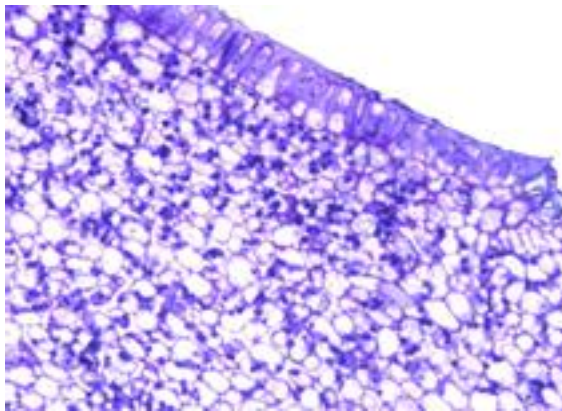
Trat. CB Cáscara, se observan cambios en la estructura de la membrana que divide las células ovoides de la epidermis y las del mesocarpio.

Figura 35. Corte transversal a la cáscara, día 12 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).



Trat. SN Cáscara, se observa pérdida de grosor en la epidermis, ruptura celular en tejido mecánico y generación de espacios en tejido de volumen (parénquima).

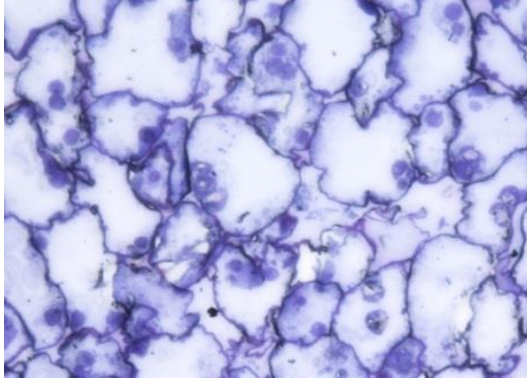
Trat. CR Cáscara, se observa refuerzo y transformación de las células de la epidermis y tejido mecánico (colénquima), atribuido posiblemente a la penetración del recubrimiento.



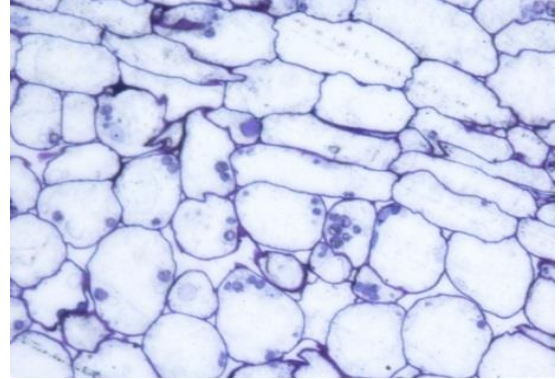
Trat. CV Cáscara, se observan modificaciones en la estructura celular de la epidermis, pérdida de grosor y división celular, se evidencia pérdida de forma y tamaño en el tejido de volumen (colénquima), posibles espacios lisogénicos.

Trat. CB, se observa modificación en los refuerzos de las células epidérmicas, y pérdida estructural en las células del tejido de volumen (parénquima).

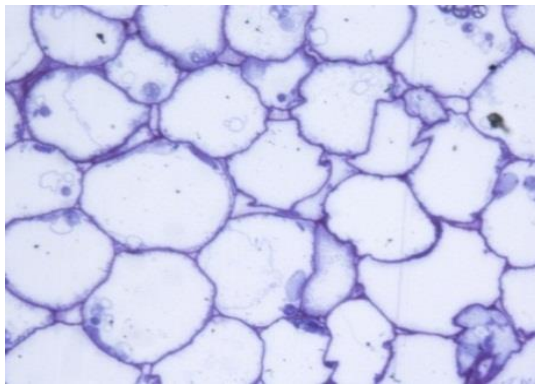
Figura 36. Corte transversal a la pulpa, día 6 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).



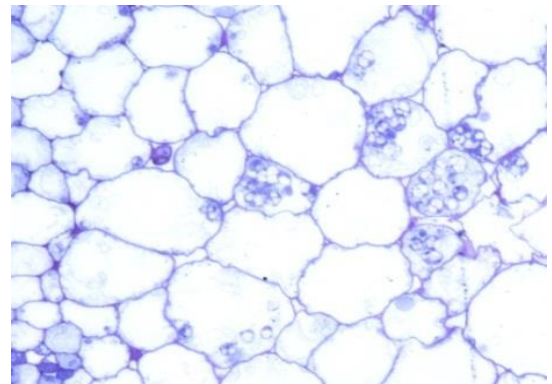
Trat. SN Pulpa, comportamiento celular, aparentemente con células deshidratadas y se observa presencia aparente de almidones.



Trat. CR pulpa, se observan espacios extracelulares, no hay penetración de recubrimiento e inicio de pérdida de turgencia en algunas células cercanas al corte.

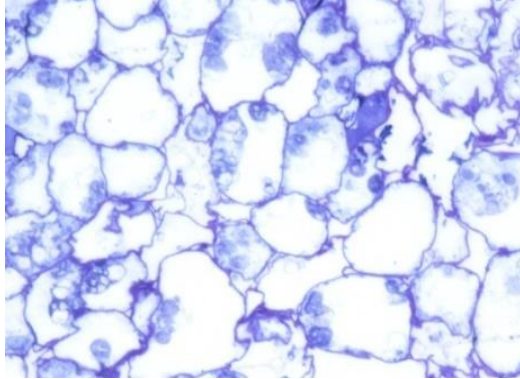


Trat. CV pulpa, células compactas y leves cambios en la deshidratación celular.

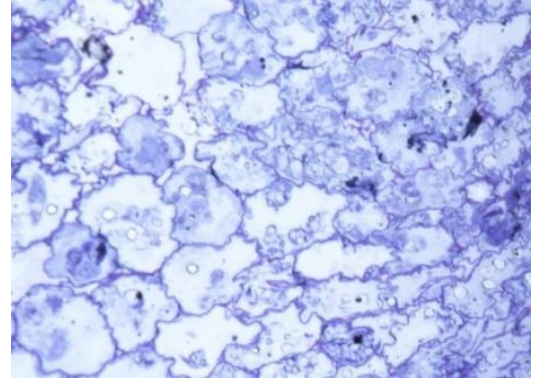


Trat. CB pulpa, se observan células compactas, presencia de almidones y algunas células perforadas

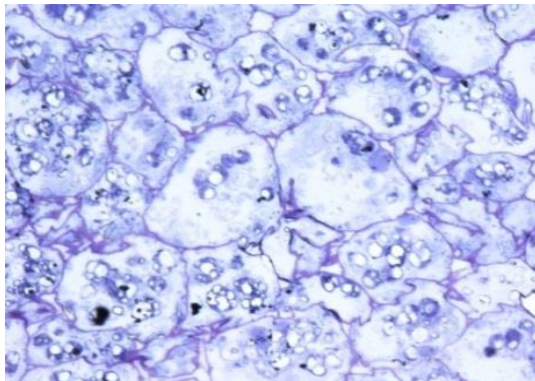
Figura 37. Corte transversal a la pulpa, día 12 aplicado a los tratamientos (SN, CR, CV, CB).



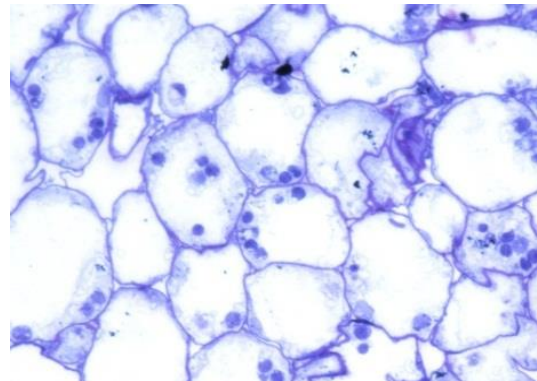
Trat. SN Pulpa, se observa deterioro en la forma y tamaño de la célula, espacios extra e intercelulares, presencia de plasmólisis.



Trat. CR pulpa, se observa compactación celular, espacios extra e intercelulares, deformación y pérdida de tamaño.



Trat. CV pulpa, se observa compactación celular, espacios extra e intercelulares.



Trat. CB pulpa, hay compactación celular, espacios extracelulares presencia de almidones y pérdida leve de turgencia.

3.7.2 Microscopia electrónica de transmisión (MET). Mediante la técnica de microscopia electrónica MET se pretendió observar estructuras celulares que están por debajo del límite de resolución del microscopio óptico como vacuolas y complejos moleculares de la célula, siendo estructuras celulares más pequeñas denominadas en su conjunto ultraestructura celular.

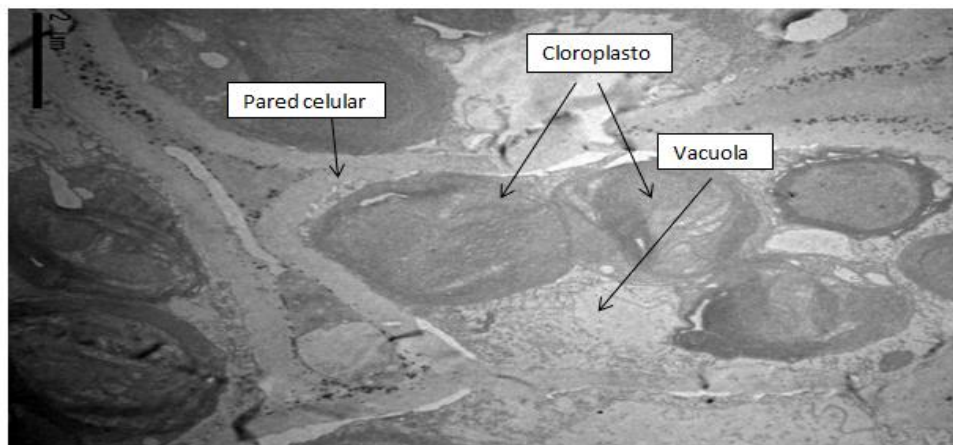
Se observó mediante MET la cáscara y la pulpa de la ahuyama (figuras de la 38 a la 42) encontrando características propias de las células vegetales pues tiene, pared celular

gruesa que define la forma y el tamaño y proporciona sostén en la célula, cloroplastos y vacuolas cuya función es almacenar sustancias (Esau, 1985).

En la técnica MOAR se observó el parénquima de reserva el cual tiene la función de almacenar sustancias tales como proteínas solubles, lípidos sales minerales y almidón por lo que en las imágenes obtenidas en MET de la pulpa de trozo con “vinipel” se pudo observar la estructura del almidón, de igual manera se observó el parénquima clorofílico en la cascara por el cual sus células son ricas en cloroplastos. Además, se permitió observar el daño molecular evidenciando el grado de afectación y/o conservación que sufrió la estructura durante la modificación mecánica (corte) y la aplicación del material de cubierta (recubrimiento de origen natural y revestimiento con “vinipel”) durante el tiempo de seguimiento.

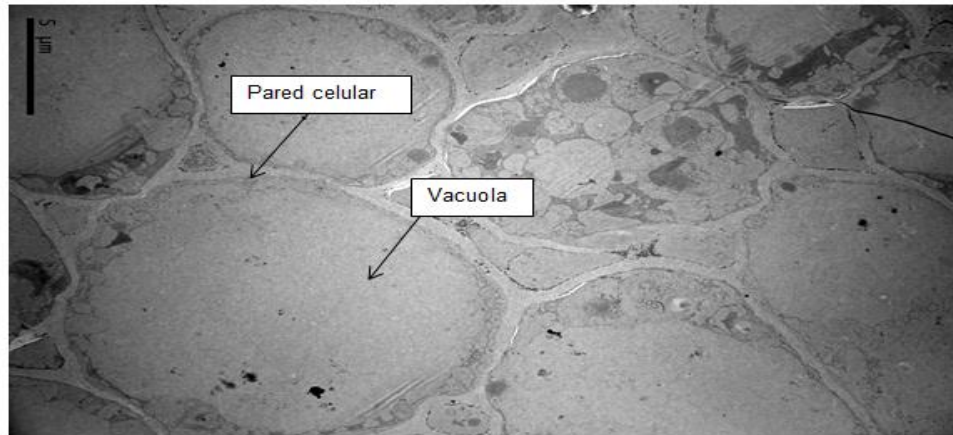
De acuerdo a los resultados obtenidos mediante la técnica MET se pudo evidenciar deterioro de las células en el último día de evaluación. En el tratamiento con recubrimiento se observó daño en la estructura en la cáscara, como consecuencia perdida de la forma ovoide de la vacuola, células deformadas, espacios en la pared celular más pronunciados y deshidratación en las células presentando encogimiento. La cáscara de los trozos en el sistema binario (CB) presentó mayor degradación celular con respecto a la muestra con recubrimiento, presentando células sin estructura definida, rompimientos celulares y células deshidratados acompañados de encogimiento. En el tratamiento con “vinipel” se observó la ultraestructura de la pulpa, encontrando la estructura del almidón.

Figura 38. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) a 2 μm , día 0.



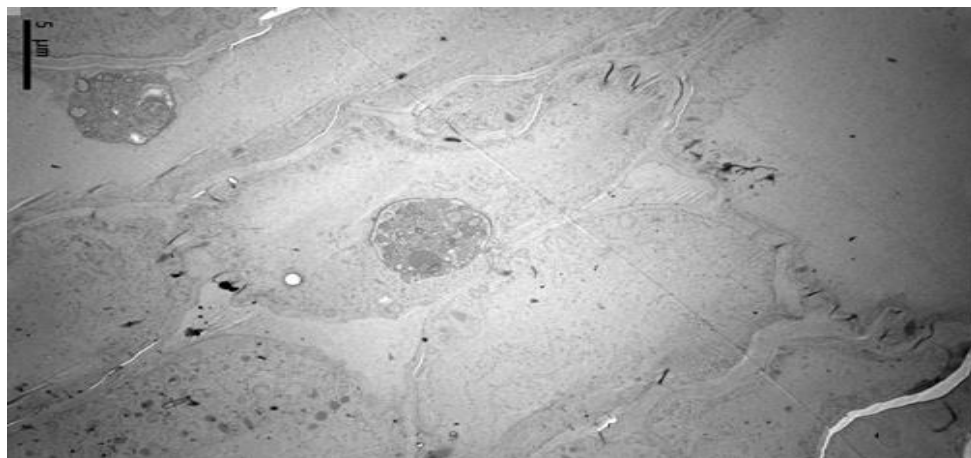
Podemos apreciar en la imagen en la ultraestructura que de la cáscara presentó pared celular gruesa evidenciando refuerzos entre las paredes celulares, cloroplastos y vacuola. Las células tienen forma ovoide, totalmente hidratada y turgente, además presentó espacios intra y extracelulares.

Figura 39. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la pulpa de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) a 5 μm , día 0.



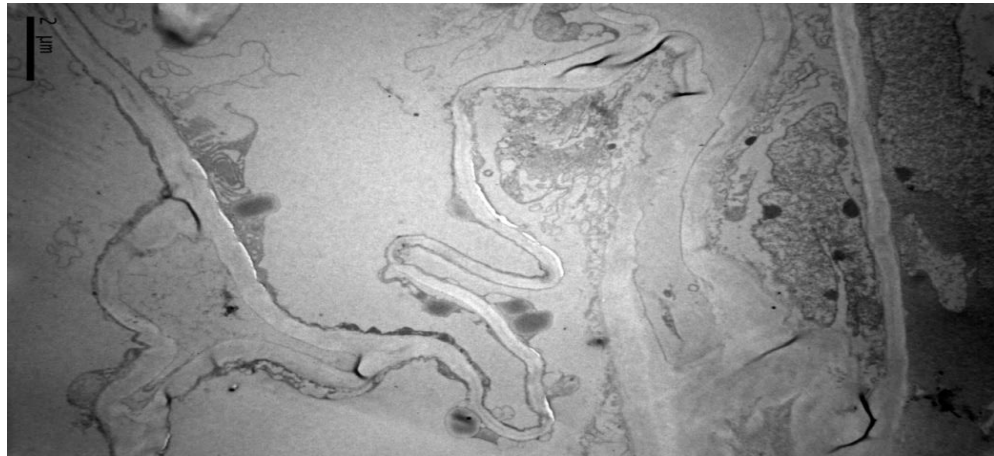
Podemos observar en la imagen que la pulpa presentó células compactadas, totalmente hidratadas y turgentes con forma ovoide, vacuolas grandes y pared celular gruesa con espacios en los extremos de la pared celular. Los espacios en la pared celular corroboran los resultados de MOAR en la presencia de espacios en la muestra inicial lo que infiere que los cambios producidos por el corte afectaron la fisiología del fruto en su composición estructural, alterando reacciones fisicoquímicas y compartimentación interna (Ke y Saltveit 1989). Por otra lado, la presencia de vacuolas se debe a que las células vegetales poseen grandes vacuolas centrales, que poseen diversas sustancias, incluyendo compuestos fenólicos y enzimas hidrolíticas, tales como nucleasa y proteasa (Kuo, 2007).

Figura 40. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) con recubrimiento a 5 μm , día 12.



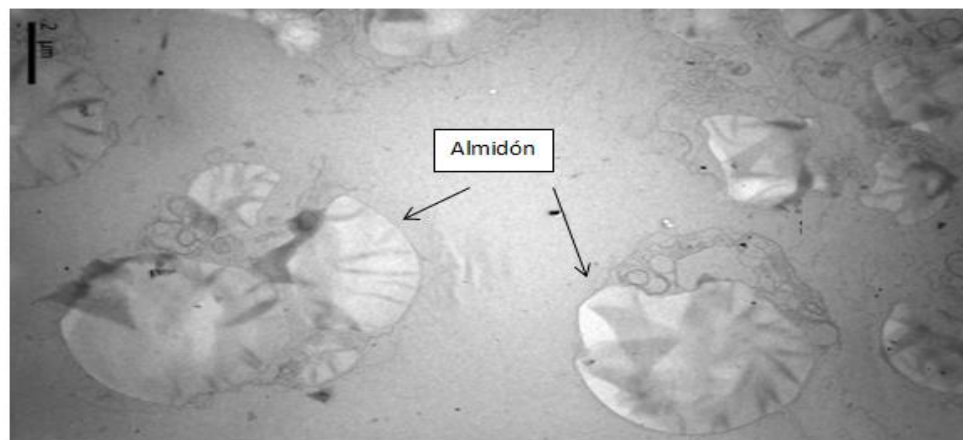
Podemos observar en la imagen que la cáscara en el tratamiento con recubrimiento presentó células compactadas, daño en la estructura, células deformadas que tienden a compactarse y espacios en la pared celular más pronunciados.

Figura 41. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la cáscara de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) con sistema binario a 2 μm , día 12.



Podemos observar en la imagen que la cáscara con el sistema binario presentó mayor degradación celular, células deformadas y sin estructura definida, presentando menor compactación.

Figura 42. Imagen tomada con el microscopio electrónico de transmisión a la pulpa de ahuyama (*Cucúrbita moschata*) con “vinipel” a 2 μm , día 12.



Podemos apreciar en la imagen de la pulpa de ahuyama con “vinipel” la estructura del almidón en donde presentó división, posiblemente debido a procesos de deterioro por acción enzimática.

4 CONCLUSIONES

El mejor comportamiento de los trozos de ahuyama se observó con la utilización del empaque en película de “vinipel”; donde los frutos conservaron gran parte de sus características físicas a temperatura ambiente (19°C), retrasando significativamente la pérdida de peso, degradación de color, manteniendo la textura y firmeza de la muestra, menor crecimiento microbiano y conservación de los componentes (azúcares totales, contenido de grasa, humedad, proteína y minerales).

La película de “vinipel” al poseer baja permeabilidad fue efectivo como película de barrera contra los cambios fisiológicos que se presentaron al ser cortado el fruto.

El almidón de yuca modificado enzimáticamente no presenta una propiedad de barrera adecuada para frutos cortados por el cual no fue efectivo el recubrimiento.

La aplicación del recubrimiento de fuente natural con base en almidón de yuca y aceite esencial de tomillo al 1%, no parece ser un método viable para la conservación de los trozos de ahuyama en postcosecha, ya que fueron contundentes los resultados poco favorables obtenidos en las pruebas evaluadas.

El recubrimiento de fuente natural puede ser favorable para frutos enteros, pero no es efectivo para la ahuyama después de haber sufrido modificaciones mecánicas (corte) debido a que las superficies cortadas y la alta humedad de la ahuyama proporcionan las condiciones ideales para el crecimiento fúngico.

Mediante Microscopia Óptica de Alta Resolución (MOAR) y Microscopia Electrónica de Transmisión (MET), se observó las diferentes estructuras en las células de la ahuyama, permitiendo ver la influencia del tipo de cubierta sobre los trozos, siendo el revestimiento con “vinipel” el que presentó menor deterioro de las células.

5 RECOMENDACIONES

Desde el punto de vista experimental, se propone evaluar la técnica de aplicación del recubrimiento, asegurando capas de aplicación uniforme, tiempos de secado más cortos y condiciones sanitarias ideales para la aplicación en frutos que han sido modificados mecánicamente, ya que como se determinó son más propensos a la contaminación microbiana.

Se sugiere realizar un análisis histológico y fisiológico detallado del fruto de la ahuyama, tanto entero como cortado, para determinar de manera exacta cuales son los cambios fisiológicos que sufre el fruto y los componentes propios que se ven afectados por la manipulación y el almacenamiento a diferentes condiciones.

Realizar estudios de permeabilidad al oxígeno y vapor de agua de la película de “vinipel” para analizar el efecto que tiene la película en los frutos.

Determinar mediante caracterización microbiológica, cuáles son los tipos de microorganismos que atacan la ahuyama después de que ha sufrido cortes en su estructura primaria.

A pesar de que la película de “vinipel” fue el mejor método de conservación de los trozos de ahuyama se recomienda trabajar con otro tipo de recubrimiento ya sea con macromoléculas de tipo proteico o lipídico para evitar el uso del “vinipel” ya que contamina el medio ambiente por su tardía degradación.

Utilizar el aceite esencial de tomillo en otro tipo de recubrimiento para comprobar su efecto inhibitorio en frutos troceados.

Evaluar inicialmente, *in vitro*, el efecto inhibitorio del aceite de tomillo bajo diferentes valores de pH, para realizar las pruebas de control del deterioro fisiológico bajo condiciones controladas de pH

Se recomienda realizar tratamientos preliminares a los frutos troceados para disminuir la carga microbiana y aumentar de esta manera la efectividad del agente antimicrobiano (Aceite de Tomillo).

Hacer control de las condiciones ambientales (temperatura, humedad) para disminuir el deterioro general de tejido.

BIBLIOGRAFÍA

ACHIPIZ, Sandra Marcela *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.

AGUILAR, M. Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis tecnología avanzada. México D.F.: Instituto Politécnico Nacional. Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada, 2005. Citado por HERRERA ACEVEDO, Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 33p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ALCALDÍA MAYOR DE POPAYÁN. Nuestra geografía. [En línea] 2014. [Citado en enero 8 de 2014]. Disponible desde internet en: <http://popayan.gov.co/ciudadanos/popayan/nuestra-geografia>

ALVAREZ, Rafael. 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. Citado por FERNÁNDEZ, Natalia. Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimiento comestible sobre el tomate (*solanum lycopersicum*). Trabajo de grado. Popayán (Colombia). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agrarias. Ingeniería agroindustrial, 2015.

AUORE G., PARFAIT B., & FAHRASMANE L. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Science and Technology*, 20: 78–91, 2009. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* L) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. Bogotá, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

ARTÉS F., GÓMEZ P., AGUAYO E., ESCALONA V. y ARTÉS F. Problemática de los alimentos vegetales mínimamente procesados en fresco. *Phytoma* 189: 124-130, 2007. Citado por Escobar, A. *et al.* Aplicación de Tecnología de Barreras para la Conservación de Mezclas de Vegetales Mínimamente Procesados *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín* 67(1): 7237-7245, 2014.

ASOHOFrucol Y FONDO NACIONAL DE FOMENTO HORTOFruticola. *Ahuyama*. (s.f.). Recuperado el 29 de agosto de 2016. Disponible desde internet en: http://www.asohofrucol.com.co/hortaliza_detalle.php?id=100

AHVAINEN, R. New approaches in improving the shelf-life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*. 7:179-187. 1996. Citado por Rojas, M. Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis Doctoral. Universitat de Lleida Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària Departament de Tecnologia d'Aliments, 2006. Disponible desde internet en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8377/Trgmj4de4.pdf?sequence=4>

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

BONILLA MÉNDEZ, Rocío. Modificación enzimática de almidón obtenido de siete variedades de yuca (*Manihot esculenta* crantz) para el desarrollo de películas flexibles. Popayán (Colombia): Trabajo de grado Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca, 2010.

BÓSCUEZ, 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 doctoral Ciencias Biológicas. México D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana. División de ciencias biológicas y de la salud, 2003. Citado por HERRERA ACEVEDO, Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 32p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BRECHT, J. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience* citado por VILLEGAS CARDENAZ, Andrés. Cambios en la calidad de frutos de litchi mínimamente procesados. Tesis que para obtener el título de ingeniero agroindustrial. Tulancingo de Bravo, Hidalgo.: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Instituto de ciencias agropecuarias, 2005. Disponible desde internet en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10856/Cambios%20en%20la%20calidad%20de%20frutos.pdf?sequence=1>

BRUTON, B. D. y DUTHIE, J. A. *Fusarium rot*. En: T. A. Zitter, D. L. Hopkins y C. E. Thomas (editores). *Compendium of cucurbit diseases*. APS Press, St. Paul, 1996. p. 50-51. Citado por Della, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucúrbita moschata* Duch).

Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro Regional Mendoza – San Juan Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2013. Disponible desde internet en: <http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapello-anquito-cucurbita-moschata-duch>

BUITRAGO J., ESCOBAR A. Aplicación de levadura *Candida* spp como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*musa acuminata*). Trabajo de grado de microbiología industrial Pontificia Universidad Javeriana, 2009. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* l) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C. Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

CANTWELL, M. Fresh-Cut Biology and Requirements. En *Fresh-Cut Products: Maintaining Quality and Safety* UC Davis Postharvest Hort, 1998. Series No.10. Citado por Villegas, A. Cambios En La Calidad De Frutos De Litchi Mínimamente Procesados. Tulancingo de bravo, Hidalgo. Universidad autónoma del estado de Hidalgo instituto de ciencias agropecuarias, 2005. Disponible desde internet en: <http://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10856/Cambios%20en%20la%20calidad%20de%20frutos.pdf?sequence=1>

CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* l) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f). disponible desde internet en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis605.pdf>

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A.B. Pós-Colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e manuseio. 2. ed. Lavras: UFLA, 2005. 783p. Citado por Dussán, S.; Honorio, s. y Matias, M. Resistencia mecánica, tasa respiratoria y producción de etileno de caqui ‘Fuyu’ durante el almacenamiento. En: *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.12, n.5, p.498–502, 2008.

DE LOZANO, Viviana S.; YAÑEZ, Maria Yulia y MORALES, Alfonsina. “Principios y prácticas de la Microscopía Electrónica”. 1ra. Edición. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina, 2014. Disponible desde internet en: <http://www.bahiablanca-conicet.gob.ar/biblioteca/principios-practica-microscopia-electronica.pdf>

DELLA, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucurbita moschata Duch*). Mendoza (Argentina). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro Regional Mendoza - San Juan, 2013. Disponible desde internet en: <http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapello-anquito-cucurbita-moschata-duch>

DELHEY, R. Índice Patológico y Perfil Patológico de cultivos anuales. Actas. Segundo Congreso Latinoamericano de Fitopatología. Buenos Aires, 1982. Tomo II, pp. 143-152. Citado por Della, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucúrbita moschata Duch*). Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro Regional Mendoza – San Juan Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2013. Disponible desde internet en: <http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapallo-anquito-cucurbita-moschata-duch>

DESCHENE, A. G. Paliyath. E. C. Loughheed. E. B. Dumbroff. and J. E. Thompson. Membrane deterioration during postharvest senescence of broccoli florets: modulation by temperature and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biol. Technol.* 19-31, 1991. Citado por J. Brecht, M. Saltveit, S. Talcdti, K. Schneider, K. Felkey, and J. Bartz. *Fresh-Cut Vegetables and Fruits*. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." <http://research.ifas.ufl.edu/s294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

DUSSÁN, S; TORRES, C Y HLEAP, J. Efecto de un Recubrimiento Comestible y de Diferentes Empaques durante el Almacenamiento Refrigerado de Mango Tommy Atkins Mínimamente Procesado. *Fac. de Ingeniería, Depto. Ingeniería y Administración, Univ. Nacional de Colombia. Sede Palmira. A.A. Información Tecnológica*, 2014. Vol. 25, no.4, p123-130. Disponible desde internet en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642014000400014ESAU

ESAU, Katherin. *ANATOMÍA VEGETAL* Tercera edición traducido del inglés por Pons Rosell, José. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, 1985. ISBN: 84-282-0169-2.

ESCOBAR, Alejandro. Aplicación de la tecnología de barreras para la conservación individual y de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia.: Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2013. Disponible desde internet en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11831/1/14704538.2013.pdf>

ESTRADA, E. I. Mejoramiento genético y producción de semillas de hortalizas para Colombia. Universidad nacional de Colombia sede Palmira, 2003. 257 p. Citado por ESTRADA, E, *et al.* Unapal-Llanogrande, nuevo cultivar de zapallo adaptado a las condiciones del valle geográfico del río Cauca, Colombia. Palmira, Valle del Cauca. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, A.A.237, 2010. Disponible desde internet en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v59n2/v59n2a02.pdf>

ESTRADA, E. *Cultivo de Zapallo Variedad UNAPAL Bolo Verde y UNAPAL Mandarin*. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, 2004. Disponible desde internet en: <http://www.uneditorial.net/uflip/Cultivo-de-zapallo-variedad-UNAPAL-bolo-verde-y->

UNAPAL-mandarino/pubData/source/Cultivo-dezapallo-variedad-UNAPAL-bolo-verde-y-UNAPAL-mandarino-AB.pdf

FERNÁNDEZ, Natalia. Efecto de barrera contra el vapor de agua de recubrimiento comestible sobre el tomate (*solanum lycopersicum*). Trabajo de grado. Popayán (Colombia). Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agrarias. Ingeniería agroindustrial, 2015.

FERNÁNDEZ, D. V., BAUTISTA, S., FERNÁNDEZ, D., OCAMPO, A., GARCIA, A., & FALCÓN, A. Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. En: Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias jul.-set, 2015, vol.24 no.3. San José de las Lajas. Versión ISSN 2071-0054.

Fornaris Rullán, Guillermo J. COSECHA Y MANEJO POSTCOSECHA. Conjunto Tecnológico para la Producción de Calabaza. ESTACIÓN EXPERIMENTAL AGRÍCOLA. Recinto Universitario de Mayagüez. Universidad de Puerto Rico. Colegio de Ciencias Agrícolas

GHIDELLI, C. Efecto de recubrimientos comestibles y envasado en atmosferas modificadas en el control del pardeamiento en caqui 'rojo brillante'. Tesis de Maestría. Valencia, España. Universidad Politécnica de Valencia, 2012. p18. Citado por ESCOBAR, Alejandro. Aplicación de la tecnología de barreras para la conservación individual y de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia.: Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2013. Disponible desde internet en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11831/1/14704538.2013.pdf>

HAYWARD, E. H. Estructuras de las plantas útiles. En: P. GASPERA DELLA, *MANUAL DEL CULTIVO DE ZAPALLO ANQUITO (CURCUBITA MOSCHATA DUCH)*. (págs. p. 19 - 20 - 21). Mendoza, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), 2013.

HERRERA ACEVEDO, Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 32p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

HUBBARD, N.L.; PHARR, D.M.; HUBER, S.C. Role of sucrose phosphate syntase in sucrose biosynthesis in ripening bananas and it relationship to the respiratory climateric. *Plant Physiology* 94: 201-208, 1990. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* L) transformado por acción de la

levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

HUERTAS, Juan P. Efecto de tratamientos térmicos en combinación con los aceites esenciales de clavo y tomillo sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* evaluada in vitro y en una sopa comercial. Tesis (microbiólogo industrial). Cartagena Colombia.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Carrera de Microbiología Industrial, 2008, 121h. Citado por HERRERA ACEVEDO, Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 35p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMALIZACIÓN. Microbiología. Guía general para recuento de mohos y levaduras. Técnica de recuento de colonias 25°C. NTC 4132. BOGOTÁ D.C.: El instituto, 1997. 1-7p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACION. Frutas y hortalizas frescas. (NTC 1291). Bogotá: INCONTEC, 1977.

JARAMILLO, J. El cultivo de ahuyama o zapallo. Hortalizas. Manual de asistencia técnica. Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), 1980. No. 28. p. 15 - 19. Citado por Estrada, E, *et al.* Unapal-Llanogrande, nuevo cultivar de zapallo adaptado a las condiciones del valle geográfico del río Cauca, Colombia. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira, A.A.237. Palmira, Valle del Cauca, Colombia, 2010. Disponible desde internet en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v59n2/v59n2a02.pdf>

KADER, A. Atmósferas modificadas durante el transporte y almacenamiento de frutas y hortalizas frescas. Alimentación, Equipos y Tecnología 11(5): 94- 102, 1992. Citado por ESCOBAR, A; MÁRQUEZ, C; RESTREPO C. y PÉREZ, L. Aplicación de Tecnología de Barreras para la Conservación de Mezclas de Vegetales Mínimamente Procesados. Estudiante de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia. Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín – Facultad de Ciencias Agrarias – Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. A.A. 1779, 2013. p.6. Disponible desde internet en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179930032011>

KE, D., and M. E. Saltveit. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. *Physiol. Plant.* 76:412-418, 1989. Citado por. J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcoti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and

Fruits." Disponible desde internet: <http://research.ifas.ufl.edu/294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

KUO, John. Electron Microscopy Methods and Protocols. Methods in molecular biology™ 369 second edition. Centre for Microscopy and Microanalysis The University of Western Australia Crawley, Western Australia, Australia, 2007. Disponible desde internet en: http://theaasm.org/my_doc/pezeshki/E-Learning/E-Learning/E-BOOK/Electron%20Microscopy%20Methods.pdf

LOY, B. Desarrollo del fruto. En P. D. GASPERA, *MANUAL DEL CULTIVO DE ZAPALLO ANQUITO (CUCURBITA MOSCHATA DUCH)*. (págs. 20 - 21). Mendoza, Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria(INTA), 2013.

MARANGONI. A. G. • T. Palma. and D. W. Stanley. Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biol. Technol.* 7:193-217, 1996. Citado por. J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. *Fresh-Cut Vegetables and Fruits*. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." Disponible desde internet en: <http://research.ifas.ufl.edu/294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

MARRIOTT, J., ROBINSON, M., KARIKARY, S.K. Transformación del almidón y el azúcar durante la maduración de plátanos y bananos. *Journal of Food and Agriculture*, 1981. 32: 1021-1026 p. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* l) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

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.

McHUGH, T. y Krotcha. *Milk-protein-based edible films and coatings*. Citado por HERRERA ACEVEDO, Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 32p.

MERCADO, E.; y AQUINO, E. N. Enzimas involucradas en el deterioro de frutos y vegetales cortados. En Gonzalez-Aguilar G, Gardea A. A, Cuamea-Navarro F. (Eds). *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos cortados*. Logiprint Digital S. de R.L. de C.V. Guadalajara Jal. México, 2005. pp, 177-216. Citado por ESCOBAR, Alejandro. Aplicación de la tecnología de barreras para la conservación individual y de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia.:

Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2013. Disponible desde internet en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11831/1/14704538.2013.pdf>

MEGÍAS, M.; MOLIST, P. Y POMBAL, M. ATLAS de HISTOLOGÍA VEGETAL y ANIMAL Técnicas histológicas FIJACIÓN. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo, 2015. Disponible desde internet: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tecnicas-fijacion.pdf>

MORALES, Andrés. Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en queso Ricotta. Trabajo de investigación. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos Medellín, Colombia, 2015. Disponible desde internet en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/50994/1/1044503145.2015.pdf>

MOSQUERA LAVERDE, William Eduardo. Procesos Químicos 332569. Bogotá – Colombia. Ingeniería Industrial Escuela De Ciencias Básicas Tecnología E Ingeniería Universidad Nacional Abierta Y A Distancia – UNAD, 2011. Disponible desde internet: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/332569/MODULO_332569_EXE/obtcincin_de_eta nol.html

MOSQUERA SÁNCHEZ, Lyda Patricia. Caracterización Ultraestructural del núcleo interfásico de la *Selaginella pilífera*. Trabajo de Investigación para obtener el título de especialista en microscopía electrónica en ciencias biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México, 2011.

NAYAR, N. M. y MORE T. A. *Cucurbits*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire, EUA, 1998, p.20. Citado por DELLA, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucúrbita moschata Duch*). Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro Regional Mendoza – San Juan Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2013. Disponible desde internet en: <http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapello-anquito-cucurbita-moschata-duch>

NIETO LÓPEZ, María Guadalupe. Fundamentos en la preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido. Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido. Ecosur. Tapachula, Chiapas, México, 2010. Disponible desde internet en: <http://laboratorios.tap-ecosur.edu.mx/LMEB/APUNTES%20MEB%20CURSO%202010.pdf>

ORDOÑEZ, D, *et al.* Efecto de recubrimiento de almidón de yuca modificado y aceite de tomillo aplicado al pimiento (*Capsicum annum*). En: Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 2014, vol. 5, p.8.

ORDOÑEZ OÑATE. Sandra Lisseth. Estudio e investigación del zapallo, análisis de sus propiedades, explotación y propuesta gastronómica. Quito (Ecuador). Tesis previa a la obtención del título de Administrador Gastronómico. Facultad de Turismo y Preservación Ambiental, Hotelería y Gastronomía. Escuela de Gastronomía. Universidad Tecnológica Equinoccial, 2008.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). Neglected crops 1492 from a different perspective. [En línea] 1994. [Citado en octubre 12 de 2015]. Disponible desde internet en: <http://www.fao.org/docrep/018/t0646e/t0646e.pdf>

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN (FAO). MANUAL DE MANEJO POSTCOSECHA DE FRUTAS TROPICALES (Papaya, piña, plátano, cítricos). Proyecto TCP/PER/6713 (a) "Técnicas mejoradas de postcosecha, procesamiento y comercialización de frutas", 2000. Disponibles desde internet en: <http://www.fao.org/3/a-ac304s.pdf>

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] 2013. [Citado en Noviembre 20 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://www.fao.org/docrep/x5055s/x5055s02.htm>

PACHÓN, A., MONTAÑO A. Y G. FISCHER. Efecto del empaque, encerado y temperatura sobre las características fisicoquímicas y organolépticas de la gulupa (*Passiflora edulis f. edulis*) en postcosecha. pp. 72-78. En: Salamanca, G. (ed.). Propiedades fisicoquímicas y sistemas de procesado: Productos hortofrutícolas en el desarrollo agroalimentario. Editora Guadalupe, Bogotá, 2006, 350 p. Disponible desde internet en: https://www.researchgate.net/publication/256702576_Efecto_del_empaque_encerado_y_temperatura_sobre_las_caracteristicas_fisicoquimicas_y_organolepticas_de_la_gulupa_Passiflora_edulis_f_edulis_en_postcosecha

PAZ PEÑA, Sandra Patricia. Evaluación de la permeabilidad de un recubrimiento comestible a partir de almidón nativo y modificado de yuca. Trabajo de grado en la modalidad de Investigación para optar el título de Ingeniera Agroindustrial. Popayán, Colombia: Universidad del Cauca. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Ingeniería Agroindustria, 2014.

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

PIETRASANTA, Lía y VON BILDERLING, Catalina. Tópicos en Biofísica Molecular. Práctica de laboratorio nº 1: Soluciones, pH. Universidad de Buenos aires, 2011. Disponible desde internet: http://users.df.uba.ar/catalina/TBM/TBM_labo1.pdf

PICCHIONI, G. A., A. E. WATADA. S. Roy. B. D. WHITAKER. and W. P. WERGIN. Membrane lipid metabolism, cell permeability. and ultrastructural changes in lightly processed carrots. J. Food Sci. 59:597-601, 1994. Citado por J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." Disponible desde internet en: <http://research.ifas.ufl.edu/294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

RAMÍREZ Q, Jhon D, *et al.* Conservación de mora de castilla mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca de sábila. En: Revista Vitae, 2013, vol. 20, no 3, p. 172-183.

RAMOS-GARCIA, Lorena, *et al.* Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas. En: revista mexicana de fitopatología. 2010. vol. 28. no 10. p. 44 – 57. Citado por Herrera Acevedo Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 33p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

RAYBAUDI, Rosa; SOLIVA, Robert y MARTÍN, Olga. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. En: Simposio Iberoamericano de Vegetales Frescos Cortados. (1ro: 2006: San Pedro, Brasil). Citado por Herrera Acevedo Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 34p. disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

REYES C., GUZMÁN R., CAMARGO C. CAMARGO. Estandarización de algunos métodos para análisis de carbohidratos por Cromatografía de Gases y su aplicación al proceso de Deshidratación de Banano". Tesis de Químico. Bogotá.: Universidad Nacional, 1972. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*Musa sapientum* L) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTA,

D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f). Disponible desde internet en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis605.pdf>

RODRÍGUEZ, Delia. CAROTENOIDES Y PREPARACION DE ALIMENTOS: La retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. Brasil: Departamento de ciencias de alimentos. Universidade estadual de campinas, SP. , 1999. Disponible desde internet en: <https://inta.cl/latinfoods/TEXTO%20FINAL%20COMPLETO%20CON%20TAPAS%20.pdf>

RONQUILLO, E. Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceites esenciales *in vitro e in situ*. Tesis (especialista en biotecnología). México D.F.: Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Biotecnología, 2007, 51h. Citado por Herrera Acevedo Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 35p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ROLLE, R. S., and G. W. CHISM. III. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.* 10:157-177, 1987. Citado por. J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." Disponible desde internet en: <http://research.ifas.ufl.edu/uls294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

RUBIO, M. y GUERRERO, J. Polímeros utilizados para la elaboración de películas biodegradables. México: Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina C.P.72810, 2012. Disponible desde internet en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Rubio-Anaya-et-al-2012.pdf>

SALVADORA A, L ARNALA, C BESADAA, V LARREAB, I HERNANDOC, I PÉREZ. Munuerac Reduced effectiveness of the treatment for removing astringency in persimmon fruit when stored at 15 °C physiological and microstructural study. *Postharv. Biol. Technol.* 49:340-347, 2008. Citado por URÍAS ORONA, Vania, *et al.* Estado hídrico y cambios anatómicos en la calabacita (*Cucurbita pepo* L.) almacenada. En: *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 35 (3): 221-228, 2012. Disponible desde internet en: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/35-3/4a.pdf>

SALTVEIT. M. E. Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. p. 205-220. in: F. A. Tomas-Barberan and R. J. Robins (eds.). *Phytochemistry of fruit and vegetables*. Oxford University Press, London, 1997. Citado por. J. Brecht, m.

Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." Disponible desde internet en: <http://research.ifas.ufl.edu/294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

SÁNCHEZ, L; *et al.* Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. En: Congreso SEAE (8: 16-20, Septiembre: Bullas, Murcia). Bullas, 2008. Citado por Herrera Acevedo Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 32, 34, 36p. disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

SOLLIER, S., ZACCARI, F. & MANDL, B. Elaboración del perfil y manual interpretativo de la norma de calidad de zapallos (*Cucúrbita*, sp.), Montevideo: Facultad de Agronomía, MGAP, s,p, Uruguay, 2005. <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/PI/doc/Normas%20%20Zapallo%20SUR%20%20-%202007%20k.pdf>. Acceso 15/08/2014.

SUMALAN, R. M.; ALEXA, E., y POIANA, M. A. Assessment of inhibitory potential of essential oils on natural mycoflora and *Fusarium* mycotoxins production in wheat. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 1-12, 2013. Citado por: Villa, A. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH), 2014. Disponible desde internet en: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/43358/50 49

S.M.A. Norma Ambiental Estatal NAESEMADES- 007/2008, Criterios y especificaciones técnicas bajo las cuales se deberá realizar la separación, clasificación y valorización de los residuos en el Estado de Jalisco. Secretaría de Medio Ambiente. México, 2008. Citado por Rubio, M. y Guerrero, J. Polímeros utilizados para la elaboración de películas biodegradables. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina C.P.72810. México, 2012. Disponible desde internet en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Rubio-Anaya-et-al-2012.pdf>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE PALMIRA. Agenda de Noticias. Encuentran dañinos hongos en zapallo. [En línea]. Julio 27 de 2011. [Citado en febrero 22 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/encuentran-daninos-hongos-en-zapallo.html>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE PALMIRA, Agencia de Noticias. Aceites de tomillo y orégano combaten hongos en mazorcas. [En línea]. Octubre 23 de 2012. [Citado en febrero 24 de 2016]. Disponible desde internet en: <http://agenciadenoticias.unal.edu.co/detalle/article/aceites-de-tomillo-y-oregano-combaten-hongos-en-mazorcas.html>

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA - SEDE PALMIRA. Agencia de Noticias. El zapallo, poderosa fuente de carotenoides. [En línea]. Febrero 4 de 2014. [Citado en junio 14 de 2014]. Disponible desde internet en: <http://www.agenciadenoticias.unal.edu.co/ndetalle/article/el-zapallo-poderosa-fuente-de-carotenoides.html>

UREÑA M., ENCINA C. Determinación de la máxima retención de ácido ascórbico de la conserva de agua y manto en almíbar aplicando el método tagushi. Lima Perú: Facultad de Industrias Alimentarias. Universidad nacional Agraria, 2007. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*musa sapientum* L) transformado por acción de la levadura *candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

URÍAS ORONA, Vania, *et al.* Estado hídrico y cambios anatómicos en la calabacita (*Cucurbita pepo* L.) almacenada. En: Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (3): 221-228, 2012. Disponible desde internet en: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/35-3/4a.pdf>

VALLEJO, F, *et al.* Efecto de la osmodeshidratación y secado en la retención de carotenos en fruto de zapallo. Valle del Cauca. Colombia: Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia. Palmira. En: Acta Agronómica. No. 57. [En línea]. 2008. Disponible desde internet en: http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/9265/9923

VALLEJO, F; ESTRADA SALAZAR, Edgar Iván. Producción de hortalizas de clima cálido. Universidad nacional de Colombia sede Palmira. Diciembre de 2004. p 191. Disponible desde internet en: http://books.google.com.co/books?id=UpyfvNokkroC&pg=PA191&lpg=PA191&dq=Es+el+nombre+popular+que,+desde+Argentina+hasta+Costa+Rica,+se+da+a+los+cultivares+derivados+de+las+especies+Curcubita+moshata,+Curcubita+m%C3%A1xima+y+Curcubita+pepo&source=bl&ots=fF-aROXIMb&sig=wGJ9xicrM3t3QlcuL-jDpi_9gZU&hl=es&sa=X&ei=QuHDU9f3HoG-sQSy5oDgCw&ved=0CBwQ6AEwAA#v=onepage&q=Es%20el%20nombre%20popular%20que%20desde%20Argentina%20hasta%20Costa%20Rica%20se%20da%20a%20los%20cultivares%20derivados%20de%20las%20especies%20Curcubita%20

0moshata%2C%20Curcubita%20m%C3%A1xima%20y%20Curcubita%20pepo&f=false

VAROQUAUX, P. and R. C. WILEY. Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. En: Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Wiley RC (eds). Chapman & Hall. New York: 1994, pp. 226-228. Citado por ESCOBAR, Alejandro. Aplicación de la tecnología de barreras para la conservación individual y de mezclas de hortalizas mínimamente procesadas. Tesis de grado para optar el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Medellín, Colombia.: Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de Ciencias Agrarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos. Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2013. Disponible desde internet en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11831/1/14704538.2013.pdf>

VILLEGAS CARDENAZ, Andrés. Cambios en la calidad de frutos de litchi mínimamente procesados. Tesis que para obtener el título de ingeniero agroindustrial. Tulancingo de Bravo, Hidalgo Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Instituto de ciencias agropecuarias, 2005. Disponible desde internet en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10856/Cambios%20en%20la%20calidad%20de%20frutos.pdf?sequence=1>

VIGLIOLA, M. I., y L. I. CALOT. Hortalizas. Enfermedades en poscosecha. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, 1982. Citado por Della, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucúrbita moschata* Duch). Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro Regional Mendoza – San Juan Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, (2013). Disponible desde internet en: <http://inta.gov.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapallo-anquito-cucurbita-moschata-duch>

WALTER W M, D G EPLEY, R F MCFEETERS. Effect of water stress on stored pickling cucumbers. J. Agric. Food Chem. 38:2185-2191, 1990. Citado por URÍAS ORONA, Vania, *et al.* Estado hídrico y cambios anatómicos en la calabacita (*Cucurbita pepo* L.) almacenada. En: Rev. Fitotec. Mex. Vol. 35 (3): 221-228, 2012. Disponible desde internet en: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/35-3/4a.pdf>

WATADA, A. E. • K. Abe. and N. Yamauchi. Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. Food Technol. 44(5):116. 118. 120-122, 1990. Citado por. J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." <http://research.ifas.ufl.edu/294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

WHITAKER, T. W. y DAVIS, G. N. *Cucurbits; Botany, Cultivation and utilization*. Leonard Hill, New York, 1962, 259 p. Citado por Della, P. Manual del cultivo de zapallo anquito (*Cucúrbita moschata* Duch). Estación Experimental Agropecuaria La Consulta Centro

Regional Mendoza – San Juan Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2013. Disponible desde internet en: <http://inta.gob.ar/documentos/manual-del-cultivo-del-zapallo-anquito-cucurbita-moschata-duch>

WILLS, R.; LEE, T.; MC GLASSON, B.; GRAHAM, D. Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección. Zaragoza, España. Acribia, 1984, p.1 8-22, 43-46, 81-83. Citado por CASALLAS, Luisa. Evaluación del análisis fisicoquímico del banano común (*Musa sapientum* L) transformado por acción de la levadura *Candida guilliermondii*. Trabajo de grado Carreras de microbiología industrial y nutrición y dietética. BOGOTÁ, D.C.: Facultad de ciencias. Pontificia universidad javeriana. (s.f).

WILEY, C.R. Minimally processed refrigerated fruits and vegetables. Chapman Hall, New York, 1994, p. 368. Citado por VILLEGAS CARDENAZ, Andrés. Cambios en la calidad de frutos de litchi mínimamente procesados. Tesis que para obtener el título de ingeniero agroindustrial. Tulancingo de Bravo, Hidalgo: Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Instituto de ciencias agropecuarias, 2005. Disponible desde internet en: <https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10856/Cambios%20en%20la%20calidad%20de%20frutos.pdf?sequence=1>

WILSON, C. e. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*, 2011. [En línea]. <<http://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PDIS.1997.81.2.204>>. Citado por Herrera Acevedo Nury Marieyi. Evaluación de aceites esenciales de canela y de nuez moscada en un recubrimiento comestible para la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth). Trabajo de grado Ingeniería de alimentos. Bogotá DC.: Universidad de la Salle. Facultad de Ingeniería. Programa de Ingeniería de Alimentos, 2011. 33p. Disponible desde internet en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16029/T43.11%20H433e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ZACCARI, F; GALEAZZI, D; RAHI, V. Efecto del tiempo de almacenamiento en condiciones controladas de temperatura sobre atributos físicos y químicos de zapallos "tipo kabutia" (*Cucurbita maximax* x *Cucurbita moschata*). En: Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, vol. 16, núm. 1, 2015, pp. 114-120. Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México.

ZHUANG. H.. D. F. HILDEBRAND, and M. M. BARTH. Temperature influenced lipid peroxidation and deterioration in broccoli buds during postharvest storage. *Postharvest Biol. Technol.* 10, 1997. 49-58. Citado por J. Brecht, m. Saltveit, s. Talcdti, k. Schneider, k. Felkey, and j. Bartz. Fresh-Cut Vegetables and Fruits. En "Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Vegetables and Fruits." Disponible desde internet en: <http://research.ifas.ufl.edu/s294/index.html>. Florida Agricultural Experiment Station Journal Series No. R-09235.

ANEXOS

ANEXO A. DATOS PROMEDIO DE LAS TRES RÉPLICAS

Cuadro 1. Promedio de los datos de pérdida de peso acumulado (%) en los tratamientos.

DÍAS DE SEGUIMIENTO						
TRATAMIENTO		0	3	6	9	12
SN	R1	0	18,3	36,7	51,0	57,8
	R2	0	13,5	26,1	35,7	40,1
	R3	0	14,1	26,9	36,6	41,4
CV	R1	0	0,6	1,5	2,0	3,2
	R2	0	0,5	1,0	2,6	3,1
	R3	0	0,5	1,4	2,5	3,3
CR	R1	0	13,3	24,4	34,8	39,5
	R2	0	13,2	25,0	34,7	39,3
	R3	0	11,3	22,8	32,6	38,2
CB	R1	0	0,9	2,1	3,3	4,4
	R2	0	1,1	2,4	3,7	4,8
	R3	0	1,2	2,2	3,6	4,5

Cuadro 2. Promedio de las mediciones de color en los tratamientos.

TRATAMIENTO	DÍAS SEGUIMIENTO	a*	b*	c*	h°	L *
	SN	0	22,4	54,1	58,6	67,5
3		23,5	50,5	55,7	65,1	65,76
6		20,5	40,1	45,1	62,6	65,33
9		17,4	35,1	39,4	62,8	63,68
12		19,3	37,2	41,9	62,6	64,19
CV	0	21,3	57,8	61,6	69,8	65,92
	3	21,5	49,1	53,6	66,3	70,57
	6	21	50,9	55	68,3	67,92
	9	22	47,8	52,6	65,3	67,3
	12	21,5	49,4	53,9	66,3	67,64
CR	0	23,1	58,2	62,6	68,4	67,76
	3	21,4	47,6	52,2	65,8	67,82
	6	24,8	50,8	56,5	65,6	64,59
	9	18,7	37,7	42,1	63,7	65,77
	12	18,1	37	41,2	64	63,76

CB	0	23,1	54,2	58,9	66,9	67,5
	3	21,4	54,8	59	68,1	67,9
	6	24,8	51,4	55,8	63,9	67,2
	9	18,7	48,7	53,8	64,8	67,2
	12	18,1	40,4	44,7	64,7	60,1

Cuadro 3. Resultados de firmeza vs tiempo de evaluación.

DÍAS DE SEGUIMIENTO						
TRATAMIENTO		0	3	6	9	12
SN	R1	68,7	54,9	60,4	60,3	39,8
	R2	66,1	58,6	68,9	50,2	31,1
	R3	68,7	63,6	62,5	52,8	38,0
CV	R1	59,2	84,3	64,2	70,2	66,5
	R2	54,3	78,3	55,0	54,9	50,2
	R3	73,4	77,4	50,6	66,9	82,7
CR	R1	84,4	62,9	78,5	24,3	23,6
	R2	82,7	64,5	74,0	29,5	26,0
	R3	81,0	66,1	69,4	19,2	21,3
CB	R1	77,6	80,5	79,3	46,6	45,3
	R2	53,3	58,5	70,3	52,1	43,3
	R3	69,6	81,4	61,3	41,0	47,3

Cuadro 4. Promedio de las mediciones de tasa de respiración CO₂ (%) en los tratamientos.

DÍAS DE SEGUIMIENTO						
TRATAMIENTO		0	3	6	9	12
SN	R1	5,4	13,3	3,5	8,9	12,6
	R2	4,6	13,4	3,9	9,1	12,0
	R3	4,5	13,3	4,2	8,5	14,0
CV	R1	4,4	7,6	10,1	24,5	7,9
	R2	5,6	7,9	6,8	7,5	7,8
	R3	3,1	7,3	13,3	41,4	7,9
CR	R1	0,6	16,2	11,0	13,6	14,8
	R2	0,7	12,6	8,9	8,5	10,7
	R3	0,7	14,1	24,2	43,4	44,3
CB	R1	1,5	14,3	12,9	21,0	27,1
	R2	1,7	18,7	16,7	24,7	28,0
	R3	1,3	9,8	9,1	17,3	26,2

Cuadro 5. Promedio de las mediciones de tasa de respiración O₂ (%) en los tratamientos.

		DÍAS DE SEGUIMIENTO				
TRATAMIENTO		0	3	6	9	12
SN	R1	10,4	8,9	7,6	6,5	5,7
	R2	10,2	8,3	4,2	3,8	3,3
	R3	10,4	9,3	8,6	8,2	8,9
CV	R1	15,0	9,6	10,4	9,8	9,2
	R2	13,3	8,1	8,6	8,9	9,3
	R3	16,8	11,0	12,2	10,6	9,5
CR	R1	19,7	2,8	2,5	1,3	1,3
	R2	19,4	5,2	4,2	5,6	6,1
	R3	19,2	1,1	0,6	0,6	0,4
CB	R1	17,9	10,6	10,7	10,7	10,6
	R2	17,9	10,3	10,3	10,3	10,2
	R3	17,9	10,8	11,1	10,0	8,8

Cuadro 6. Análisis bromatológico de los trozos de ahuyama en los tratamientos (%).

Análisis	SN			CV			CR			CB		
	0	6	12	0	6	12	0	6	12	0	6	12
Azúcares totales	33,6	27	19	34	38	30	33,6	21,9	21,5	33,6	31,6	35
Cont. de grasa	3,12	2,4	3,3	3,1	3,5	3,99	3,12	4,41	3,74	3,12	4,15	5
Calcio	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,18	0,2	0,26	0,28	0,2	0,23	0,2
Cenizas	10,9	12	12	11	11	12,3	10,9	12,7	12,6	10,9	11,7	11
Fósforo	0,39	0,4	0,5	0,4	0,4	0,41	0,39	0,55	0,58	0,39	0,51	0,5
Humedad y MV	>90	89	87	>90	90	90	>90	89,1	87,8	>90	>90	>90
Magnesio	0,12	0,2	0,1	0,1	0,1	0,13	0,12	0,21	0,22	0,12	0,18	0,2
Potasio	4,69	5	5,2	4,7	4,6	5,22	4,69	5,61	5,25	4,69	4,87	5
Proteína cruda	10	12	12	10	9,7	10	10	14,8	14,6	10	11,5	11

Cuadro 7. Crecimiento microbiano en los tratamientos (Unidades Formadoras de Colonia/g).

Tratam. \ Días	Día 0	Día 6	Día 12
CV1	0	6,36E+02	9,09E+02
CV2	0	2,45E+03	1,09E+03
CV3	0	4,40E+02	4,54E+02
SN1	0	5,80E+03	9,54E+03
SN2	0	4,56E+03	2,09E+04
SN3	0	2,90E+03	6,27E+04
CR1	0	2,27E+02	9,27E+04
CR2	0	6,81E+02	1,56E+05
CR3	0	1,00E+02	1,01E+05
CB1	0	1,00E+01	5,40E+03
CB2	0	8,63E+02	3,77E+03
CB3	0	5,00E+02	4,58E+03

ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PÉRDIDA DE PESO

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 43. ANOVA de la prueba pérdida de peso.

Análisis de varianza para Pérdida de de peso, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	7665,74	7665,74	2555,25	234,82	0,000
Tiempo	4	4335,43	4335,43	1083,86	99,61	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	3106,03	3106,03	258,84	23,79	0,000
Error	40	435,26	435,26	10,88		
Total	59	15542,46				

S = 3,29871 R-cuad. = 97,20% R-cuad. (ajustado) = 95,87%

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

Cuadro 8. Método LSD comparación de medias para pérdida de peso.

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 10,88$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 48} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CME \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_t}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{10,88 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$\mathbf{LSD = 2,46}$$

Cuadro 9. Aplicación de la prueba LSD para pérdida de peso.

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	31,3 > LSD	Significativo
SN – CR	5,8 > LSD	Significativo
SN – CB	30,3 > LSD	Significativo
CV – CR	25,6 > LSD	Significativo
CV – CB	1 < LSD	No significativo
CR – CB	24,6 > LSD	Significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B_2(3)} = 2,04 * \sqrt{10,88 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

LSD = 5,5

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

Cuadro 10. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CV) = 14,7 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CR) = 2,7 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CB) = 14,2 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CR) = 12 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CB) = 0,5 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CR) - \bar{Y}B_2(CB) = 11,5 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo

Cuadro 11. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 28,6 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 5,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 27,6 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 22,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,9 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 21,8 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 12. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 38,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 7,1 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 37,6 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 31,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 30,5 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 13. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 43,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 7,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 41,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 35,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 34,4 > LSD B2(T)$	Significativo

ANEXO C. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO L* (LUMINOSIDAD)

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 44. ANOVA del Parámetro L* (Luminosidad).

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

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	52,52	52,52	17,51	1,55	0,216
Tiempo	4	115,58	115,58	28,90	2,56	0,053
Tratamiento*Tiempo	12	122,64	122,64	10,22	0,91	0,549
Error	40	451,13	451,13	11,28		
Total	59	741,88				

S = 3,35833 R-cuad. = 39,19% R-cuad. (ajustado) = 10,31%

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

Cuadro 14. Método LSD comparación de medias para parámetro L* (Color).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 11,28$ Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_j}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{11,28 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$\mathbf{LSD = 2,5}$$

Cuadro 15. Aplicación de la prueba LSD para parámetro L* (Color).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	2,5 < LSD	No significativo
SN – CR	0,5 < LSD	No significativo
SN – CB	0,6 < LSD	No significativo
CV – CR	2 < LSD	No significativo
CV – CB	1,9 < LSD	No significativo
CR – CB	0,1 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B_2(3)} = 2,04 * \sqrt{11,28 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

LSD = 5,6

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

Cuadro 16. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CV) = 4,8 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CR) = 2 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CB) = 2,1 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CR) = 2,8 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CB) = 2,7 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CR) - \bar{Y}B_2(CB) = 0,1 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo

Cuadro 17. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 2,59 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,74 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 1,87 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3,33 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,72 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 2,61 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 18. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,62 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 2,09 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3,52 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 1,53 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 1,43 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 19. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,45 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,43 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 4,09 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3,88 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 7,54 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 3,66 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO D. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO A* (CROMATICIDAD)

Figura 45. ANOVA del parámetro a* (Cromaticidad).

Análisis de varianza para parámetro a*, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	10,650	10,650	3,550	0,55	0,654
Tiempo	4	80,412	80,412	20,103	3,09	0,026
Tratamiento*Tiempo	12	116,504	116,504	9,709	1,49	0,167
Error	40	259,937	259,937	6,498		
Total	59	467,503				

S = 2,54920 R-cuad. = 44,40% R-cuad. (ajustado) = 17,99%

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

Cuadro 20. Método LSD comparación de medias parámetro a* (Cromaticidad).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 6,498$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CME \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_l}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{6,498 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$\mathbf{LSD = 1,9}$$

Cuadro 21. Aplicación de la prueba LSD para parámetro a* (Cromaticidad).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	0,8 < LSD	No significativo
SN – CR	0,6 < LSD	No significativo
SN – CB	1,4 < LSD	No significativo
CV – CR	0,2 < LSD	No significativo
CV – CB	0,6 < LSD	No significativo
CR – CB	0,8 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B2(3)} = 2,04 * \sqrt{6,498 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

LSD = 4,2

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

Cuadro 22. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 2 < LSD_{B2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 2,1 < LSD_{B2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 1,4 < LSD_{B2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 0,1 < LSD_{B2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,6 < LSD_{B2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,7 < LSD_{B2(T)}$	No significativo

Cuadro 23. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 4,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 1,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 3,2 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 24. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 4,6 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 1,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 6,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 2,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 5,5 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 25. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 2,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 1,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 0,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 2,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 1,1 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO E. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO B* (CROMATICIDAD)

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 46. ANOVA del parámetro b* (Cromaticidad).

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

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	549,92	549,92	183,31	7,58	0,000
Tiempo	4	1842,46	1842,46	460,61	19,06	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	590,03	590,03	49,17	2,03	0,046
Error	40	966,73	966,73	24,17		
Total	59	3949,13				

S = 4,91611 R-cuad. = 75,52% R-cuad. (ajustado) = 63,89%

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

Cuadro 26. Método LSD comparación de medias parámetro b* (Cromaticidad).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 24,17$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_t}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{24,17 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$\mathbf{LSD = 3,7}$$

Cuadro 27. Aplicación de la prueba LSD para parámetro b* (Cromaticidad).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	7,6 > LSD	Significativo
SN – CR	2,9 < LSD	No significativo
SN – CB	6,5 > LSD	Significativo
CV – CR	4,7 > LSD	Significativo
CV – CB	1,1 < LSD	No significativo
CR – CB	3,6 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B_2(3)} = 2,04 * \sqrt{24,17 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

$$\mathbf{LSD = 8,2}$$

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

Cuadro 28. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CV) = 1,4 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CR) = 2,9 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CB) = 4,3 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CR) = 1,5 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CB) = 5,7 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CR) - \bar{Y}B_2(CB) = 7,2 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo

Cuadro 29. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 10,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 10,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 11,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 0,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,6 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 30. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 12,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 2,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 13,6 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 10,1 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,9 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 11 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 31. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 12,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 12,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 3,4 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO h° (TONALIDAD)

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

Figura 47. ANOVA del parámetro h° (Tonalidad).

Análisis de varianza para parámetro h°, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	72,254	72,254	24,085	6,98	0,001
Tiempo	4	130,788	130,788	32,697	9,47	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	42,597	42,597	3,550	1,03	0,443
Error	40	138,119	138,119	3,453		
Total	59	383,759				

S = 1,85822 R-cuad. = 64,01% R-cuad. (ajustado) = 46,91%

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

Cuadro 32. Método LSD comparación de medias parámetro h° (tonalidad).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 3,453$ Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CME \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_j}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{3,453 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15}\right)}$$

$$LSD = 1,38$$

Cuadro 33. Aplicación de la prueba LSD para parámetro h° (tonalidad).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	3,1 > LSD	Significativo
SN – CR	1,4 > LSD	Significativo
SN – CB	1,6 > LSD	Significativo
CV – CR	1,7 > LSD	Significativo
CV – CB	1,5 > LSD	Significativo
CR – CB	0,2 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD B2 (3) = 2,04 * \sqrt{3,453 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3}\right)}$$

$$LSD = 3,10$$

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

Cuadro 34. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 1,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,7 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 2,3 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 35. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 5,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 1,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 2,7 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 4,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 1,7 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 36. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 2,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,9 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 1,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 37. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 1,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 2,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 2,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,7 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA PARÁMETRO C* (SATURACIÓN)

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 48. ANOVA del parámetro c* (saturación).

Análisis de varianza para parámetro c*, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	482,02	482,02	160,67	5,55	0,003
Tiempo	4	1769,53	1769,53	442,38	15,29	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	666,41	666,41	55,53	1,92	0,061
Error	40	1157,27	1157,27	28,93		
Total	59	4075,24				

S = 5,37882 R-cuad. = 71,60% R-cuad. (ajustado) = 58,11%

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

Cuadro 38. Método LSD comparación de medias parámetro c* (Saturación).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 28,93$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_j}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{28,93 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15}\right)}$$

$$\mathbf{LSD = 4,01}$$

Cuadro 39. Aplicación de la prueba LSD para parámetro c* (Saturación).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	7,3 > LSD	Significativo
SN – CR	2,8 < LSD	No significativo
SN – CB	6,3 > LSD	Significativo
CV – CR	4,5 > LSD	Significativo
CV – CB	1 < LSD	No significativo
CR – CB	3,5 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B2(3)} = 2,04 * \sqrt{28,93 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3}\right)}$$

$$\mathbf{LSD = 8,96}$$

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

Cuadro 40. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 2,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 3,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 1,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 5,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 6,8 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 41. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 9,9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 11,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 10,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 1,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,7 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 42. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 13,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 2,7 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 14,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 10,5 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,2 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 11,7 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 43. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 12 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 0,7 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 0,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 12,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 9,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 3,5 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA FIRMEZA

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 49. ANOVA de la prueba de firmeza.

Análisis de varianza para P.FIRMEZA, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	1250,07	1250,07	416,69	7,75	0,000
Tiempo	4	8044,15	8044,15	2011,04	37,42	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	6258,81	6258,81	521,57	9,71	0,000
Error	40	2149,58	2149,58	53,74		
Total	59	17702,61				

S = 7,33072 R-cuad. = 87,86% R-cuad.(ajustado) = 82,09%

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

Cuadro 44. Método LSD comparación de medias parámetro c^* (Saturación).

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN \neq CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN \neq CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN \neq CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV \neq CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV \neq CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR \neq CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 53,74$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_l}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{53,74 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15}\right)}$$

$$LSD = 5,46$$

Cuadro 45. Aplicación de la prueba LSD para parámetro c* (Saturación).

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto	Decisión
SN – CV	9,6 > LSD	Significativo
SN – CR	2,5 < LSD	No significativo
SN – CB	4,2 < LSD	No significativo
CV – CR	12,1 > LSD	Significativo
CV – CB	5,4 < LSD	No significativo
CR – CB	6,7 > LSD	Significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n}\right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B2(3)} = 2,04 * \sqrt{53,74 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3}\right)}$$

$$LSD = 12,2$$

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

Cuadro 46. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 21 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 5,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 14,5 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 15,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 6,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 9 < LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 47. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 8,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 9,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 5,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 17,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 13,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 3,7 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 48. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 9,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 30,1 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 7,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 39,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 17,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 22,3 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 49. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 30,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 12,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 9 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 42,9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 21,2 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 21,7 < LSD B2(T)$	Significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

ANEXO I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA TASA DE RESPIRACIÓN

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia $\alpha = 0,05$

Figura 50. ANOVA de la prueba tasa de respiración (% de dióxido de carbono).

Análisis de varianza para tasa de respiración (% CO₂), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	211,53	211,53	70,51	63,50	0,000
Tiempo	4	2814,74	2814,73	703,68	633,76	0,000
Tratamiento*Tiempo	12	415,65	415,65	34,64	31,20	0,000
Error	40	44,41	44,41	1,11		
Total	59	3486,33				

$S = 1,05372$ $R\text{-cuad.} = 98,73\%$ $R\text{-cuad. (ajustado)} = 98,12\%$

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

Cuadro 50. Método LSD comparación de medias para tasa de respiración, % de CO₂

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 1,11$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CME \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_j}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{1,11 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$\text{LSD} = 0,8$$

Cuadro 51. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración, % de CO₂.

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto LDS = 0,8	Decisión
SN – CV	4,3 > LSD	Significativo
SN – CR	4,6 > LSD	Significativo
SN – CB	4,4 > LSD	Significativo
CV – CR	0,3 < LSD	No significativo
CV – CB	0,1 < LSD	No significativo
CR – CB	0,2 < LSD	No significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B_2(3)} = 2,04 * \sqrt{1,11 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

$$\text{LSD} = 1,8$$

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

Cuadro 52. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CV) = 1,6 < \text{LSD } B_2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CR) = 1,7 < \text{LSD } B_2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CB) = 0,5 < \text{LSD } B_2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CR) = 3,3 > \text{LSD } B_2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CB) = 2,1 > \text{LSD } B_2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B_2(CR) - \bar{Y}B_2(CB) = 1,2 < \text{LSD } B_2(T)$	No significativo

Cuadro 53. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 1,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 4,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 1,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 2,9 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 54. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 10,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 8,5 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 9,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 1,8 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 0,8 < LSD B2(T)$	No significativo

Cuadro 55. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 11,8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 12,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 13,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 0,9 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 1,9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 1 < LSD B2(T)$	No significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$

Figura 51. ANOVA de la prueba tasa de respiración (% de oxígeno).

Análisis de varianza para tasa de respiración (% O₂), utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	MC Ajust.	F	P
Tratamiento	3	597,889	597,889	199,296	45,66	0,000
Tiempo	4	94,902	94,902	23,726	5,44	0,001
Tratamiento*Tiempo	12	5,906	5,906	0,492	0,11	1,000
Error	40	174,600	174,600	4,365		
Total	59	873,297				

S = 2,08926 R-cuad. = 80,01% R-cuad. (ajustado) = 70,51%

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

Cuadro 56. Método LSD comparación de medias para tasa de respiración, % de O₂.

Ho: SN = CV	VS	Ho: SN ≠ CV
Ho: SN = CR	VS	Ho: SN ≠ CR
Ho: SN = CB	VS	Ho: SN ≠ CB
Ho: CV = CR	VS	Ho: CV ≠ CR
Ho: CV = CB	VS	Ho: CV ≠ CB
Ho: CR = CB	VS	Ho: CR ≠ CB

Utilizando el método de LSD. En el ANOVA se observa que los grados de libertad del error son 40 y que el cuadrado medio del error $CME = 2,653$. Se usa una significancia predefinida de $\alpha = 0,05$, en el cuadro de la distribución T de Student con 40 grados de libertad, se obtiene que $t_{0.025, 40} = 2,04$. Como en cada tratamiento se hicieron $n = 15$ pruebas, entonces:

$$LSD_A = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CME \left(\frac{1}{n_{A_i}} + \frac{1}{n_{A_t}} \right)}$$

$$LSD = 2,04 * \sqrt{2,653 * \left(\frac{1}{15} + \frac{1}{15} \right)}$$

$$LSD = 1,2$$

Cuadro 57. Aplicación de la prueba LSD para tasa de respiración, % de O₂.

Diferencia de tratamientos	Diferencia muestral en valor absoluto LDS = 0,8	Decisión
SN – CV	3,2 > LSD	Significativo
SN – CR	1,6 > LSD	Significativo
SN – CB	4,3 > LSD	Significativo
CV – CR	4,8 > LSD	Significativo
CV – CB	1,1 < LSD	No significativo
CR – CB	5,9 > LSD	Significativo

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:

$$LSD_{B_2(A)} = t_{\alpha/2, ab(n-1)} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{n} \right)}$$

Dónde:

A: Tratamiento

B: Tiempo (cte)

$$LSD_{B_2(3)} = 2,04 * \sqrt{2,653 * \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{3} \right)}$$

LSD = 3,6

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

Cuadro 58. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 3.

$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CV) = 0,8 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CR) = 5,8 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo
$\bar{Y}B_2(SN) - \bar{Y}B_2(CB) = 1,8 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CR) = 6,6 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo
$\bar{Y}B_2(CV) - \bar{Y}B_2(CB) = 1 < LSD_{B_2(T)}$	No significativo
$\bar{Y}B_2(CR) - \bar{Y}B_2(CB) = 7,6 > LSD_{B_2(T)}$	Significativo

Cuadro 59. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 6.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 4,4 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3,9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 8 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 8,3 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 60. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 9.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 3,7 < LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 4,1 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 7,3 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,5 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 7,8 > LSD B2(T)$	Significativo

Cuadro 61. Prueba LSD para la interacción día - tratamiento para el día 12.

$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CV) = 3,3 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CR) = 3,4 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(SN) - \bar{Y}B2(CB) = 3,9 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CR) = 6,7 > LSD B2(T)$	Significativo
$\bar{Y}B2(CV) - \bar{Y}B2(CB) = 0,6 < LSD B2(T)$	No significativo
$\bar{Y}B2(CR) - \bar{Y}B2(CB) = 7,3 > LSD B2(T)$	Significativo

Para realizar el análisis estadístico de los tratamientos hasta el día 12 se aplicó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$