



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**PROYECTO DE TESIS PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**TEMA:**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE HOJAS  
*Citrus Spp* en *Botrytis Cinerea* y *Rhizopus Stolonifer* APLICADOS EN  
RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA LA CONSERVACIÓN DE LA  
FRUTILLA (*Fragaria x ananassa*).**

**AUTORAS:**

**ANA CAROLINA ALVIA SANTANA  
ESTEFANIA ANNABEL CARRILLO CAMPOZANO**

**TUTORA:**

**ING. KATHYA SAYONARA REYNA ARIAS MG. SC**

**MANTA-MANABÍ-ECUADOR**

**2019**

**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**TESIS DE GRADO**

Evaluación del efecto Inhibitorio del extracto de hojas Citrus Spp en Botrytis Cinerea y Rhizopus Stolonifer aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la Frutilla (Fragaria x ananassa).

Sometida a consideración del Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias Agropecuarias como requisito para obtener el Título de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Aprobado por el tribunal:

-----  
Ing. Ángel Prado Cedeño Mg. Sc  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

-----  
Ing. María Isabel Mantuano Cuzme Mg. Sc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

-----  
Ing. Edison Lavayen Delgado Mg. Sc  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad ciencias Agropecuaria de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, certifico:

Haber dirigido y revisado el trabajo de titulación, cumpliendo el total 400 horas, bajo la modalidad de titulación, cuyo tema del proyecto es **“Evaluación del efecto inhibitorio del extracto de hojas *Citrus Spp* en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la Frutilla (*Fragaria x ananassa*)”**, el mismo que ha sido desarrollado de acuerdo a los lineamientos internos de la modalidad en mención y en apego al cumplimiento de los requisitos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico, por tal motivo CERTIFICO, que el mencionado proyecto reúne los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometido a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

La autoría del tema desarrollado corresponde a las señoritas Ana Carolina Alvia Santana y Estefania Annabel Carrillo Campozano, estudiantes de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, período académico 2019-2020.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Manta, 18 de Septiembre del 2019.

Lo certifico,

ING. KATHYA SAYONARA REYNA ARIAS Mg.Sc.

**Docente Tutor(a)**

## **DECLARACION DE AUTORIA**

Yo, Ana Carolina Alvia Santana con C.I. 1310768385 y Estefania Annabel Carrillo Campozano con C.I 1316717345, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría, y que los resultados del mismo son auténticos, originales y personales, los textos constantes en el documento que proviene de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Manta, 18 de Septiembre del 2019

---

**Ana Carolina Alvia Santana**

**C.I 1310768385**

---

**Estefania Annabel Carrillo Campozano**

**C.I 1316717345**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por haberme permitido llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional y culminar unas de mis metas.

A mis Padres por ser los principales promotores de mis sueños y brindarme siempre su apoyo, por todo el esfuerzo que han hecho para que llegue hacer la mujer que hoy soy. A mis hermanos por motivarme a seguir adelante, gracias familia por su amor incondicional.

A mi Compañera de tesis por brindarme su amistad a lo largo de nuestra formación académica, y llegar juntas en esta etapa de culminación.

A mis Compañeros quienes estuvieron presentes ayudándonos en esta etapa final y al Ing. Luis Flores Holguín por toda la ayuda brindada en este proyecto de investigación.

A los Docentes, por impartirnos sus conocimientos en toda nuestra etapa universitaria.

Y Agradezco de manera muy especial por su esfuerzo, dedicación, y entrega a mi tutora, Ing. Sayonara Reyna Arias quien estuvo siempre guiándonos y brindándonos su ayuda en esta trayectoria de tesis.

.

**Ana Carolina Alvia Santana**

## **DEDICATORIA**

A Dios por ser mi guía en cada paso y permitirme culminar un peldaño más de mis metas. De manera muy especial quiero dedicar esta investigación a mis padres Julio Alvia y Rosa Santana quienes estuvieron siempre dándome su apoyo y dedicación durante toda mi formación profesional.

A mis hermanos Sandy, Leonel y Leandro quienes han sido mi fuente de motivación en cada momento y por último a mi abuelita Natividad López quien con amor y paciencia me brindaba sus consejos siempre, ya que uno de sus mayores anhelos era verme culminar esta etapa tan importante de mi vida.

**Ana Carolina Alvia Santana**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco inmensamente a Dios por darme vida, salud, paciencia y fuerzas para llegar a esta etapa tan importante y especial de mi vida.

A mis Padres por haberme guiado con mucho amor por ser mi pilar fundamental por creer en mi por traerme a este mundo y por ayudarme a hacer realidad esta meta

A mis queridos Hermanos por su cariño y apoyo incondicional.

A mi querido Novio por su cariño y apoyo en cada momento de mi vida.

A la Sra. Judith Saltos por guiarme y aconsejarme para poder llegar a este día.

A mi Compañera de tesis por su comprensión y dedicación para poder cumplir este propósito.

A mis Amigos por brindarme su amistad y ayudarme a culminar mi etapa universitaria.

A mi Tutora de tesis Ing. Sayonara Reyna por el tiempo, paciencia, y dedicación en este proceso de titulación.

A mis Docentes por haberme llenado de conocimientos y aprendizajes a lo largo de mi carrera universitaria.

A mi Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí por abrirme las puertas para poder formarme como profesional.

**Estefania Carrillo Campozano**

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo a Dios por guiarme y bendecirme para llegar con éxito y poder culminar esta etapa.

A mis amados Padres Sr. Wilson Carrillo y Sra. Miriam Campozano por su gran esfuerzo, consejos, aliento y por encaminarme con valores hasta esta gran meta a pesar de las adversidades.

Con mucho amor mis Sobrinos Víctor Andres García y Allan García por ser mi fuente de inspiración.

Con mucho cariño a mi amada Familia Carrillo Campozano por todo el apoyo brindado y por sus consejos para poder cumplir mis sueños y objetivos propuestos.

**Estefania Carrillo Campozano**

# ÍNDICE

## CAPITULO I

INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. MARCO TEÓRICO .....	4
1.1.1. La frutilla.....	4
1.1.2. Contaminación por hongos en la frutilla .....	4
1.1.3. Extracto de hojas cítricas .....	5
1.1.4. Recubrimientos comestibles.....	6
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	9
1.3. JUSTIFICACION .....	11
1.4. HIPÓTESIS .....	13
1.5. OBJETIVOS.....	14
1.5.1. Objetivo General.....	14
1.5.2. Objetivos Específicos .....	14

## CAPITULO II

METODOLOGIA.....	15
2.1 UBICACIÓN DE LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN.....	15
2.2 VARIABLES EN ESTUDIO .....	15
2.2.1 VARIABLES PARA EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO.....	15
2.2.2 VARIABLES APLICADAS EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES .....	16
2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	17
2.3.1. Tipo de diseño .....	17
2.3.2. Análisis estadísticos .....	17
2.3.3 Tratamientos.....	18
2.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS .....	20
2.4.1. CUANTIFICACION DE HOJAS CITRUS SPP Y EFECTO INHIBITORIO .....	20
2.4.2 APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS <i>CITRUS SPP</i> EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA CONSERVACION DE LA FRUTILLA ( <i>Fragaria x Ananassa</i> ).....	23

## CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
3.1. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN HOJAS <i>Citrus spp.</i>	28

<b>3.2. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (METODO DE DIFUSIÓN DE DISCOS EN AGAR)</b>	<b>29</b>
3.2.1. Efecto Inhibitorio de los extractos de las hojas <i>Citrus spp</i> en <i>Botrytis cinerea</i> .	29
3.2.2. Efecto Inhibitorio de los extractos <i>Citrus Spp.</i> en <i>Rhizopus stolonifer</i>	30
<b>3.3 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA FRUTILLA CON RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.</b>	<b>32</b>
3.3.1. FRUTILLAS INOCULADAS CON <i>Botrytis cinerea</i>	32
3.3.2. FRUTILLAS INOCULADAS CON <i>Rhizopus stolonifer</i>	42
Tabla N°6	51
<b>CAPITULO IV</b>	
<b>4.1 CONCLUSIONES</b>	<b>52</b>
<b>4.2. RECOMENDACIONES</b>	<b>53</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>54</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>61</b>

## ÍNDICE DE TABLA

<b>Tabla N°1</b> Esquema de análisis de varianza (ANOVA) del primer diseño experimental para evaluar el efecto inhibitorio .....	17
<b>Tabla N°2</b> Esquema de análisis de varianza (ANOVA) del segundo diseño experimental para aplicar recubrimientos comestibles .....	18
<b>Tabla N° 3.</b> Tratamientos de estudio del Diseño Experimental 1 .....	18
<b>Tabla N° 4.</b> Tratamientos de estudio del Diseño Experimental 2.....	20
<b>Tabla N° 5</b> Absorbancia de los extractos de hojas Citrus spp.....	22
<b>Tabla N°6</b> Resultados de los análisis de Botrytis Cinerea y Rhizopus Stolonifer.....	50

## ÍNDICE DE GRÁFICO

<b>Gráfico N° 1</b> .....	22
<b>Gráfico N°2.</b> Resultados de las concentraciones de los extractos en hojas <i>Citrus spp.</i> .....	28
<b>Gráfico N°3</b> Resultados del efecto inhibitorio de las concentraciones de los extractos de hojas <i>Citrus spp.</i> en <i>Botrytis Cinerea</i> .....	30
<b>Gráfico N°4</b> .....	31
<b>Gráfico N°5</b> Resultados obtenidos de solidos solubles en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ) .....	32
<b>Gráfico N° 6</b> Resultados obtenidos de pH en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ) .....	34
<b>Gráfico N°7</b> Resultados de acidez titulable de la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	35
<b>Gráfico N°8</b> Resultados obtenidos de Índice de deterioro en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	36
<b>Gráfico N° 9</b> Resultados obtenidos de la firmeza en la frutilla ( <i>Fragaria x annanasa</i> ).....	38
<b>Gráfico N°10</b> Resultados de colorimetría en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	39
<b>Gráfico N° 11</b> Resultado de pérdida de peso en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ).....	41
<b>Gráfico N°12</b> Resultados obtenidos de Solidos Solubles en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	42
<b>Gráfico N° 13</b> Resultados obtenidos de pH en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	44
<b>Gráfico N° 14</b> Resultados de acidez titulable de la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	45
<b>Gráfico N°15</b> Resultados obtenidos de Índice de deterioro en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	46
<b>Gráfico N° 16</b> Resultados obtenidos de la firmeza en la frutilla ( <i>Fragaria x annanasa</i> ).....	47
<b>Gráfico N° 17</b> Resultados de colorimetría en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	48
<b>Gráfico N° 18</b> Resultado del porcentaje pérdida de peso en la frutilla ( <i>Fragaria x ananassa</i> ). .....	50

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto inhibitorio del extracto de hojas *Citrus Spp* en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la Frutilla (*Fragaria x ananassa*); el cual se direcciona en extraer compuestos fenólicos de las hojas *Citrus spp.* y aplicarlos en un recubrimiento comestible de aloe vera y almidón de yuca para la conservación de la frutilla, obteniendo como mejores concentraciones los extractos las hojas de toronja 264,83 mg/g seguido de la mandarina con 173,49 mg/g, en cuanto al análisis del efecto inhibitorio los mejores tratamientos en *Botrytis cinerea* se obtuvo en el extracto de toronja al 3% con un halo de 10,56 mm y en *Rhizopus stolonifer* con las hojas de mandarina al 1,5 % con halo de inhibición de 12,78 mm; dichas concentraciones fueron agregadas a los recubrimientos comestibles aplicados en la frutillas. En cuanto a los análisis Físico-Químico, los mejores tratamientos conservados de acuerdo al índice de deterioro fueron A1B1 (Extracto de Toronja 3% + almidón de yuca + *Botrytis cinerea*) , A2B1 (Extracto de Toronja 3% + Aloe vera+ *Botrytis cinerea*) ambos con un ID de 3, y A2B2 (Extracto Mandarina 1,5% + Aloe vera + y *Rhizopus stolonifer*) con un ID de 4 al quinto día de almacenamiento; concluyendo el diseño experimental al noveno día con un ID de 6 (muy grave) en su escala de clasificación, tanto pH , Acidez , color , firmeza y pérdida de peso mantuvieron las características propias de la fruta en recubrimientos comestibles y en microbiología presentaron colonias incontables al quinto día de almacenamiento; concluyendo que el extracto usado como agente antimicrobiano en los recubrimientos comestibles de Aloe vera y Almidón de yuca no disminuyeron el crecimiento de los hongos en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).

### Palabras claves:

Efecto Inhibitorio, Hojas *Citrus*, *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, Recubrimientos Comestibles, Frutilla.

## SUMMARY

The objective of the present investigation was to evaluate the inhibitory effect of Citrus Spp leaf extract in *Botrytis Cinerea* and *Rhizopus Stolonifer* applied in edible coatings for the conservation of the Strawberry (*Fragaria x ananassa*); which is aimed at extracting phenolic compounds from Citrus Spp leaves. and apply them in an edible coating of aloe vera and cassava starch for the conservation of the strawberry, obtaining as better concentrations the extracts of grapefruit leaves 264.83 mg / g followed by mandarin with 173.49 mg / g, as upon analysis of the inhibitory effect the best treatments in *Botrytis Cinerea* were obtained in grapefruit extract 3% with a halo of 10.56 mm and in *Rhizopus Stolonifer* with 1.5% mandarin leaves with halo of inhibition of 12, 78 mm; these concentrations were added to the edible coatings applied in the strawberries. As for the Physical-Chemical analyzes, the best treatments conserved according to the deterioration index were A1B1 (3% Grapefruit Extract + Cassava Starch + *Botrytis Cinerea*), A2B1 (3% Grapefruit Extract + Aloe Vera + *Botrytis Cinerea*) both with an ID of 3, and A2B2 (Mandarin Extract 1.5% + Aloe vera + and *Rhizopus Stolonifer*) with an ID of 4 on the fifth day of storage; concluding the experimental design on the ninth day with an ID of 6 (very serious) in its classification scale, both pH, Acidity, color, firmness and weight loss maintained the characteristics of the fruit in edible coatings and microbiology presented countless colonies on the fifth day of storage; concluding that the extract used as an antimicrobial agent in the edible coatings of Aloe vera and Cassava starch did not diminish the growth of fungi in the strawberry (*Fragaria x ananassa*).

### **Keywords:**

Inhibitory Effect, Citrus Leaves, *Botrytis Cinerea*, *Rhizopus Stolonifer*, Edible Coatings, Strawberry

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN

Los extractos de plantas constituyen una fuente de productos naturales con actividad antifúngica, en la mayor parte de los estudios que se emplean extractos de *Citrus spp.*, han utilizado frutos de estas plantas que poseen altas concentraciones de metabolitos con actividad antimicrobiana, sin embargo, las hojas constituyen una abundante fuente de compuestos fenólicos (Iglesias *et al.* 2017).

Los estudios mencionan que el uso de extractos es una de las alternativas para reducir la presencia de hongos en la etapa de poscosecha. Estos extractos pueden ser una opción viable para sustituir las medidas actuales de control de hongos, basada en las propiedades antifúngicas de los extractos, en su baja o nula toxicidad y en la poca persistencia en el ambiente que estos presentan comparados con los compuestos químicos (Rodríguez *et al.* 2015).

Los compuestos fenólicos son un grupo muy común de metabolitos secundarios presentes en las plantas, estos incluyen a los fenoles simples (Palencia 1999). Las propiedades más representativas de estos compuestos son antioxidantes, antibacterianas, antivirales, antifúngicas, anti carcinogénicas, antitumorales, hepatoprotectoras, e inmunoestimulantes (Braca 2008).

A partir de diversas investigaciones, se ha intensificado el estudio de los compuestos fenólicos presentes en los extractos vegetales para su uso en el control de enfermedades, en el caso de control de hongos fitopatógenos. El guamúchil (*Pithecellobium dulce*) redujo el desarrollo de *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Pestalotia spp.* y *Rhizopus spp.*, en el caso de *Botrytis Cinerea* la inhibición se presentó entre un 50 y 78%, así mismos en extractos crudos de *Allier* y *Capsicum* (Alvarez 2012).

Considerando a la frutilla una fruta muy perecedera debido a su alta tasa de respiración, estas son susceptibles a lesiones mecánicas, desecación y desórdenes fisiológicos durante su almacenamiento (Pavón y Valencia, 2016). Entre las causas de pérdida de calidad de la frutilla se encuentra su sensibilidad al deterioro por hongos, entre los que se encuentran el moho gris (*Botrytis cinerea*) que favorece la infección debido a que es hábil para crecer a temperaturas de almacenamiento muy bajas y la pudrición blanda (*Rhizopus Stolonifer*) los cuales ocasionan importantes pérdidas poscosecha por su rápida colonización (Espinosa y Cadiz, 2006).

El uso de los recubrimientos comestibles es variado, por sus proteínas, polisacáridos y lípidos, que poseen características propias que benefician en los aspectos mencionados antes, además de estos componentes básicos, los recubrimientos pueden contener otros ingredientes como agentes antioxidantes, nutrientes adicionales, compuestos antimicrobianos y otros componentes que incrementan la calidad, integridad mecánica, valor nutricional, inocuidad, funcionabilidad y aceptabilidad del producto (Velasquez *et al.* 2008). La aplicación de recubrimientos comestibles en frutillas constituye un tratamiento alternativo, que crea una atmósfera modificada capaz de reducir los cambios de calidad en estos productos (Pavón y Valencia, 2016).

Entre las investigaciones realizadas de recubrimientos comestibles en la frutilla está el gel mucilaginoso que está formado por agua en una proporción de 99,5% y el otro 0,5% corresponde a materia sólida que contiene una serie de compuestos, como vitaminas hidrosolubles y liposolubles, minerales, enzimas, polisacáridos, compuestos fenólicos y ácidos orgánicos (Restrepo y Aristizábal, 2010). En la actualidad las investigaciones continúan en el uso de recubrimientos comestibles a base de aloe vera y se han hecho estudios en diferentes frutas como cerezas, uvas, fresas, y moras de castilla, entre los trabajos de investigaciones más recientes (Zuñiga 2016).

Los almidones y uso en la fabricación de films y recubrimientos es muy conveniente ya que son polímeros biodegradables, comestibles y sus fuentes son abundantes (yuca, maíz, trigo, papa, arroz, etc.), renovables y de bajo costo. Su funcionalidad es principalmente servir como barrera al O<sub>2</sub> y a los lípidos, como también mejorar la textura (Quilo 2016). Se han evaluado recubrimientos a base de almidón de yuca sobre la maduración de los frutos de papaya, la vida útil del pepino, la vida postcosecha de mango, encontrando un retraso significativo en la maduración, en la pérdida de peso, cambios de color de la piel, la firmeza, sólidos solubles y acidez titulable (Hernández *et al.* 2011).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto inhibitorio del extracto de hojas *Citrus spp.* en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus Stolonifer* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la Frutilla (*Fragaria x ananassa*) para el cual fue necesario cuantificar los compuestos los compuestos fenólicos de hojas *citrus Spp*, analizando posteriormente el efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* de los extractos, seleccionando las mejores concentraciones para cada hongo, aplicando los extractos en recubrimientos comestibles para la conservación de la frutilla (*Fragaria x ananassa*) y analizando parámetros Físico-Químico y Microbiológico.

## **1.1. MARCO TEÓRICO**

### **1.1.1. La frutilla**

Se le ha dado el nombre de frutilla a varias especies de plantas rastreras del género *Fragaria*, vocablo que se relaciona con la fragancia que posee (fraga, en latín), cultivadas por su fruto comestible. Las variedades cultivadas comercialmente son por lo general híbridos, en especial *Fragaria x ananassa* que ha reemplazado casi universalmente por el tamaño de sus frutos, a la especie silvestre *Fragaria vesca* que fue la primera especie de fresa cultivada en el siglo XVII. La fresa pertenece a la familia *rosaceae* considerada como una fruta exótica de gran aroma, por lo que se convierte en un cultivo con grandes ofertas de mercado (Donovan 2013).

En el Ecuador se puede encontrar al cultivo de frutilla agrupado en zonas como Pichincha, específicamente en Yaruquí, Pifo, El Quinche y el valle del noroccidente que comprende las parroquias de Pomasqui, San Antonio de Pichincha y Calacalí. Sin embargo, se ha expandido a otros lugares como Tungurahua, Chimborazo, siendo sus principales mercados destino Quito, Guayaquil, Cuenca y algunas zonas de la costa del país. En estos lugares el cultivo ha mostrado una tendencia de crecimiento del 20% anual desde el 2007 (Aguilar 2018).

### **1.1.2. Contaminación por hongos en la frutilla**

En el cultivo de frutilla existen múltiples hongos patógenos que atacan a la planta de modo que disminuyen la longevidad, el rendimiento y la calidad de la fruta. Entre los patógenos que se puede encontrar en postcosecha, desarrollándose en la fase de almacenamiento, transporte o la comercialización se citan los siguientes: *Botrytis*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Alternaria* (France 2013).

- ***Botrytis cinerea***

*Botrytis cinerea* es el principal problema sanitario de la frutilla, se presenta en cualquier zona de cultivo y el daño se concentra en las flores y frutos, aunque también se pueden afectar las hojas. El principal síntoma se observa en los frutos maduros y corresponde a una pudrición blanda acompañada de una masa de micelio y conidios de color plumizo que le dan el nombre a la enfermedad. Los frutos maduros son muy susceptibles a la pudrición gris y se contaminan fácilmente si existen frutos enfermos alrededor. Además, este hongo puede crecer desde 0 °C, por lo que durante la poscosecha la presencia de un fruto enfermo puede terminar pudriendo todos los frutos adyacentes (Undurraga y Vargas, 2013).

- ***Rhizopus stolonifer***

Es el otro de los patógenos a nivel poscosecha de importancia para los productores de fresa. *Rhizopus stolonifer*, se encuentra clasificado dentro del *Phylum Zygomycota*, es agente causal de la enfermedad conocida también como pudrición blanda y ocasiona grandes pérdidas económicas, puede crecer y desarrollarse a diferentes temperaturas y humedades relativas, temperaturas que van desde los 10 hasta los 33 °C, siendo 25 °C la óptima, se ve seriamente afectado por temperaturas menores a los 5 °C (Pontón *et al*, 2002). Durante la etapa de recolección y transporte de los frutos, pueden sufrir magulladuras o daños mecánicos que pueden propiciar que el patógeno se desarrolle, por lo que frutos maduros y dañados son los más susceptibles a desarrollar la enfermedad (Velázquez *et al*. 2008).

### **1.1.3. Extracto de hojas cítricas**

Los cítricos como la mayoría de las especies vegetales sintetizan metabolitos antimicrobianos que inhiben las infecciones por hongos o bacterias, ya sea como parte de su programa normal de crecimiento y desarrollo, o en respuesta al ataque de agentes externos y otras condiciones de estrés, muchos de estos compuestos han sido

caracterizados químicamente, y su importancia, tanto en la prevención como control de enfermedades fúngicas y bacterianas, ha sido demostrada (Rivera 2007).

Los extractos vegetales debido a sus propiedades antimicrobianas pueden desempeñar un rol fundamental en un sistema ecológico integrado para el control agrícola, o ser parte complementaria de la agricultura convencional, ya que las plantas constituyen una fuente potencial de productos químicos naturales, derivados del metabolismo secundario que puede ser explotada con éxito (Zarrin y Sadeghi-Nejad, 2010)

El género Citrus L. perteneciente a la familia Rutaceae constituye una abundante fuente de metabolitos secundarios, entre los cuales se destacan los compuestos fenólicos, con actividad antifúngica demostrada. Estos compuestos permiten la inhibición de diversas patologías ocasionadas por hongos, ya son sintetizados por la planta como parte de su programa normal de crecimiento y desarrollo, o en respuesta al ataque de agentes externos y otras condiciones de estrés. La actividad antifúngica de estos extractos puede deberse a la presencia en hojas y frutos de compuestos fenólicos y alcaloides cuyo modo de acción se basa en el deterioro de diversos sistemas enzimáticos presentes en hongos, incluyendo aquéllos involucrados en la producción de energía (Iglesias y Aristizábal, 2017).

#### **1.1.4. Recubrimientos comestibles**

Un recubrimiento comestible (RC) se define como la capa delgada formada por materiales comestibles depositada sobre la superficie del alimento con el propósito de extender su vida útil y proporcionarle una efectiva barrera contra los riesgos que generan las condiciones ambientales existentes. Dicho recubrimiento puede estar constituido por materiales poliméricos, como proteínas o polisacáridos en solución hidrocoloide, que actúan como sistema mejorador de las propiedades mecánicas y de barrera. Su aplicación sobre frutos, actúa como sistema protector creando una

atmosfera modificada que retrasa la senescencia en frutas climatéricas y no climatéricas, ayuda a conservar la apariencia, disminuye la transpiración, la pérdida de aromas y mejora la textura (Restrepo y Aristizábal 2010).

#### ▪ **Ventajas de los recubrimientos**

Las películas y recubrimientos deben presentar ciertas exigencias funcionales que permitan controlar o aminorar las causas de alteración de los alimentos a recubrir, algunas de estas ventajas y propiedades son:

- Ser libres de tóxicos y seguros para la salud.
- Deben requerir una tecnología simple para su elaboración.
- Ser protectores de la acción física, química y mecánica.
- Presentan propiedades sensoriales: deben ser transparentes y no ser detectados durante su consumo.
- Mejoran las propiedades mecánicas y preservan la textura.
- Prolongan la vida útil de alimentos a través del control sobre el desarrollo de microorganismos.
- Pueden regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes (Restrepo y Aristizábal 2010).

- **Recubrimiento de Aloe vera**

La sábila (nombre de origen árabe), botánicamente llamada Aloe vera, es una pequeña planta que pertenece a la familia de las liliáceas, se caracteriza por sus hojas grandes y carnudas. El gel de Aloe vera, contiene dos fuentes líquidas principales: un látex amarillento (exudado) y un gel claro (mucilago), este gel de aloe vera es de gran importancia ya que posee diversas propiedades como recubrimiento y es por esto que es usado para dar una mejor apariencia a la fruta, alarga su vida útil y mejora sus características organolépticas (Zuñiga 2016).

- **Recubrimiento de Almidón de yuca**

El almidón es uno de los materiales crudos más comúnmente empleados en la agricultura ya que es económico, fácilmente disponible y relativamente fácil de manipular. La amilosa es el compuesto responsable de la formación de recubrimientos en el almidón y su uso para tal fin se ha extendido en los últimos años. Los recubrimientos elaborados con este material presentan baja permeabilidad al oxígeno trabajaron con recubrimientos de almidón con alto contenido en amilosa para el recubrimiento de fresas (*Fragaria ananassa*) logrando extender la vida útil de las frutas con disminución del proceso de senescencia, mantenimiento de la firmeza y reducción de la pérdida de peso durante el almacenamiento (Rojas *et al.* 2009).

## 1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mayoría de los trabajos investigativos se centran en extractos obtenidos a partir de los frutos, son pocos los estudios sobre las propiedades de otros órganos aéreos de la planta como las hojas. Estas plantas fructifican solo una vez al año, sin embargo, presentan hojas durante todo este tiempo que como parte de las estrategias de cultivo muchas veces son podadas y constituyen un material de desecho sería de gran utilidad la obtención de extractos a partir de las hojas de estas especies ya que contiene compuestos fenólicos, son de poca toxicidad y bajo costo de producción (Iglesias *et al.* 2017).

Los recubrimientos pueden servir como un vehículo para un amplio rango de aditivos, incluyendo compuestos antimicrobianos, con la finalidad de proporcionarles mayores atributos como es el control de microorganismos. Al formular recubrimientos comestibles y adicionar a las formulaciones productos como extractos, se evita el desarrollo de microorganismos y se prolonga la vida de anaquel de los productos agrícolas (García *et al.* 2010). Como en el caso de la frutilla que es fruta perecedera debido a la gran velocidad con la que transcurren sus procesos metabólicos, además que es muy delicada por su constitución fisiológica, susceptible a la pérdida de humedad y al ataque de microorganismos y hongos entre los que se destacan fundamentalmente el hongo *Botrytis cinérea* y *Rhizopus stolonifer* entre otros (Zuñiga 2016).

Los hongos causantes de estas enfermedades se desarrollan en condiciones de alta humedad relativa. Los daños pueden aparecer en cualquier parte de la planta, pero se suelen localizar fundamentalmente en el fruto de éstos, *Botrytis cinérea* y *Rhizopus stolonifer* son los más importantes en postcosecha. La sensibilidad a daño físico y pudriciones se acentúa por las altas temperaturas que prevalecen en el campo durante la espera para el transporte de la fruta hacia su destino de comercialización o en el mercado durante su venta (Fraire *et al.* 2002).

La frutilla es un cultivo de alto valor económico, nutricional y medicinal. Sin embargo, es altamente susceptible al ataque de patógenos, por lo cual, uno de los principales retos en el desarrollo del cultivo e incluso en la postcosecha de la fruta, es el manejo de las enfermedades que, en su gran mayoría, son de carácter fungoso; seguidas por algunos problemas bacterianos, de nematodos y muy pocos ocasionados por virus (Cano *et al.* 2014).

En la actualidad se han creado nuevas tecnologías que permiten alargar la vida de anaquel de las frutas disminuyendo la flora microbiana causantes de pérdidas pre y poscosecha (Zuñiga 2016). En esta investigación se busca reducir la carga microbiana en la frutilla (*Fragaria x ananassa.*) y consecuentemente aumentar el tiempo de conservación, mediante la aplicación de un recubrimiento comestible, con extractos de hojas de limón (*Citrus x limonia*), naranja (*Citrus x sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata, variedad Común*), toronja (*Citrus paradisi*).

### 1.3. JUSTIFICACION

La frutilla es uno de los frutos altamente apreciados y comercializados en el mundo por su sabor y por su riqueza en vitaminas y minerales a pesar de que es una fruta de rápido deterioro; además es un producto que tiene una amplia posibilidad de utilización industrial en la obtención de diferentes productos como mermeladas, purés, concentrados. Las frutillas deben cosecharse cuando el 75 por ciento de su superficie se ha puesto roja y el fruto está todavía firme. (Borja 2010). Estudios recientes han evidenciado que el consumo de frutos de color rojo reduce el riesgo a padecer enfermedades degenerativas de acuerdo con (Vélez 2015)

Una de las principales enfermedades que ataca a la frutilla, tanto a la planta en campo como a los frutos cosechados, son los hongos *Botrytis cinérea* y *Rhizopus stolonifer*, la cual son capaz de afectar cualquier tejido de la planta y en el fruto en cualquier estado de desarrollo, *Botrytis cinerea*. causa la enfermedad conocida como podredumbre gris, que se presenta inicialmente con una mancha marrón o amarillenta y después de pocos días se cubre de un moho gris y *Rhizopus stolonifer* causando la pudrición blanda sobre la misma.

Es por esto que en los últimos años se han estado buscando opciones que contrarresten dichos efectos, para reducir la presencia de hongos con el uso de extractos obtenidos a partir de las partes anatómicas de las plantas, los mismos que pueden ser una opción para reducir las cargas microbianas ya que estas contienen propiedades antifúngicas de tales extractos en su baja o nula toxicidad que estos presentan, comparados con los compuestos químicos.

Hoy en día en diferentes investigaciones se ha iniciado el estudio de extractos obtenidos de varias partes de la planta entre ellas las hojas del genero *Citrus spp* ya que se ha demostrado que contienen un alto grado de compuestos fenólicos.

Una de las tecnologías utilizadas para la preservación de estos frutos es la aplicación de recubrimientos comestibles (RC). Los RC disminuyen la tasa de respiración, retrasan la pérdida de peso por deshidratación, prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación, causado por microorganismos. (Caudillo 2016)

Debido a que la frutilla es una fruta muy perecedera que generalmente se deteriora entre 3 y 5 días en esta investigación se busca extraer los compuestos fenólicos de las hojas *Citrus spp*, analizar su poder inhibitorio y elegir los mejores tratamientos para así aplicarlos en recubrimientos comestibles, buscando reducir el deterioro producido por microorganismos y la pérdida de las propiedades físico-químicas, el cual nos incentivó a buscar una alternativa para alargar el estado de conservación de la fruta.

## 1.4. HIPÓTESIS

Los extractos de hojas *Citrus spp* tendrán efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la frutilla (*Fragaria x ananassa*).

## 1.5. OBJETIVOS

### 1.5.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto inhibitorio del extracto de hojas *Citrus spp* en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* aplicados en recubrimientos comestibles para la conservación de la Frutilla (*Fragaria x ananassa*).

### 1.5.2. Objetivos Específicos

1. Cuantificar los compuestos fenólicos de hojas *Citrus Spp* de: Limón (*Citrus × limonia*), Naranja (*Citrus × sinensis*), Mandarina (*Citrus reticulata, variedad Común*) y Toronja (*Citrus paradisi*).
2. Determinar el efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* de los extractos de las hojas *Citrus spp*.
3. Seleccionar la mejor concentración con efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* y aplicarlos en recubrimientos comestibles para la conservación de la frutilla (*Fragaria x ananassa*).
4. Analizar los cambios Físicos-Químicos y microbiológico para la conservación de la frutilla (*Fragaria x ananassa*) en recubrimientos comestibles durante 9 días.

## **CAPITULO II METODOLOGIA**

### **2.1 UBICACIÓN DE LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN.**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de la Facultad Ciencias Agropecuaria de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, la cual se encuentra ubicado en la ciudad de Manta en la vía a San Mateo.

### **2.2 VARIABLES EN ESTUDIO**

#### **2.2.1 VARIABLES PARA EVALUAR EL EFECTO INHIBITORIO**

- **VARIABLES INDEPENDIENTES**

- A. EXTRACTOS DE HOJAS *CITRUS SPP***

- A1 Limón (*Citrus × limonia*),

- A2 Naranja (*Citrus × sinensis*)

- A3 Mandarina (*Citrus reticulata*, variedad Común)

- A4 Toronja (*Citrus paradisi*)

- B. CONCENTRACIONES**

- B<sub>1</sub> 0.5 %

- B<sub>2</sub> 1.5 %

- B<sub>3</sub> 3.0 %

- C. TIPOS DE HONGOS**

- C<sub>1</sub> *Botrytis cinerea*

- C<sub>2</sub> *Rhizopus stolonifer*

- **VARIABLES DEPENDIENTE**

-Efecto inhibitorio de los extractos en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*

## **2.2.2 VARIABLES APLICADAS EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

- **VARIABLES INDEPENDIENTES**

### **A. TIPOS DE RECUBRIMIENTOS**

A1 Almidón de Yuca

A2 Aloe Vera

### **B. CONCENTRACIONES DEL EXTRATO CON MEJOR EFECTO INHIBITORIO DE LAS HOJAS CITRUS SPP.**

Los mejores tratamientos escogidos del efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* son los siguientes:

B<sub>1</sub> Extracto de hoja de toronja al 3 % - *Botrytis cinerea*

B<sub>2</sub> Extracto de hoja de mandarina al 1,5 % - *Rhizopus stolonifer*

- **VARIABLES DEPENDIENTE**

- Sólidos solubles
- pH
- Acidez
- Índice de deterioro
- Firmeza
- Colorimetría
- Pérdida de Peso
- Crecimiento de hongos

## 2.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

### 2.3.1. Tipo de diseño

Para este estudio se utilizó dos diseños experimentales completamente al azar con un arreglo trifactorial y bifactorial respectivamente.

### 2.3.2. Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico se utilizó el programa Infostat 2016 y para los tratamientos se utilizó un análisis de varianza ADEVA con una prueba de significancia Tukey al 0,05 %. Todos los datos fueron analizados por triplicado.

**Tabla N°1** Esquema de análisis de varianza (ANOVA) del primer diseño experimental para evaluar el efecto inhibitorio

Fuente de variación		G.L
Total	$(t*r-1)$	71
Tratamientos	$(t-1)$	23
Repetición	$r-1$	2
Factor A		3
Factor B		2
Factor C		1
Internación (AxB)		6
Internación (BxC)		2
Internación (AxC)		3
Interacción (AxBxC)		6
Control	$C-1$	1
Error experimental	$(t-1)(r-1)$	46

**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

**Tabla N°2** Esquema de análisis de varianza (ANOVA) del segundo diseño experimental para aplicar recubrimientos comestibles

Fuente de variación		G.L
Total	(t*r-1)	29
Tratamientos	(t-1)	3
Repetición	r-1	2
Factor A		1
Factor B		1
Interacción (AxB)		1
Control	C-5	5
Error experimental	(t-1) (r-1)	20

Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

### 2.3.3 Tratamientos

En la **tabla N° 3** se muestra los 24 tratamientos del primer diseño experimental, con las combinaciones de los factores de estudio tales como; A: Extracto de hojas *citrus spp* B: Concentraciones y C: Tipos de hongos.

**Tabla N° 3.** Tratamientos de estudio del Diseño Experimental 1

N°	Tratamientos	Extractos de hojas <i>Citrus spp</i>	Concentraciones	Tipo de hongo
1	A1B1C1	Limón	0,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
2	A1B2C1	Limón	1,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
3	A1B3C1	Limón	3.0 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
4	A1B1C2	Limón	0,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
5	A1B2C2	Limón	1,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
6	A1B3C2	Limón	3.0 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
7	A2B1C1	Naranja	0,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
8	A2B2C1	Naranja	1,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>

9	A2B3C1	Naranja	3.0 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
10	A2B1C2	Naranja	0,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
11	A2B2C2	Naranja	1,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
12	A2B2C2	Naranja	3.0 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
13	A3B1C1	Mandarina	0,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
14	A3B2C1	Mandarina	1,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
15	A3B3C1	Mandarina	3.0 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
16	A3B1C2	Mandarina	0,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
17	A3B2C2	Mandarina	1,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
18	A3B3C2	Mandarina	3.0 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
19	A4B1C1	Toronja	0,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
20	A4B2C1	Toronja	1,5 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
21	A4B3C1	Toronja	3.0 %	<i>Botrytis Cinerea</i>
22	A4B1C2	Toronja	0,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
23	A4B2C2	Toronja	1,5 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
24	A4B3C2	Toronja	3.0 %	<i>Rhizopus Stolonifer</i>
25	Control 1	Efecto Inhibitorio sin concentración, con agua destilada para <i>Botrytis Cinerea</i>		
26	Control 2	Efecto Inhibitorio sin concentración, con agua destilada para <i>Rhizopus Stolonifer</i>		

**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

La **tabla N°4** muestra los tratamientos del diseño experimental N°2, que se realizó con el mejor tratamiento del efecto de Inhibición en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* realizado en el primer diseño experimental, combinando los factores de estudio tales como: A Tipo de recubrimiento y B Concentraciones de los extractos con mejor efecto inhibitorio.

**Tabla N° 4.** Tratamientos de estudio del Diseño Experimental 2  
**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

N°	Tratamientos	Tipo De Recubrimiento	Mejores Concentraciones
1	A1B1	Almidón de yuca	B1 3% hoja de toronja en <i>Botrytis Cinerea</i>
2	A1B2	Almidón de yuca	B2 1,5 % en hoja de mandarina en <i>Rhizopus Stolonifer</i>
3	A2B1	Aloe Vera	B1 3% hoja de toronja <i>Botrytis Cinerea</i>
4	A2B2	Aloe Vera	B2 1,5 % en hoja de mandarina <i>Rhizopus Stolonifer</i>
5	Control 1	Frutillas sin extracto utilizando el recubrimiento Almidón de yuca para <i>Botrytis Cinerea</i>	
6	Control 2	Frutillas sin extracto utilizando el recubrimiento Aloe vera para <i>Botrytis Cinerea</i>	
7	Control 3	Frutillas sin extracto utilizando el recubrimiento Almidón de yuca para <i>Rhizopus Stolonifer</i>	
8	Control 4	Frutillas sin extracto utilizando el recubrimiento Aloe vera para <i>Rhizopus Stolonifer</i>	
9	Control 5	Frutilla sin tratamiento alguno inoculadas con <i>Botrytis Cinerea</i>	
10	Control 6	Frutilla sin tratamiento alguno inoculadas con <i>Rhizopus Stolonifer</i>	

## 2.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

### 2.4.1. CUANTIFICACION DE HOJAS CITRUS SPP Y EFECTO INHIBITORIO

- **OBTENCION DE LAS HOJAS *Citrus spp***

Las hojas *Citrus spp* de, Limón (*Citrus × limonia*), Naranja (*Citrus × sinensis*) mandarina (*Citrus reticulata, variedad Común*) y toronja (*Citrus paradisi*), se las adquirió de la “Finca Jehová Jireh”, Recinto San Francisco Km 33 vía Quevedo Parroquia Luz de América, Santo Domingo de los Tsáchilas.

- **OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE HOJAS DE *Citrus spp.***

Se realizó según el método descrito por Iglesias *et al.* (2017). El material recolectado se lavó con agua destilada estéril y se secó en una estufa a 60 °C durante 72 h. Posteriormente, se trituró en un molino de cinco pulgadas.

Se pesó 5 g de hojas pulverizadas y se adicionó 50 ml de etanol 95% en un Erlenmeyer de 75 ml colocando una bala, para inmediatamente llevarlo a una plancha agitadora a 125 rpm por 24 horas (Vivanco *et al.* 2017). Una vez transcurrido las 24 horas se lo retiro de la plancha y se centrifugó la muestra en 4 tubos de ensayos a 4,000 rpm por 10 minutos. Luego se filtró en una bomba al vacío con un papel filtro, reteniendo la mayor cantidad de sólidos obteniendo los compuestos fenólicos (Vivanco *et al.* 2017).

- **CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS**

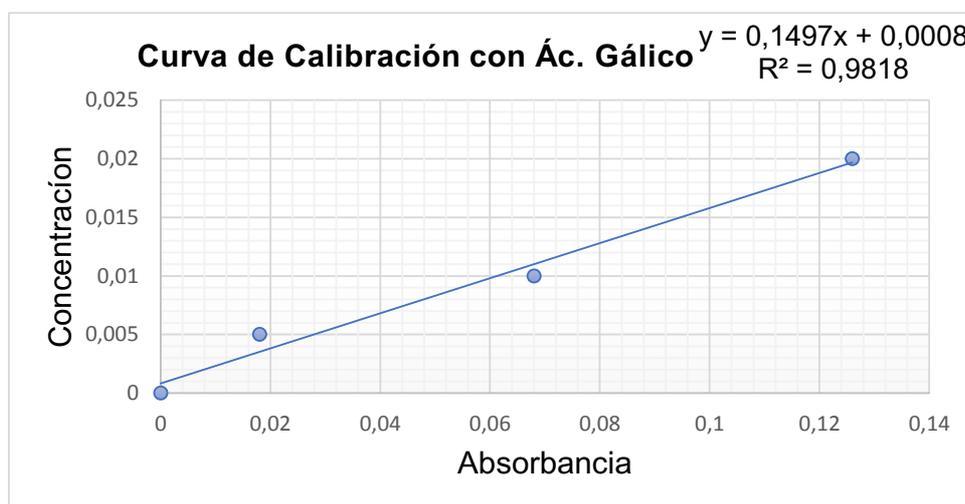
Para la cuantificación del contenido de los Fenoles Totales se lo realizó por el método de Folin-Ciocalteu propuesto por Slinkard y Singleton (1977). De la solución madre se agarró (0,2 ml) y se mezcló con 1 ml de reactivo Folin-Ciocalteu el cual se dejó reposar por 5 minutos, después se tomó 2 ml de solución de carbonato de sodio (5%) añadiendo a la mezcla y se diluyó a en un matraz aforado de 10 ml con agua destilada. La solución se dejó reposar en la oscuridad durante 1 hora. Transcurrido este tiempo se procedió a realizar lectura de absorbancia de la solución resultante a 760 nm. en un espectrofotómetro (ThermoSpectronic, USA). La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se lo realizó mediante una curva de calibración con ácido gálico como estándar.

**Tabla N° 5** Absorbancia de los extractos de hojas Citrus spp

Absorbancia	Concentración (mg GAE/ml)
0	<b>0</b>
0,018	0,005
0,068	0,01
0,126	0,02

Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

**Gráfico N° 1:** Curva de calibración con ácido gálico.



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

#### ▪ DILUCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

En un matraz aforado de 100ml, se agrega las siguientes proporciones (0,5 ml, 1.5 ml, 3 ml) de compuestos fenólicos para luego agregarle agua destilada agitando constantemente hasta obtener una muestra homogénea (Santacruz y Castro, 2018).

- **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (METODO DE DIFUSIÓN DE DISCOS EN AGAR).**

Se inoculó *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en cajas Petri que contienen agar Sabouraud dextrosa. Para evaluar la actividad microbiana a los extractos de hojas *Citrus spp* se utilizó concentraciones de 0.5% ,1.5 % y 3 %. De igual manera se empleó un control negativo de agua destilada.

Como análisis de control antimicrobiano se empleó el método de difusión en agar según la técnica estandarizada por Clinical Laboratory Estand Ards (CLSI,2009). Se deposita aproximadamente 20 µL del agente en estudio en disco del papel filtro (Fisher Acientífico Q2) de 5 mm de diámetro posteriormente estos discos se colocaron en placas que contienen el medio inoculado con *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* a analizar. Las placas se incubaron a una temperatura de  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ . respectivamente por 24 horas. Al final de ello, se midió los halos de inhibición del crecimiento fúngico. En todos los casos la evaluación se realizó por triplicado.

#### **2.4.2 APLICACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS CITRUS SPP EN RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES PARA CONSERVACION DE LA FRUTILLA (*Fragaria x Ananassa*)**

- **OBTENCIÓN DE LA FRUTILLA**

Se utilizaron frutillas (*Fragaria x ananassa*) adquiridas en el mercado mayorista de los esteros de la ciudad de Manta. Se le realizaron análisis de base tales como pH, acidez, sólidos solubles y la clasificación de la uniformidad en su grado de madurez a escala 4 (**Anexo 1**), por cada tratamiento, además se aseguró que no haya evidencias de daños por microorganismos y/o daños mecánicos. Se transportaron al laboratorio, se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio a 1% y se realizó un lavado con agua destilada estéril y por último se almacenaron en condiciones de refrigeración a  $5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (Restrepo y Aristizábal, 2010).

- **ELABORACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

- **Recubrimiento comestible a base de almidón de yuca**

Para obtener 100g de recubrimiento comestible se dispersaron 5g de almidón de yuca en 47g de agua destilada estéril con agitación constante. Esta mezcla se llevó a una temperatura de 90°C, obteniendo un gel de almidón de yuca. En otro recipiente, se mezcló 1,5g de glicerina con 5g de extractos de las hojas *Citrus spp* más 41,5g de agua destilada, esta mezcla se le añadió gota a gota al gel de almidón ya formado. Siguiendo la metodología con modificaciones descrita por (Quilo 2016).

- **Recubrimiento comestible a base de aloe vera**

Las hojas libres de abolladuras y cicatrices se lavaron y desinfectaron en solución de hipoclorito de sodio a 50 ppm, posteriormente se pelaron para retirar mecánicamente el gel mucilaginoso, el cual se enjuago con abundante agua potable (Restrepo y Aristizába, 2010). Se usó aloe vera al 100%. luego se incluyó la adición de 5g de los extractos de las hojas *citrus spp* (Quilo 2016).

- **INOCULACIÓN DE LAS FRUTILLAS**

Para la inoculación de los hongos, se deben nutrir los microorganismos previamente en agua peptonada y se lo diluyo  $10^4$  para *Botrytis cinerea*. Y  $10^5$  para *Rhizopus stolonifer*. las frutillas fueron sumergidas en la solución de hongos. (Camacho y Nieto, 2017).

- **APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES**

Las frutillas se sumergieron en los respectivos recubrimientos durante 30s. Posteriormente, se realizó un secado de la frutilla recubiertas a temperatura ambiente (25°C) durante 30 minutos (frutilla tratamiento). Como frutilla control se lavaron, desinfectaron y luego se agregó el recubrimiento sin el extracto se secaron en las

mismas condiciones. Después de esta etapa de recubrimiento, las frutillas control y tratamiento una vez secas se almacenaron hasta 15 días en refrigeración en envases de PET perforados (Restrepo y Aristizábal, 2010).

### **2.4.3. ANALISIS FÍSICO-QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICOS EN LA FRUTILLA (*fragaria x ananassa*).**

En la presente investigación se planteó analizar las frutillas inoculadas con *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* durante los días 1, 3, 5,7, 9, 11, 13, 15 para los análisis físico-químicos y los días, 5, 10 y 15 para el análisis microbiológico.

- **Determinación sólidos solubles:**

Se realizó acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Method Solids - Association of Official Analytical Chemists. Se determinó refractométrico digital, utilizando 0,10 µ de zumo de frutilla, expresándose en °Brix. Todas las muestras fueron realizadas por triplicado (AOAC 1980).

- **Determinación de pH**

La medición del pH se realizó de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Methods of Analysis - Association of Official Analytical Chemists. Se realizó por medio de un pH metro, como muestra se empleó 10 g. de pulpa de frutilla, esta fue triturada y homogenizada con 10 ml de agua destilada, posteriormente se filtró y colocó en un vaso de precipitación de 100 ml. en el que se introdujeron los electrodos del potenciómetro obteniendo resultados directos. Todas las muestras fueron realizadas por triplicado (AOAC,1975).

- **Determinación acidez**

La medición de acidez titulable se realizó de acuerdo a la metodología descrita por la Norma Oficial Methods of Analysis - Association of Official Analytical Chemists.

(AOAC 1984). Este parámetro se determinó por método de titulación y se expresó como porcentaje de ácido cítrico. Para ello se usó el jugo de frutilla que se utilizó para la determinación de pH al cual luego de añadirle 3 gotas de fenolftaleína se tituló con una solución de NaOH 0.1 N. hasta lograr el cambio de color de la muestra

- **Textura instrumental**

Para la medición de la firmeza se utilizó el método propuesto por Castro *et al.*(2015) Los resultados se expresaron como la fuerza máxima (N) necesaria para penetrar en la pulpa del fruto. Todas las muestras fueron realizadas por triplicado.

- **Colorimetría**

El color de la superficie de la frutilla se midió utilizando un colorímetro Marca Konica Minolta, Modelo: CR - 400, escala (L\*, a\*, b\*), D65 como fuente luminosa y 10° ángulo de observación, las mediciones de color se expresan en términos de luminosidad L\* (L\* = 0 para el negro y L\* = 100 para el blanco), y los parámetros de cromaticidad a\* (verde [-], rojo [+]) y b\* (azul[-], amarillo [+]). Las mediciones se las realizaron por triplicado de acuerdo a Dussán *et al.* (2014).

- **Índice de deterioro**

Se consideró evaluar individualmente en los días 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 de almacenamiento para detectar signos de deterioro, utilizando una escala de clasificación de 6 puntos, donde 1 corresponderá a ninguna presencia de deterioro, 2 = presencia, 3 = ligeramente, 4 = moderada, 5 = grave, y 6 = muy grave. Los resultados se expresaron como el índice de deterioro (ID), usando la fórmula  $ID = \frac{(1n + 2n + 3n + 4n + 5n + 6n + 7n)}{N-1}$ , donde n es el número de muestras clasificadas en cualquier nivel de la escala hedónica y N es el total número de muestras analizadas, para cada

día de muestreo utilizando la metodología propuesta por González *et al.* (2008). Todas las muestras fueron realizadas por triplicado.

- **Pérdida de peso**

Para determinar la pérdida de peso se aplicó el método propuesto por González *et al.*(2008). donde se registró el peso inicial en el día uno y a lo largo del almacenamiento, se utilizó una balanza digital (Sartorius TE6101, Germany). Los resultados fueron expresados en porcentaje de pérdida de peso con respecto al peso inicial, calculado con la siguiente formula. Todas las muestras fueron realizadas por triplicado.

$$PP = \frac{Pi - Pf}{Pi} \times 10$$

Donde:

**%PP**= porcentaje de pérdida de peso

**Pi**= peso inicial

**Pf**= peso final

- **Determinación de presencia /ausencia de *Botrythis cinerea*, *Rhizopus stolonifer***

El análisis para determinar la presencia/ausencia de *Botrythis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* se realizó de acuerdo con la metodología descrita por la Norma Técnica Ecuatoriana 1529-2013. Todas las muestras fueron analizadas por triplicado.

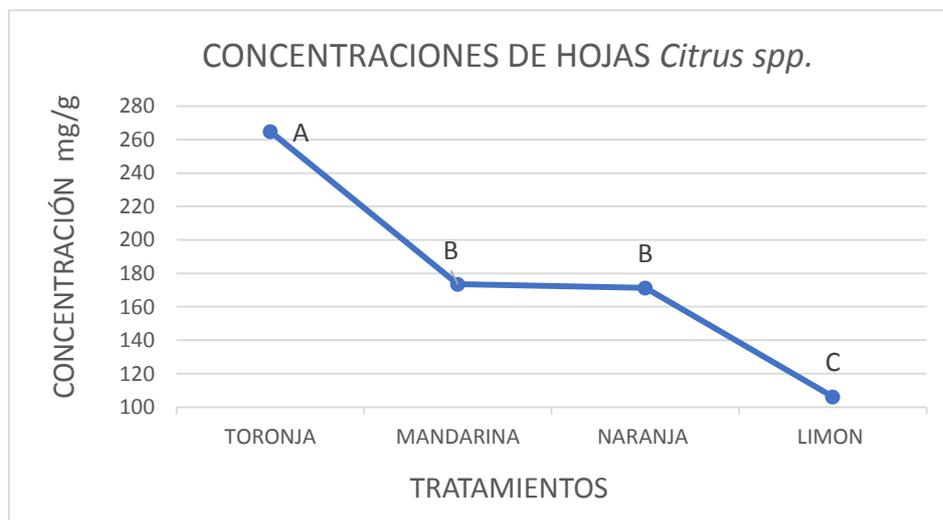
## CAPITULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS EN HOJAS *Citrus spp.*

Dentro de la presente investigación el primer proceso a realizar fue la extracción los compuestos fenólicos de las hojas *Citrus spp* en el cual al medir la absorbancia se obtuvo como resultado en la toronja 0.139 Abs, en la mandarina 0.102 Abs, naranja 0.097 Abs y limón 0.055 Abs, estando dentro de los parámetros establecidos en la curva de calibración de ácido gálico ( **Gráfico N°1**) obteniendo las concentraciones de los extractos de las hojas donde la toronja obtuvo 264,83 mg/g seguido de la mandarina con 173,49 mg/g , naranja 171,30 y limón 106,11 mg/.

**Gráfico N°2.** Resultados de las concentraciones de los extractos en hojas *Citrus spp*



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

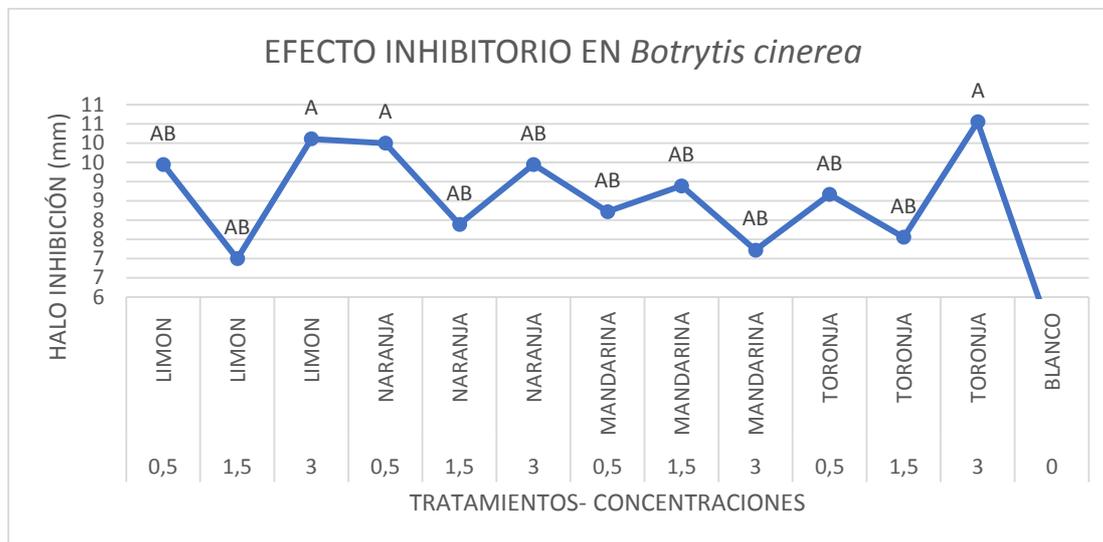
En la extracción de compuestos fenólicos en hojas *Citrus spp* Limón (*Citrus × limonia*), Naranja (*Citrus × sinensis*), Mandarina (*Citrus reticulata, variedad Común*), Toronja (*Citrus paradisi*), se obtuvo diferentes concentraciones mostrando diferencias significativas; en donde la toronja con 264,83 mg/g fue la más alta seguido de la mandarina con 173,49 mg/g, naranja 171,30 mg/g y según lo reportado por otros autores contempla resultados superiores a los obtenidos en el estudio de las cáscaras de mandarina y toronja, donde obtuvieron  $179 \pm 10,5$  y  $155 \pm 10,3$  mg / 100g respectivamente (Gorinstein *et al.* 2001). En otra investigación se presenta resultados menores en cáscara de limón *Eureka* con  $21,17 \pm 0,64$  mg AGE/ g (Sun *et al.* 2013), obteniendo también resultados superiores en nuestra investigación, ya que las hojas de limón fueron de menor concentración con 106,11 mg/g confirmando que las hojas *Citrus spp* contienen alto contenido de compuestos fenólicos.

### **3.2. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA (METODO DE DIFUSIÓN DE DISCOS EN AGAR)**

#### **3.2.1. Efecto Inhibitorio de los extractos de las hojas *Citrus spp* en *Botrytis cinerea*.**

En el **Gráfico N°3** se muestran los resultados obtenidos en cuanto al efecto inhibitorio en los extractos de hojas *Citrus spp* en *Botrytis cinerea* mediante el método de difusión de discos en agar, en 24 horas a 25°C en la cuales se observa que hay diferencias significativas, los tratamientos que tuvieron mayor resultado a diferentes concentraciones de 0,5%, 1,5% y 3% fueron A1B3C1 (limón 3%) con 10,11 mm, A2B1C1(Naranja 0.5%) 10,00 mm y con mejor halo de inhibición fue el tratamiento A4B3C1 (Toronja 3%) con 10,56 mm

**Gráfico N°3** Resultados del efecto inhibitorio de las concentraciones de los extractos de hojas *Citrus spp.* en *Botrytis Cinerea*



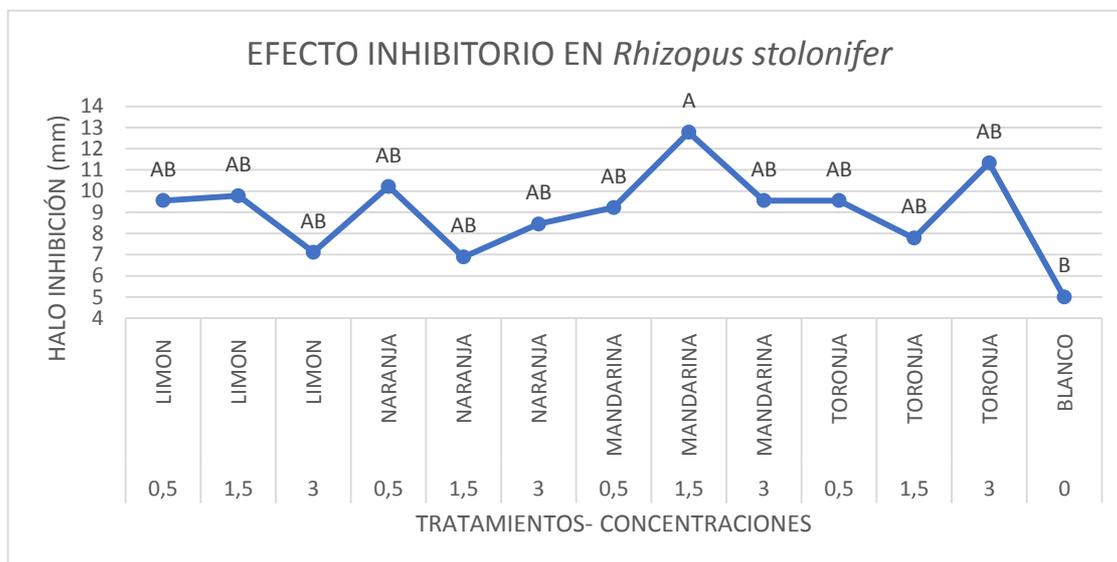
Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

El mejor tratamiento de inhibición frente al *Botrytis cinerea* en extracto de hojas *Citrus spp* es A4B3C1 (Toronja 3%) con un halo de 10,56 mm. A diferencia de los autores Camacho y Nieto (2017). donde evaluaron la capacidad antifúngica del extracto de champa sobre *Botrytis Cinerea* en las cuales reportaron valores de inhibición mayores de (32,7 mm) y en *Rhizopus Stolonifer* (20,3 mm) respectivamente contemplándose valores menores de inhibición en la presente investigación en relación a otros autores.

### 3.2.2. Efecto Inhibitorio de los extractos *Citrus Spp.* en *Rhizopus stolonifer*

En el **Gráfico N°4** se muestran los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión de discos en agar en los extractos de hojas cítricas en *Rhizopus stolonifer* en la cual el tratamiento con mejor halo de inhibición a diferentes concentraciones de 0,5%, 1,5% y 3% fue A3B2C2 (Mandarina 1,5 %) con 12,78 mm, los demás tratamientos no presentan diferencia significativa.

**Gráfico N°4** Resultados del efecto inhibitorio de las concentraciones de los extractos de hojas *Citrus Spp.* en *Rhizopus stolonifer*



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

En los resultados del efecto inhibitorio de los extractos de hojas (*Citrus × limonia*), (*Citrus x sinensis*), (*Citrus reticulata, variedad Común*), (*Citrus paradisi*). frente al *Rhizopus stolonifer* en todos sus tratamientos se obtuvo inhibición en donde el mejor tratamiento de esta investigación es A3B2C2 (Mandarina 1,5 %), estos resultados coinciden con los autores Rodríguez *et al.* (2017) donde evaluaron Actividad antimicrobiana de cáscaras y semillas de *Citrus limonia* y *Citrus sinensis* en hongos fitopatógenos entre ellos *Rhizopus oryzae* en donde reportaron inhibición de los extractos mencionados.

#### **Selección de los mejores tratamientos del primer diseño experimental.**

Se seleccionaron los tratamientos A4B3C1 (Toronja 3%) en *Botrytis Cinerea* y A3B2C2 (Mandarina 1,5 %) en *Rhizopus Stolonifer* para aplicarlos en los recubrimientos comestibles en la frutilla.

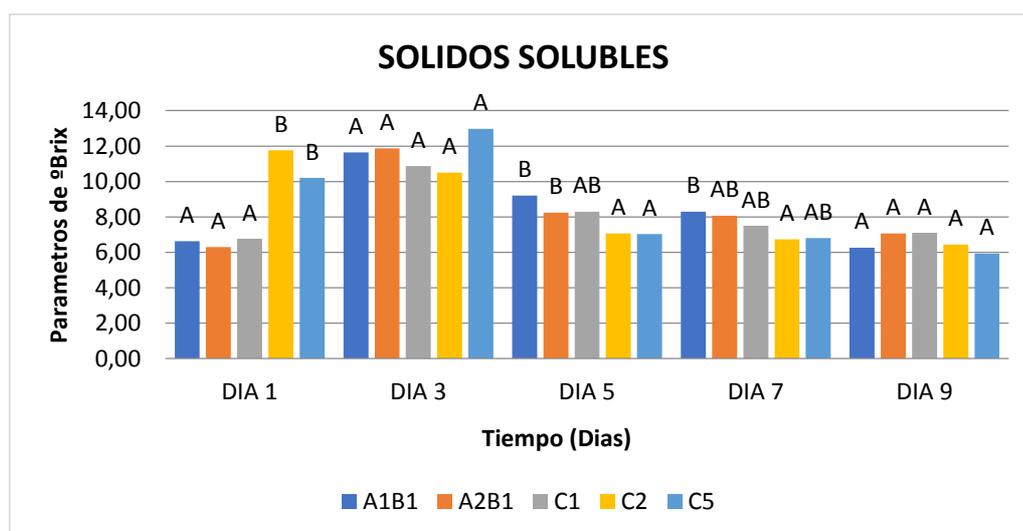
### 3.3 RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA FRUTILLA CON RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.

#### 3.3.1. FRUTILLAS INOCULADAS CON *Botrytis cinerea*

- **Resultados de sólidos solubles.**

En el **gráfico N°5** Se observa los resultados obtenidos de los sólidos solubles donde se muestran diferencias significativas entre tratamientos y controles, en el día 1 presenta un valor inicial en el tratamiento A1B1 (Almidón de yuca con el extracto Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) con 6,63 °Brix y el control 2 (Sin extracto + aloe vera + *Botrytis cinerea*) con 11,77 °Brix y en el día 7 en el tratamiento A1B1 (Almidón de yuca con el extracto Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) con 8,30 ° Brix y el control 2 con 6,73 °Brix. En cuanto al día 3 no presentan diferencias significativas sin embargo se puede observar un aumento de °Brix en el control 5 (Solo inoculada con *Botrytis cinerea*) con 12,97 °Brix a diferencia de los días 5, 9 donde se muestra un descenso de °Brix.

**Gráfico N°5** Resultados obtenidos de solidos solubles en la frutilla (*Fragaria x ananassa*)



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

Los resultados de la presente investigación mostraron significancia en el día 1 entre tratamientos y controles en donde se observa una disminución de °Brix en los tratamientos en comparación a los controles, según Martínez *et al.* 2002 menciona que la fresas con recubrimientos tienen una tasa de respiración más baja, lo que permite que la frutilla disminuya su maduración debido a la aplicación del recubrimiento.

Sin embargo, en el día 3 en el cual no hay diferencia significativa se puede observar que existe un aumento de °Brix en los controles, esto se debe según Álvarez *et al.* (2013) que ocurren cambios fisiológicos en los frutos con la liberación o secreción de nutrientes, como consecuencia el fruto madura rápidamente y aumenta el contenido de sólidos solubles.

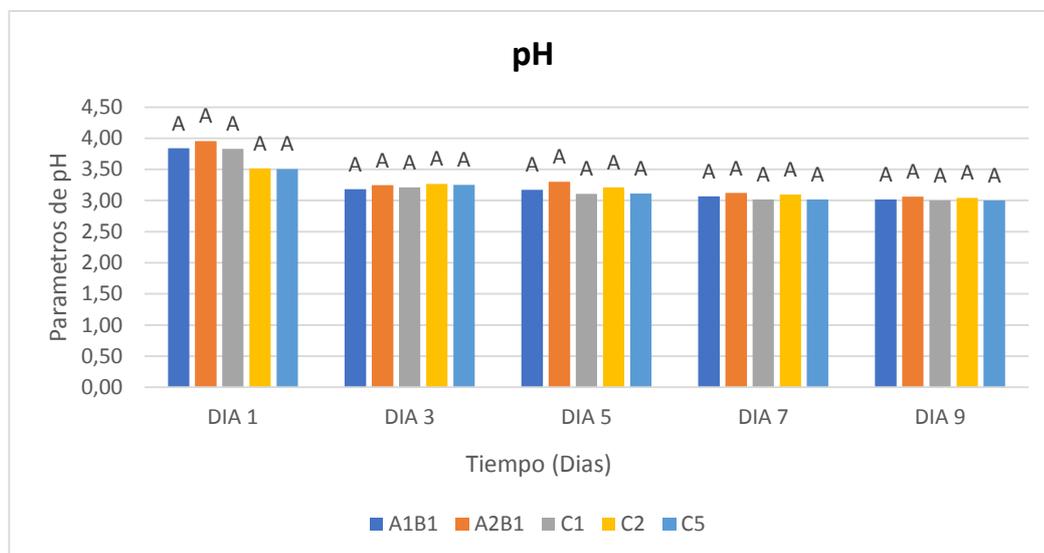
En comparación de los días 5, 7 y 9 donde los grados °Brix se mantienen estos resultados concuerdan con lo expuesto por Ruiz (2015) en donde se avaluó propiedades fisicoquímicas y aplicación de recubrimientos comestibles en la conservación de fresa (*Fragaria x Ananassa*).

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

- **Resultados de pH**

En el **gráfico N°6** se refleja que en los valores obtenidos del pH no mostró diferencias significativas entre tratamientos ni en controles sin embargo entre el día 1 y el día 3 existe una leve disminución, y a partir del día 3 el pH se mantiene. El pH que más varió fue en el tratamiento A2B1 (Aloe vera con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) el cual empezó con un pH de 3,96 y disminuyó hasta 3,06.

**Gráfico N° 6** Resultados obtenidos de pH en la frutilla (*Fragaria x ananassa*)



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

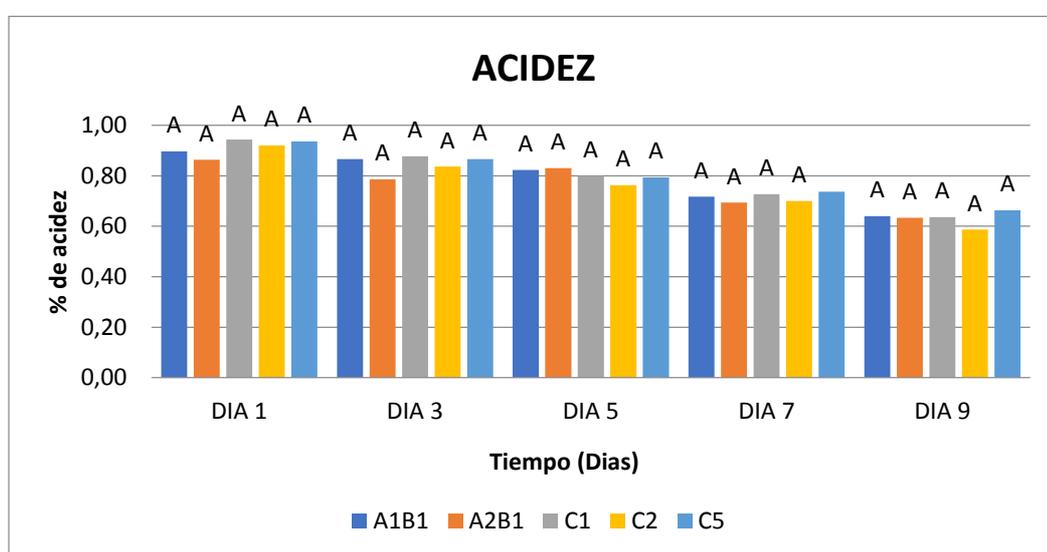
El pH inicial en la recepción de las frutillas fue de 3,46 durante el presente estudio, mostrando una leve disminución de pH en las frutillas y consecuentemente no se mostraron diferencias significativas ni en tratamiento ni en controles. Esta leve disminución de los valores de pH de las frutillas recubiertas se puede atribuir al efecto barrera del recubrimiento comestible, el cual se caracteriza por disminuir el metabolismo activo de la fruta, retardando así la maduración al disminuir la tasa de respiración celular de los tejidos vegetales limitando la degradación de los ácidos orgánicos (González et al. 2010). Estos resultados concuerdan con el autor Quilo (2016) en donde estudios realizados con fresas almacenadas resaltan que la variación del pH puede considerarse mínimas.

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

- **Resultados de Acidez**

En el **gráfico N° 7** se reflejan los resultados de acidez titulable en la frutilla en los tiempos de estudio (1, 3, 5, 7 y 9) en las cuales no existe diferencia significativa, sin embargo, existe una leve disminución, el que más pierde acidez es el control 2 (Sin extracto + aloe vera + *Botrytis cinerea*) que empieza con 0,92% y culmina con 0,59%.

**Gráfico N°7** Resultados de acidez titulable de la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

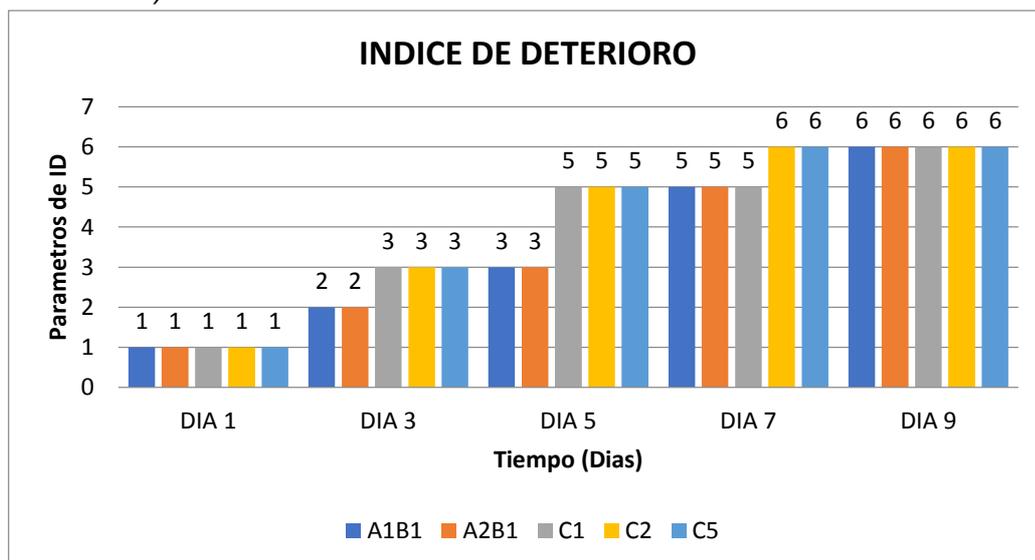
En cuanto a la acidez no hubo diferencia significativa ni en controles ni tratamientos a lo largo del almacenamiento, la acidez fue disminuyendo con el tiempo debido al cambio en el contenido de ácidos orgánicos en las frutillas durante el almacenamiento, estos resultados se asemeja a el autor Han (2004) y Ayranci y Tunc, (2004) en donde observaron una conservación de acidez titulable en albaricoques, fresas y frambuesas a las cuales se les aplicó recubrimientos a base de quitosano, metilcelulosa y polietilenglicol.

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

- **Resultados de índice de deterioro**

En el **grafico N°8** se observa que existe un aumento del índice de deterioro en las frutillas, el cual inició con un ID (índice de deterioro) de escala 1 tanto tratamiento como controles, reflejando que no existe visualmente ninguna presencia de hongos, en cuanto al día tres muestra un ID de 2 en los tratamientos A1B1 (Almidón de yuca con el extracto Toronja 3% y *Botrytis cinerea*), A2B1 (Aloe vera con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*), en las que empiezan a presentarse los hongos, por lo tanto fueron los que mejor se conservaron en el tiempo de almacenamiento a diferencia de los controles que tuvieron un ID de 3, en el día 5 se puede observar que los tratamientos presentan un ID de 3 pero los controles presentaron ID de 5 y a partir del día 5, los tratamientos y controles tuvieron un ID en escala de 5 y 6 siendo muy graves.

**Gráfico N°8** Resultados obtenidos de Índice de deterioro en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



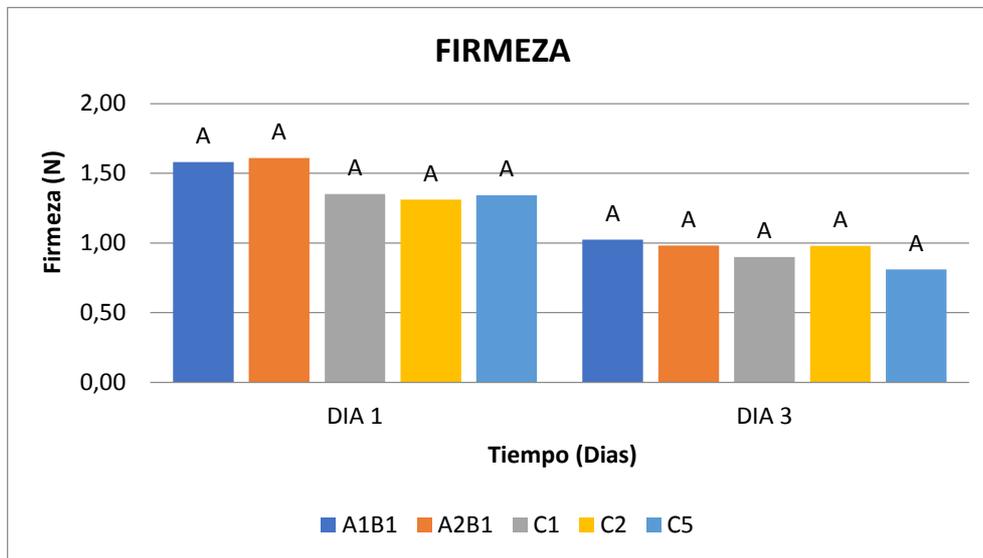
Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

En la presente investigación el aumento de Índice de deterioro estuvo relacionada directamente con los hongos presentes en las frutillas, se evidenció la presencia de hongos a partir del día 3 con un ID de 2 (presencia) en tratamientos por lo tanto presentaron una mejor conservación, y con un ID de 3 (presencia ligera) en controles hasta el día 9 donde se obtuvo un ID de 6 que fue (presencia grave. Según Romo *et al* (2014) en el cual menciona que en fresas recubiertas con quitosano en los controles su valor máximo de ID fue 5 y en tratamientos con un ID de 3(presencia ligera) en el periodo de almacenamiento de 20 días, ) Esto se debe a que la frutilla se caracteriza por tener una alta tasa de respiración y una epidermis muy delgada lo cual la expone al rápido deterioro por microorganismos Undurraga *et al* (2013) siendo diferentes los resultados ya que en esta investigación las frutillas se almacenaron por 9 días debido a que las frutillas fueron inoculadas con los hongos, los que produjeron la aceleración del crecimiento microbiano.

#### ▪ **Resultados de Firmeza**

En el **gráfico N° 9** se muestra los tratamientos y controles con los días de análisis observando que la de textura (N) entre los días 1 y 3 no presentan diferencias significativas ni en tratamientos ni controles, sin embargo, se puede observar una leve disminución, además se puede mencionar que los que más perdieron firmeza fue el tratamiento A2B1 (Aloe vera con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) que empezó con 1,61 N y termino con 0,98 N.

**Gráfico N° 9** Resultados obtenidos de la firmeza en la frutilla (*Fragaria x annanasa*).



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

La firmeza disminuye con el tiempo de almacenamiento hasta el ablandamiento, tomando en cuenta que la frutilla es un fruto no climatérico, la pérdida de su estructura está muy relacionada con la senescencia según lo expuesto por (Falconi 2016). En la recepción de la materia prima obtuvimos una textura en la frutilla de 2,17 N, al inocularlos y posteriormente aplicarle el recubrimiento con los compuestos fenólicos del día 1 al día 3 disminuyeron su firmeza en el día 5 el índice de deterioro en promedio general fue de 5 (grave) y debido a eso no fueron aptos los tratamientos para realizarle la prueba de firmeza en los días posteriores. La pérdida de firmeza se podría relacionar con la degradación del parénquima cortical que forma la pared debido a procesos de degradación enzimática (y a la pérdida de humedad durante el almacenamiento. Restrepo y Arisitzábal (2010).

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en la frutilla llego a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

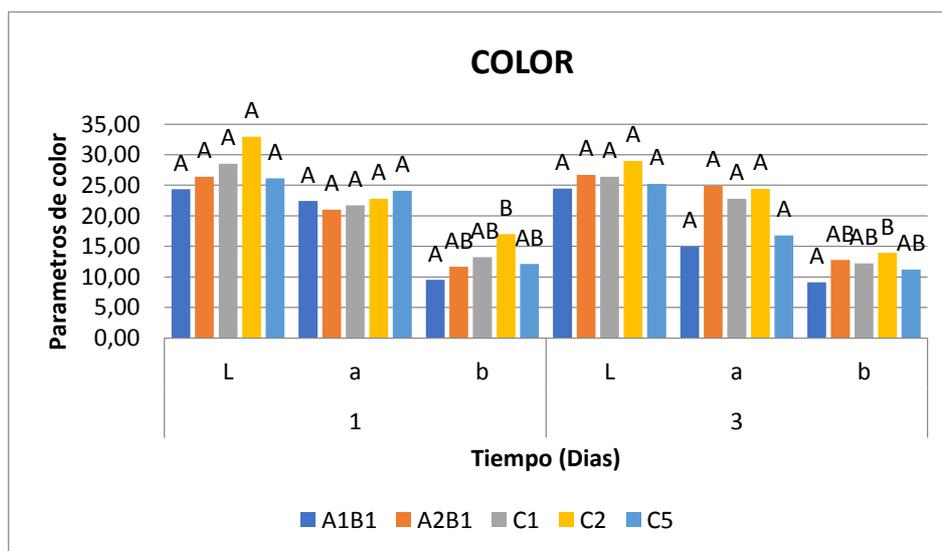
▪ **Resultados de Colorimetría**

En el **gráfico N°10** se observa que no existe diferencia significativa en tratamientos ni en controles para la luminosidad ( $L^*$ ), sin embargo, hubo un leve aumento de la luminosidad entre el día uno y tres, el que tuvo mayor luminosidad fue el tratamiento A2B1 (Aloe vera con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) y el que perdió luminosidad fue el control 2 (Sin extracto + aloe vera+ *Botrytis cinerea*).

En cuanto al parámetro ( $a^*$ ) tonalidad rojiza tampoco se puede observar diferencia significativa ni en tratamiento ni en controles sin embargo el tratamiento que más presentó tonalidad rojiza fue el tratamiento A2B1 (Aloe vera con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) que empezó con 20,99  $a^*$  y aumento a 24,91  $a^*$ .

Con respecto a la tonalidad amarilla en la fruta ( $b^*$ ) si presento diferencia significativa en tratamientos y controles en los días 1 y 3, con el tiempo de estudio el que presento mayor tonalidad fue en el control C2 (Sin extracto + aloe vera + *Botrytis cinerea*) con 32,93  $b^*$  a diferencia del A1B1 (Almidón de yuca con el extracto de Toronja 3% y *Botrytis cinerea*) fue de 24,91  $b^*$  el mismo que disminuyó en el día 3.

**Gráfico N°10** Resultados de colorimetría en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

La pérdida de brillo ( $L^*$ ) en las frutillas no representó una diferencia significativa, sin embargo se pudo observar en los tratamientos que aumentó levemente; esto se debe a la composición del recubrimiento ya que este se adhiere a la frutilla y al secarse mantiene su brillo mientras que en controles disminuyó la luminosidad, según *Ulloa et al.* (2007) la pérdida del brillo tiene relación directa con la pérdida de agua y de peso durante el almacenamiento, estos datos fueron similares a los de Trejo *et al.* (2007) en donde realizaron un estudio de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa almacenada en refrigeración.

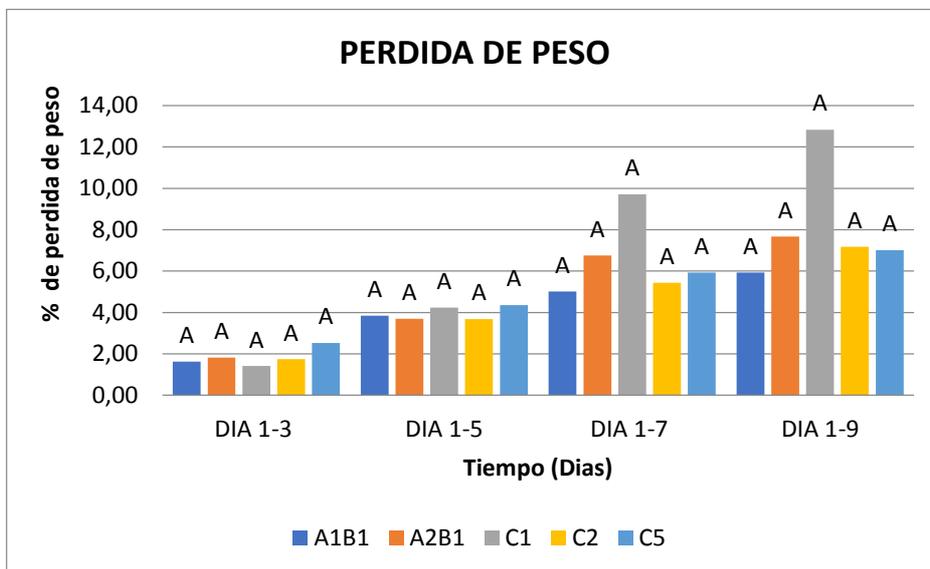
En cuanto al parámetro  $a^*$  no presentó diferencias significativas pero la coloración roja se mantuvo los 3 primeros días de almacenamiento lo cual concuerda con los resultados de Rojas (2002) donde observó la conservación del color en cerezas a las cuales se aplicó recubrimientos a base de goma garrafin, carnauba y oleína.

Con respecto al valor  $b^*$  donde si hubo diferencia significativa en controles y tratamientos estos valores coinciden con los de Del Valle (2005) en el que se realizó un estudio para fresas recubiertas con mucílago de cactus y almacenadas en refrigeración.

#### ▪ **Resultados de Pérdida de peso**

El **gráfico N° 11**. Se muestra los resultados de la pérdida de peso en la frutilla con el recubrimiento de aloe vera y almidón de yuca con compuestos fenólicos de hoja de toronja al 3% entre tratamientos y días de estudio, las cuales no presentan diferencias significativas. Sin embargo, la mayor pérdida de peso se presentó en el día 9 en el control 1 (sin extracto+ almidón de yuca+ *Botrytis cinerea*) y el que menos perdió peso fue el tratamiento A1B1 (Almidón de yuca con el extracto Toronja 3% y *Botrytis cinerea*).

**Gráfico N° 11** Resultado de pérdida de peso en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

La pérdida de peso de la frutilla en la investigación aumentó en tratamientos y controles, esto se debe a que según Pelayo y Castillo, (2002) indica que en la frutilla ocurren cambios fisiológicos como la transpiración ya que la fruta está constituida principalmente por agua por lo tanto se produce una deshidratación y marchitamiento, estos resultados son similares a los de Caudillo (2016) en el cual realizó recubrimientos formulados con quitosano-quínoa para la fresa donde también se presentó una pérdida de peso.

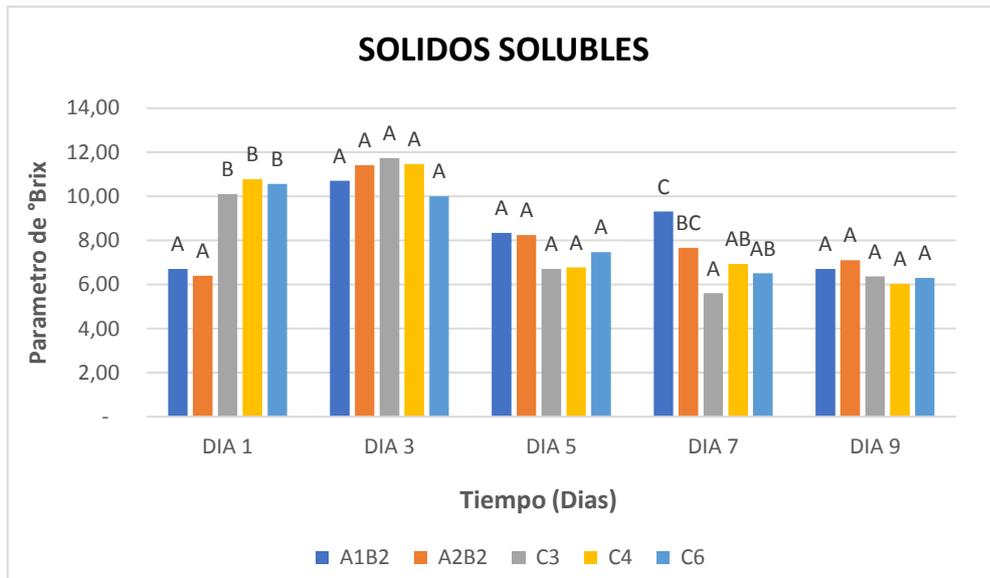
Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en la frutilla llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

### 3.3.2. FRUTILLAS INOCULADAS CON *Rhizopus stolonifer*

- **Resultados Solidos Solubles.**

En el **Gráfico N°12** Se observa los resultados obtenidos de los sólidos solubles, en donde el día 1 se muestran diferencias significativas entre tratamientos y controles presentando un valor de 6,70 °Brix en el tratamiento A1B2 (Almidón de yuca con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) y con un mayor contenido de grados °Brix en el control C4 (Sin extracto + aloe vera + *Rhizopus stolonifer*) con 10,77. En el día 7 también se observó diferencia significativa en el tratamiento A1B2 con un 9,30 °Brix en A2B2 (Aloe vera con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) con 7,67 °Brix y en el control C3 (Sin extracto + almidón de yuca + *Rhizopus stolonifer*) con 5,60 °Brix, en los demás días 3, 5 y 9 no se presentaron diferencias significativas a pesar de que hay un aumento de solidos totales en día 3, sin embargo, al pasar los días de almacenamientos estos van en descenso.

**Gráfico N°12** Resultados obtenidos de Solidos Solubles en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

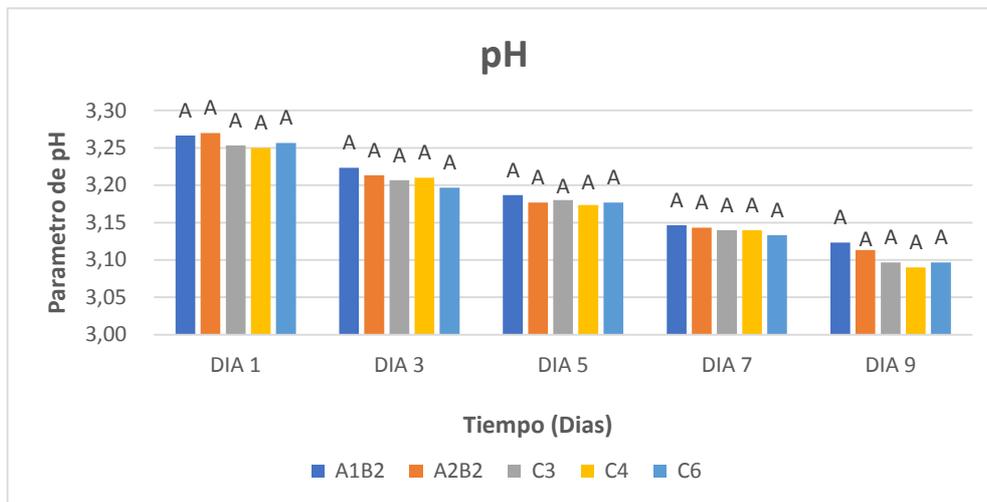
Los sólidos totales de las frutillas en la recepción sin aplicación de recubrimientos y sin inoculación fue 8.43 cumpliendo con la norma NTE INEN (2337:2008) en donde refleja un valor mínimo en la fruta de 6 °Brix. Los resultados de nuestra investigación mostraron un aumento en el día 3 tanto tratamientos como controles, el mismo que fue disminuyendo, estos datos se asemejan a lo expresado por Moing *et al.* (2001). El cual menciona que puede ocurrir un descenso en los sólidos solubles debido al constante hidrolisis durante la maduración.

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

#### ▪ **Resultados de pH**

En el **gráfico N°13** se refleja que los valores obtenidos del pH, en los nueve días de almacenamiento en donde no hubo diferencias significativas sin embargo se obtuvo un pH alto en el primer día en el tratamiento A1B2 (almidón de yuca con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) con pH 3,26 y en el control C6 (frutilla + *Rhizopus stolonifer*) con 3,12 , culminando los mismos en el día 9 con 3,26 y 3,10 respectivamente en donde se refleja una descendencia de pH tanto en controles y tratamientos .

**Gráfico N° 13** Resultados obtenidos de pH en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

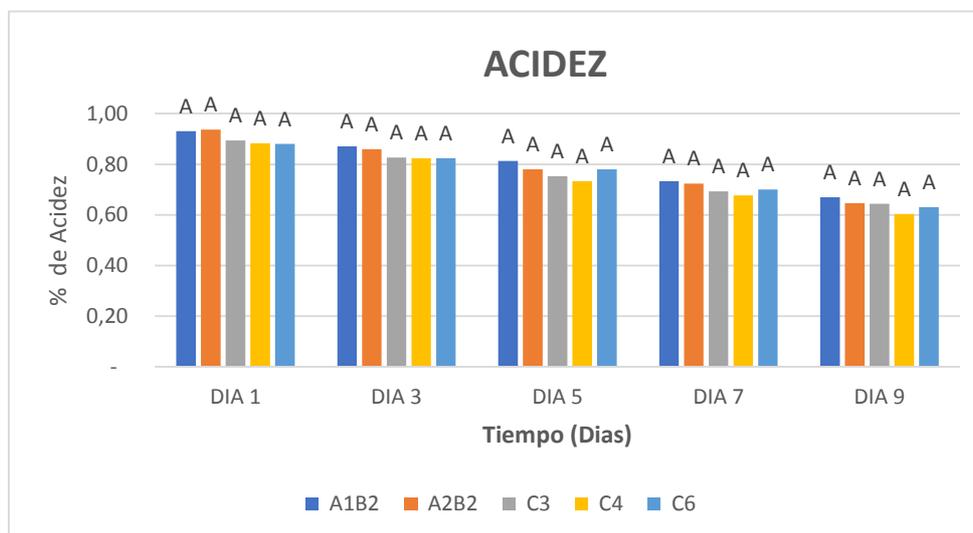
En los días de almacenamiento el pH no mostró diferencia significativa, sin embargo, existe una leve reducción de pH en controles y tratamientos, esto concuerda con Trejo *et al.* (2007) en la que utilizó un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*Fragaria vesca L.*) almacenada en refrigeración en donde los valores de pH no registraron diferencia significativa entre las fresas con recubrimiento y los controles. Por lo tanto, podemos deducir que tanto el extracto y recubrimiento aplicado a la frutilla no afectó el pH de las mismas.

Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

- **Resultados de Acidez**

En el **gráfico N° 14** se reflejan los resultados de acidez titulable en la frutilla en los tiempos de estudio (1,3,5,7 y 9) siendo no significativos sin embargo se observa una disminución del mismo en los días de almacenamiento.

**Gráfico N° 14** Resultados de acidez titulable de la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

En la acidez no hubo diferencia significativa tanto en controles como tratamientos, sin embargo, este fue disminuyendo con el tiempo de almacenamiento en el estudio, esto se asemeja a Martínez *et al.* (2002) donde indican que durante el almacenamiento de frutillas todos los tratamientos presentaron una disminución de la acidez en función al tiempo debido a los cambios químicos de los ácidos orgánicos en la maduración.

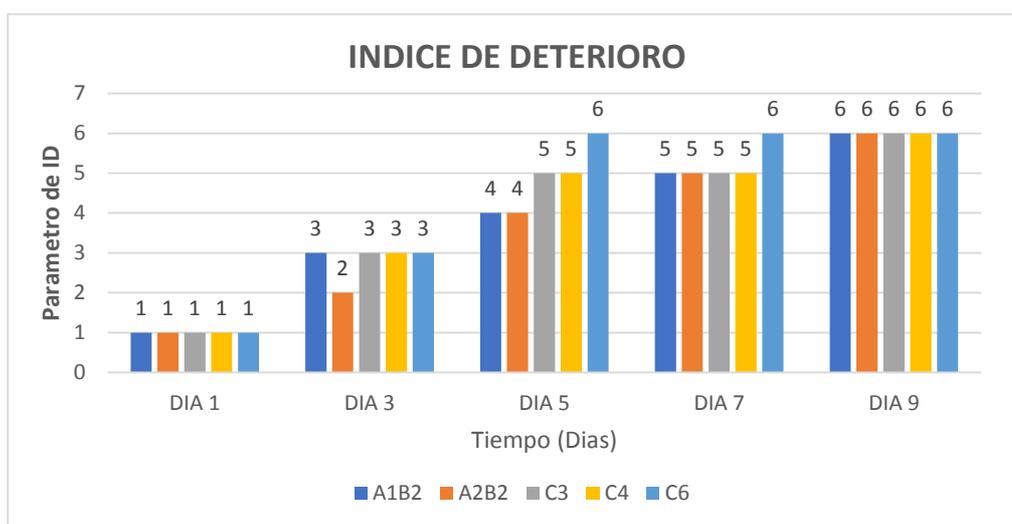
Los respectivos análisis concluyeron al noveno día, ya que el índice de deterioro en las frutillas llegó a su escala máxima de clasificación 6 (muy grave).

#### ▪ **Resultados de Índice de deterioro**

En el **gráfico N°15** muestra que existe una ascendencia del índice de deterioro en las frutillas, el cual inició con un índice de deterioro (ID) de escala 1 tanto tratamiento como controles reflejando que no existe visualmente ninguna presencia de hongos, en

cuanto al día tres muestra un Índice de deterioro en el tratamiento A2B2 (Aloe vera con el extracto Mandarina 1,5% +*Rhizopus stolonifer*) de 2 y el día 5 presentando un ID de 4, en donde la presencia del hongo fue moderada, siendo este el que mejor se conservó a comparación de los demás tratamientos y controles en la que los días 7 y 9 que obtuvieron un ID en escala de 5 y 6 siendo muy graves.

**Gráfico N°15** Resultados obtenidos de Índice de deterioro en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

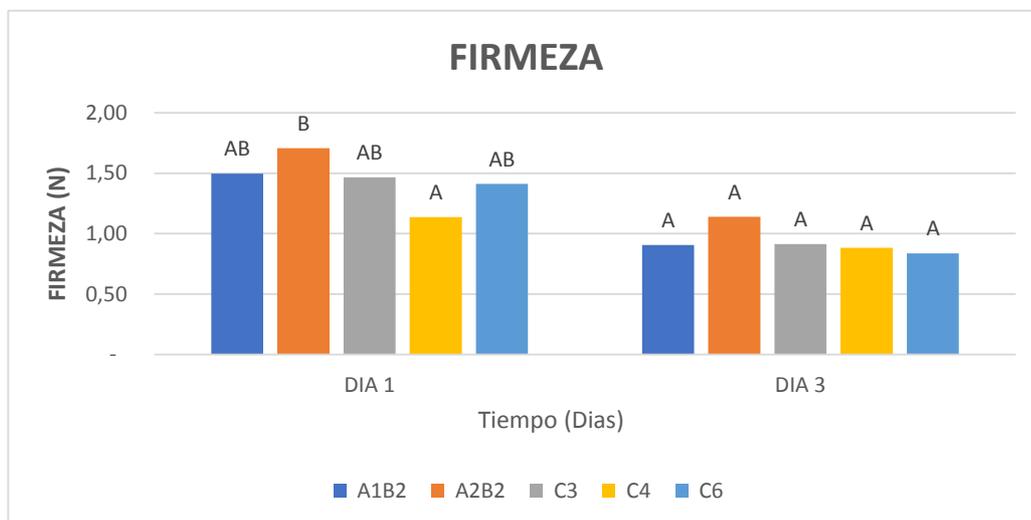
Cuando existe aumento del deterioro en frutas, esto podría estar relacionado con la pérdida de textura, pérdida fisiológica de peso, acompañada de la actividad microbiológica y el proceso de respiración de los frutos (Castro *et al.* 2015). En nuestra investigación en el día 5 hubo un ID en controles de 5 (grave), mientras que los tratamientos mostraron un ID de 4, teniendo una mejor conservación. Según Romo *et al* (2014) en el cual menciona que en fresas recubiertas con quitosano en los controles su valor máximo de ID fue de 5 y en tratamientos valores superiores a 3, en periodo de almacenamiento de 20 días, la cual no concuerda con los resultados de nuestra investigación ya que el periodo de almacenamiento concluyó a los 9 días esto debido

a que las frutillas fueron inoculadas con los hongos, los que produjeron la aceleración del crecimiento microbiano.

#### ▪ Resultados de Firmeza

En el **gráfico N° 16** se muestra los tratamientos y controles con los días de análisis, observando que la firmeza (N) en el día 1 del tratamiento A2B2 (aloe vera con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) fue de 1,71 N, , así mismo los controles C3 (Sin extracto + Almidón de yuca + *Rhizopus stolonifer*) con 1,47 N y C6 (Frutilla + *Rhizopus stolonifer*) fue de 1,41 N, a diferencia del día 3 no tubo diferencia significativa ya que disminuyó, el tratamiento A2B2 (aloe vera + *Rhizopus stolonifer*) con 1,14 N y el control C3 (Sin extracto + Almidón de yuca + *Rhizopus stolonifer*) fue de 0,98 N en cuanto a los demás tratamientos y controles presentaron valores bajos.

**Gráfico N° 16** Resultados obtenidos de la firmeza en la frutilla (*Fragaria x annanasa*)



**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

Las frutillas tanto control como tratamientos del día 1 al 3 descendió su firmeza, esto se debe a la degradación de los componentes de la pared celular, específicamente de

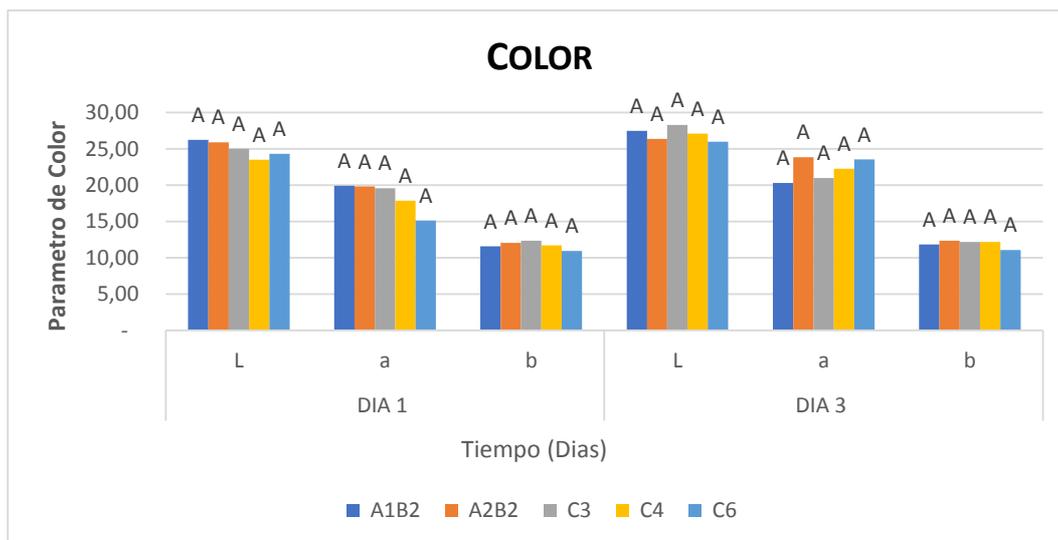
la pectina, ocasionando el ablandamiento de los frutos y por ende la pérdida de textura Sacurai *et al.* (1997). Además, no se les realizó el respectivo análisis ya que día 5 el índice de deterioro en promedio general fue de, 5 (grave) debido al agresivo deterioro de la fruta, no fueron aptas para realizar la prueba de textura.

▪ **Resultados de Colorimetría**

En el **gráfico N° 17** Se observa los resultados de colorimetría donde no hay diferencia significativa entre controles y tratamientos; sin embargo, para la luminosidad (L\*) existe un aumento en el día 3 en A1B2 (Almidón de yuca con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) con 26,26 y en el control C3 (Sin extracto + Almidón de yuca + *Rhizopus stolonifer*) siendo de 28,28. Por lo que se evidenció un incremento del brillo en la fruta, debido al recubrimiento comestible aplicado.

Para la tonalidad rojiza de la epidermis de la fresa (a\*) se refleja un aumento en A2B2 (Aloe vera con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) en el tiempo de estudio del día 1 al 3 con 19,85 a 23,85 a\* y en control C6 de 15,13 a 23,55 Con respecto a la tonalidad amarilla en la fruta (b\*) no presentaron diferencias significativas

**Gráfico N° 17** Resultados de colorimetría en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

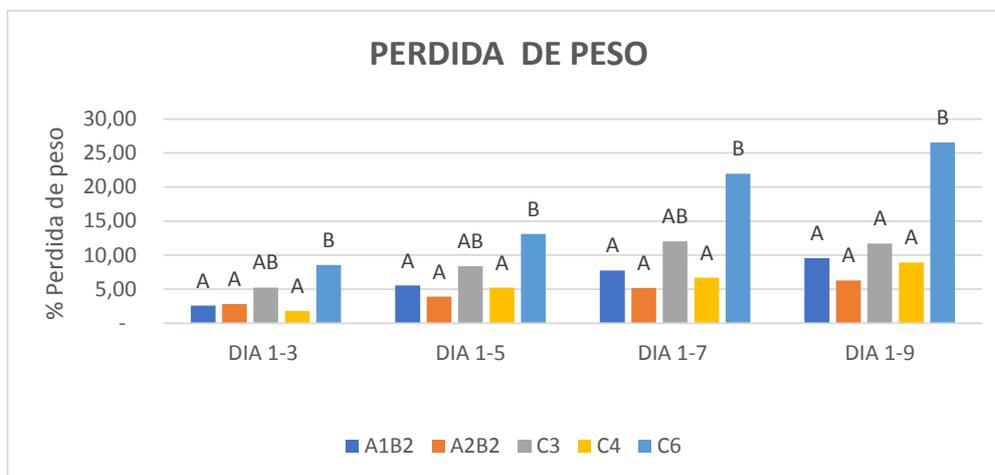
El aumento de L\* en tratamientos y controles en el presente estudio no fue significativo en tratamientos y controles aunque se observa un leve aumento de luminosidad en los tratamientos A1B2 y control C3 esto se debe a que en la formulación del recubrimiento comestible se le aplicó un plastificante en lo cual expuesto por Cano y Corales (2014) en donde usaron recubrimientos comestibles para la conservación de la frutilla, refleja que a conforme aumenta la concentración glicerol del 5% tiende a conservar su luminosidad.

En cuanto al valor a\* tanto en controles como tratamientos mostraron un aumento debido a que la fruta se tornó más rojiza, según Restrepo y Aristizábal, (2010) el aumento de la tonalidad a\* obedece a la pérdida de humedad durante el almacenamiento debido a la transpiración. Con respecto al valor b\* se obtuvo una disminución de la coloración amarilla esto debido al efecto de pardeamiento enzimático. En cuanto a los días 5, 7 y 9 no se realizó colorimetría ya que al día 5 presentaron un ID general grave debido a la presencia de los hongos, esto coincide con Ruiz *et al.* (2016) en donde no pudieron registrar datos en controles a partir del día 3 debido al deterioro de la fruta.

#### ▪ **Resultados de Pérdida de peso**

El **gráfico N° 18** se muestran los resultados de la pérdida de peso en la frutilla con el recubrimiento de aloe vera y almidón de yuca con compuestos fenólicos de hoja de mandarina al 1,5% y controles en los días de estudio. El porcentaje que presentó mayor pérdida de agua se evidenció en el tratamiento A1B2 (almidón de yuca con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) iniciando en el día 1 con 2,56 hasta el día 7 con 7,73% y en el control C6 (Frutillas + *Rhizopus stolonifer*) fue de 8,55 a 21,97%. El Tratamiento que menos presentó pérdida de agua fue en el A2B2 (Aloe vera con extracto Mandarina 1,5% + *Rhizopus stolonifer*) iniciando con 2,79 y terminado en el día 7 con 5,19% y en el control C4 de 1,80 a 6,69% respectivamente, el último día de estudio; el único que presentó diferencia significativa fue el control C6 mostrando una pérdida de peso mayor a 26,55%

**Gráfico N° 18** Resultado del porcentaje pérdida de peso en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).



Elaborado por: Alvia y Carrillo (2019)

En la pérdida de peso se mostraron diferencias significativas en donde el tratamiento A2B2 obtuvo menor porcentaje de pérdida de peso y el control, C6 mostró un incremento mayor en los días de estudio. Esto coincide con Cano y Corales, (2014) en donde sus tratamientos con recubrimiento comestibles en frutillas arrojaron menor porcentaje del mismo sin embargo sus controles mostraron una pérdida mayor debido a la reducción de humedad durante el almacenamiento.

### Resultados Microbiológicos de *Botrytis Cinerea* y *Rhizopus stolonifer*.

Las frutillas fueron inoculadas con los hongos para determinar la inhibición, se aplicó un recubrimiento comestible de aloe vera, almidón de yuca y compuestos fenólicos almacenados a 5°C para su posterior análisis microbiológico. En el día 0 los tratamientos y controles iniciaron con  $10^4$  para *Botrytis cinerea* y  $10^5$  para *Rhizopus stolonifer* mostrando que a pesar de que los extractos tienen efecto inhibitorio no se logró disminuir la carga fúngica de este estudio ya que al día 5 todos presentaron colonias incontables.

**Tabla N°6** Resultados de los análisis de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*

Días	<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Rhizopus stolonifer</i>		<i>Botrytis cinerea</i>		<i>Rhizopus stolonifer</i>		<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>
	A1B1	A2B1	A1B2	A2B2	C1	C2	C3	C4	C5	C6
0	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
5	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables	Incontables

**Elaborado por:** Alvia y Carrillo (2019)

En los análisis microbiológicos, las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* y *Rhizopus Stolonifer* y sumergidas en recubrimientos comestibles de aloe vera y almidón de yuca con extractos de Toronja al 3% y Mandarina al 1,5 %. no lograron la disminución de los hongos, ya que estas fueron incontables a los días de almacenamiento a diferencia de Camacho y Nieto, (2017) donde se aplicaron extracto de champá en las moras en la que si disminuyó la carga fúngica en los nueve días de almacenamiento.

## CAPITULO IV

### 4.1. CONCLUSIONES

- La mayor concentración en la extracción de los compuestos fenólicos en las hojas *citrus spp* fue en la toronja con 264,83 mg/g.
- El mejor poder inhibitorio en las 24 horas de incubación in vitro se presentó con el extracto de toronja en concentración del 3% en *Botrytis cinerea* de 10,56 mm y en la mandarina con el 1,5% de concentración en *Rhizopus stolonifer* con halo de inhibición de 12,78 mm.
- Los resultados de los análisis físico-químicos muestran que los mejores tratamientos conservados, considerando el índice de deterioro fueron A1B1 (Extracto de Toronja 3% + almidón de yuca + *Botrytis cinerea*), A2B1(Extracto de Toronja 3% + Aloe vera+ *Botrytis cinerea*) con un ID de 3 y A2B2 (Extracto Mandarina 1,5% + Aloe vera + *Rhizopus stolonifer*) con un ID de 4 en el día 5.
- En cuanto al pH, acidez, color, firmeza y pérdida de peso mantuvieron las características propias de la fruta hasta el día 9 debido a que todas las muestras presentaron una escala de índice de deterioro máxima de 6, lo cual no permitió realizar los respectivos análisis en los días planeados, en microbiología presentaron colonias incontables al día 5 tanto para *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*.
- Respondiendo a la hipótesis planteada, los extractos de hojas *Citrus spp* si tienen efecto inhibitorio en *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*, pero al aplicarlos en recubrimientos comestibles para disminuir la carga fúngica, no presenta acción de inhibición en la frutilla (*Fragaria x ananassa*).

## 4.2. RECOMENDACIONES

- Realizar extracción con etanol, metanol, agua y cuantificación de los compuestos fenólicos de hojas de plantas medicinales.
- Usar los compuestos fenólicos de hojas Citrus spp en porcentajes 0,5 % 1% y 1.5 % para inhibir en bacterias patógenas.
- Proponer utilizar frutillas sin inoculación y con diferentes recubrimientos comestibles, como la harina de maíz y harina de banano para la conservación de la fruta y hacer análisis bromatológicos y microbiológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (1975). Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis.  
(1980). Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis.  
(1984). Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis.
- Aguilar, F. (2018). Evaluación del efecto de un extracto de cascara de verde de banano (musa paradisiaca) para el control de Botrytis Cinerea en frutilla (fragaria vesca) y rosa (rosa spp). Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agropecuarias. pp 11-12.
- Álvarez, T. (2012). Biocontrol de Botrytis Cinerea a partir de extractos fenólicos de fresa. Tesis de grado. Instituto de Politécnico Nacional. pp. 41.
- Álvarez C.; Fermín N.; García J.; Peña E. & Martínez A. (2013,) Evaluación de defecto de la aplicación de un recubrimiento comestible en melones (cucumis melvar. Cantaloupe) cortados y almacenados en refrigeración vol.25, , pp. 218-226
- Angueira, M.; Sandoval, A.; & Barreiro, J. (2003). Tasas de respiración en cuatro híbridos de pimentón (capsicum annum l.)
- Ayrancy, E.; & Tunc, S. (2004). The effect of edible coatings on wáter and vitamin C loss of apricots (Armeniaca vulgaris Lam.) and green peppers (Capsicum annum L.). Food Chem journal, pp. 339-345.
- Borja, E. (2010). Estudio de la conservación de fresas (fragaria vesca) mediante tratamientos térmicos. Tesis de grado. pp. 11-12.
- Braca Alessandra (2008), Estudio Químico Biológico de Plantas Medicinales – Flora Ecuatoriana, Curso teórico dictado en la Escuela Politécnica del Ejército.
- Cano, j.; & Corales, F. (2014) Efecto De Recubrimientos Comestibles A Base " De Gel De Mucilago De Penca De Sábila (Aloe " Barbadensis miller) en la Vida Util de la Fresa (Fragaria ananassa)" Tesis de grado, Universidad Nacional de Santa , Perú ,pp 96.

- Camacho, G. & Nieto, K. (2017). Evaluación De La Capacidad Antifúngica Del Extracto De Champa Sobre *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* en mora (*Rubus Glaucus*). Universidad De La Salle, Facultad De Ingeniería Programa Ingeniería De Alimentos, Bogotá
- Castro, M.; Ziani, K. & Santacruz, S. (2015). Conservación de arilos de rambutan (*Nephelium lappaceum*) mediante recubrimientos comestibles de quitosano y áloe vera. Alimentos, Ciencia e Ingeniería pp. 32-43.
- Caudillo, D. (2016) Conservación poscosecha de fresa utilizando recubrimientos formulados con quitosano-quínoa. Maestría en ciencias alimentarias.pp 35-36
- CLSI (2009). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; Approved Guideline Second Edition Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI document M44–A2. Estados Unidos Wayne, Pennsylvania. Vol. 29. Pp 13.
- Del Valle V.;Hernández P.; Guarda A.;Galotto MJ.(2005) Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. Food Chem. 2005 Aug; pp 751–756.
- Donovan, R. (2013). “Evaluación de Técnicas Hidropónicas de Producción en el Cultivo de Fresa (*Fragaria x ananassa*) Bajo Invernadero”. Tesis de grado. Centro de investigación en química aplicada. Pp. 4-5
- Dussán-Sarria, S.; Torres-León, C.; Hleap-Zapata,J.; (2014). Efecto de un recubrimiento comestible y diferentes empaques durante el almacenamiento refrigerado de Mango ‘Tommy Atkins’ mínimamente procesado, Inf. Technol. 25(4), 123-130 (2014).
- Espinosa de los Monteros, M. & Cadiz, U. (2006). Estudio de la variabilidad genética y organización cromosómica en el hogo fitopatógeno *Botrytis cinerea*. Cadiz.
- Falconí, F. (2016) “Empleo De Recubrimientos Comestibles En La Conservación De *Fragaria x Ananassa* (Fresa)” Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica De Chimborazo pp. 68.
- France, A. (2013). Manejo de enfermedades en Frutilla. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, pp.112.

- Fraire, M.; Yáñez, M. Nieto, D. (2002) Hongos Patógenos en Fruto de Fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Postcosecha, *Revista Mexicana de fitopatología*, pp 186.
- García, M.; Baños, S.; Barrera, L. (2010) Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. México. pp 7
- Gorinstein, S.; Martín, O.; Yong, C, Ratiporn, D. ; Lojek, A. ; Milan C.; Caspi A.; Libman, I. & Trakhtenberg, S. (2001) Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits, *Food Chemistry* , pp. 311.
- González, G.; Ayala, J.; Olivas, G. & Álvarez, E. ; (2010). Preserving quality of fresh-cut products using safe technologies. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* 5(1): 65-72
- González-Aguilar, G. A., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J. L., Goycoolea Valencia, F., Martínez-Téllez, M., Villegas-Ochoa, M.A., Monroy-Gracia, I. N., y Ayala-Zavala, J.F. (2008). Effect of chitosan coating in preserving deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 15-23.
- Han C, Zhao Y.; Leonard SW.; Traber MG. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biol Technol*, pp 67-78.
- Hernández, P.; Delgado, A.; Sánchez, S. & Villada, H. (2011). Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. *Revista lasallista de investigación*, pp. 97.
- Iglesias, D.; Ojito, K. & Portal, C. (2017). Actividad Antifúngica in vitro de extractos de hojas citrus spp. frente a *stemphyllium solani* weber . *Revista Centro Agrícola*, pp. 5-12.
- INEN 1529 (2013). Norma Técnica Ecuatoriana para determinar presencia/ ausencia de mohos y levaduras.
- INEN 2337, I.E. (2008). Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Ecuador: Norma Técnica Ecuatoriana.

- Martínez, D.; Tejacal, A.; León, C. & Soto, H. (2002) Factores Fisilogicos, Bioquimicos y de calidad en frutos de zapote mame y durante poscosecha. Revista Chapingo Serie Horticultura.
- Moing, A., C. Renaud., M. Gaudillere., P. Raymond., P. & Roudeillac, D. (2001) Biochemica Changes during fruit development of four strawberry cultivars. Vol. 126. Journal Of the American Society For Horticultural Science.
- Ojito Ramos, K; Herrera, y., Vega, N., portal, o (2012). Actividad antioxidante *in vitro* y toxicidad de extractos hidroalcohólicos de hojas de *Citrus* spp. (*Rutaceae*). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 17 (4): pp 368-379.
- Palencia Mendoza Yanet (1999), Sustancias Bioactivas en Alimentos, Universidad de Zaragoza, España.
- Pavón, D. & Valencia, S. (2016). Efecto de recubrimientos comestibles compuestos a base de goma tara en la calidad poscosecha de frutilla (*Fragaria ananassa*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, Vol 17 pp 65 -70.
- Pelayo, C. & castillo, D. (2002) Tecnicas de manejo de postcosecha a pequeña escala . Manual de los productos hortofrutícolas . Series de horticultura postcosecha No 8. Universidad Autonoma Metropolitana Iztapala , Mexico.
- Ponton, J; Moragues, M.D; Gené, J & Quindos, G. (2002). Hongos y actinomicetos alergénicos; *Rhizopus stolonifer*. Vuillemin. Revista Iberoamericana de Micología. pp 38.
- Quilo, N. (2016). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible con extracto de propóleo como agente antifúngico. Tesis de grado universidad tecnica del Norte Facultad Ciencias Agropecuaria y Ambientales. Ibarra-Ecuador.
- Ramos, M.; Bautista, S.; Barrera, L.; Bosque-Molina, E.; Alía, I. & Estrada, M. (2010) Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 28, pp. 45.

- Restrepo, J.; Aristizábal, I (2010). Conservación de fresa (*fragaria x ananassa* duch Clamorosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera de carnauba. *Vitae, Revista de la facultad de química farmacéutica*. pp 253-254.
- Rivera, A (2007) Evaluación y caracterización de la actividad antifúngica de la especie *Quillaja saponaria* Mol. cultivada in vitro en *Botrytis cinerea* Pers. Tesis doctoral. Temuco: Universidad de la frontera.
- Rodríguez, L.; Jiménez A.; Murillo, W.; Rueda A. & Méndez. (2017) Activated Antimicrobial activity of peels and seeds of *Citrus limonia* and *Citrus sinensis* *Actual Biol*, Vol. 39 , núm. 106.
- Rodríguez, A.; Troncoso, R.; Sánchez, A.; González, D.; Ruiz, E.; Zamora, R.; Peceña, C.; Grimaldo, O. & Avilés, M. (2015) Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria* y *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*, vol. 47, núm. 1, 2015, pp. 72-77.
- Rojas, M.; Soliva, R. & Martín, O. (2009). Recubrimientos comestibles para Incorporar ingredientes activos a las frutas recién cortadas: una revisión. *Tendencias en Ciencia de los Alimentos y Tecnología*, 20, pp 438-447.
- Romo, F.; Pérez L.; Ramírez, R.; Conchas, G. & Gonzalez ,N . (2014) Incremento de la calidad y vida útil de fresas con recubrimientos comestibles de quitosano. Universidad Autónoma de Aguas Calientes pp. 324.
- Rojas, C. (2002). Tesis Doctoral en Ciencias. Desarrollo de nuevos recubrimientos comestibles y aplicación en cerezas, albaricoques y mandarinas. Valencia, España. Universidad Politécnica de Valencia.
- Ruiz, M (2015). Diseño de un recubrimiento comestible bioactivo para aplicarlo en la frutilla (*Fragaria vesca*) como proceso de postcosecha. Tesis Ingeniero Químico, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Escuela Politécnica Nacional, Quito. 165 p.
- Ruiz, M.; Ávila, J. & Ruales, J. (2016) Diseño De Un Recubrimiento Comestible Bioactivo Para Aplicarlo En La Frutilla (*Fragaria Vesca*) Como Proceso De Postcosecha. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 17, núm. 2, pp. 276-287.

- Sacurai, N., & D, J Nevis. (1997) *Relationship between fruit softening and wall polysaccharides in avocado (PERSEA AMERICANA MILL) MESOCARP TISSUES PLANT CELL PHYSIOLOGY*. Vol. 38.
- Santacruz, S. & Castro, M. (2018) Viability of free and encapsuled lactobacillus acidophilus incorporate to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. *LWT- Food Science and Technology*. pp.570-572.
- Slinkard, K & Singlenton, L. (1977). Total análisis de fenol: automatización y comparación con métodos manuales. *Diario americano de la enología y viticultura*, pp.49-55.
- Sun, Y.; Qiao, L.; Shen, Y.; Jiang, P.; Chen, J. & Ye, X. (2013) , Phytochemical profile and antioxidant activity of physiological drop of Citrus fruits. *Journal of Food Science* 78(1): C37-42.
- Trejo, A.; Ramos.; M.& Pérez, C. (2007) Efecto De La Aplicación De Un Recubrimiento Comestible A Base De Gelatina Sobre La Calidad De Fresa (*Fragaria Vesca L.*) Almacenada En Refrigeración. Universidad Nacional Autónoma de México, pp 234.
- Trejo, J & Aristizabal, I. (2010) Conservación de la fresa (*Fragaria x ananassa Duch cv Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis Miller*) y cera de carnauba. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*, pp 252-263.
- Ulloa,J.; Ulloa, P. & Romero, J.(2007) Frutas estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos, México-Acribia.
- Undurraga, P., & Vargas, S. (2013). Manual de frutilla. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Centro Regional de Investigación Quilamapu, pp 112.
- Vélez, K (2015). Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de gelatina y ácido cítrico en la vida útil de las fresas (*Fragaria Vesca L.*). Tesis de grado. Pp 3
- Vivanco, E; Matute, L. & Campo, M. (2017). Extracción de compuestos fenólicos y caracterización físico-química de la cáscara de *Theobroma cacao L*, variedades Nacional y CCN-51. Machala - Ecuador. Vol. 2 n. 1. Pp 10.

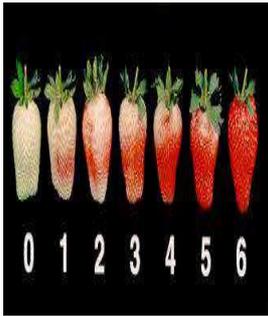
Velázquez, G.; Bautista, S.; Hernández, A.; Guerra, M. & Amora, E. (2008). Estrategias de control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, agente causal de pudriciones postcosecha en productos agrícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. pp 26:49-55

Zarrin, N.y B. Sadeghi-Nejad (2010): In vitro antifungal activity of *Satureja Khuzestanica* Jamzad against *Cryptococcus neoformans*. *Pak. J. Med. Sci.* 26: 880-882.

Zuñiga, D. (2016) Conservación de la frutilla (*fragaria* sp) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel mucilaginoso de Penca Sábila (*Aloe barbadensis* Miller). Maestría en gestión de calidad y seguridad alimentaria. Ecuador pp 3-4.

# ANEXOS

**Anexo N°1** Escala de maduración de la frutilla



**Anexo N°2** Recepción de las hojas Citrus



**Anexo N°3** Secado de las hojas Citrus spp.



**Anexo N°4** Molido de las hojas Citrus



**Anexo N°5** Filtrado de los extractos en bomba al vacío.



**Anexo N°6** Dilución de los extractos.



**Anexo N°7** concentración de extractos 0,5- 1,5-3%



**Anexo N°8** Lectura de compuestos fenólicos



**Anexo N°9** Muestras de efecto inhibitorio



**Anexo N°10** Recepción de las frutillas



**Anexo N°11** Clasificación de las frutillas.



**Anexo N°12** Inoculación de las frutillas con los hongos.



**Anexo N°13 Elaboración de recubrimiento comestible de Aloe vera**



**Anexo N°14 Elaboración de recubrimiento de almidón de yuca.**



**AnexoN°15 Recubrimientos comestibles.**



**Anexo N°16 Inmersión de RC en frutillas**



**AnexoN°17 Frutillas recubiertas en envases pet perforados**



**AnexoN°18 Almacenamiento**



**Anexo N°19 Análisis de Textura**



**Anexo N°20 Análisis de °Brix**



**Anexo N°21 Análisis de Acidez**



**Anexo N°22 Análisis de microbiología**



**Anexo N°23 Trituración de la muestra para análisis de pH**



**Anexo N°24 Análisis de pérdida de peso**



**Anexo N° 25** Peso en liquido de la extracción de compuestos fenólicos de hojas Citrus spp.

<b>EXTRACCION DE HOJAS CITRUS SPP</b>	
<b>MUESTRAS</b>	Peso en liquido (g)
<b>TORONJA</b>	23.35 g
<b>MANDARINA</b>	20.60 g
<b>NARANJA</b>	21.40 g
<b>LIMON</b>	22.36 g

**Anexo N° 26** Absorbancia de compuestos fenólicos expresados en mg/ml.

<b>ABSORBANCIA</b>	<b>Expresado en mg/ml</b>			
<b>MUESTRAS</b>	<b>Repetición 1</b>	<b>Repetición 2</b>	<b>Repetición 3</b>	<b>TOTAL</b>
<b>TORONJA</b>	0.140	0.140	0.139	0.139
<b>MANDARINA</b>	0.105	0.103	0.099	0.102
<b>NARANJA</b>	0.098	0.097	0.096	0.097
<b>LIMON</b>	0.056	0.055	0.055	0.055
<b>BLANCO</b>	0.000	0.000	0.000	0.000

**Anexo N° 27** Cuantificación de compuestos fenólicos expresados en mg/ml.

<b>Cuantificación</b>		
<b>Fórmula dada por la curva de calibración</b>		
<b><math>y = 0,1497x + 0,0008</math></b>		
<b>Resultados de concentración expresados en mg / ml</b>		
<b>Muestras</b>	<b>Fórmula reemplazada</b>	<b>Repetición 1</b>
TORONJA	$y = 0,1497 (0,140) + 0,0008$	$21,758 \times 10^{-3}$
MANDARINA	$y = 0,1497 (0,105) + 0,0008$	$16,5185 \times 10^{-3}$
NARANJA	$y = 0,1497 (0,098) + 0,0008$	$15,4706 \times 10^{-3}$
LIMON	$y = 0,1497 (0,056) + 0,0008$	$9,1832 \times 10^{-3}$
<b>Muestras</b>	<b>Fórmula reemplazada</b>	<b>Repetición 2</b>
TORONJA	$y = 0,1497 (0,140) + 0,0008$	$21,758 \times 10^{-3}$
MANDARINA	$y = 0,1497 (0,103) + 0,0008$	$16,2191 \times 10^{-3}$
NARANJA	$y = 0,1497 (0,097) + 0,0008$	$15,3209 \times 10^{-3}$
LIMON	$y = 0,1497 (0,055) + 0,0008$	$9,0335 \times 10^{-3}$
<b>Muestras</b>	<b>Fórmula reemplazada</b>	<b>Repetición 3</b>
TORONJA	$y = 0,1497 (0,139) + 0,0008$	$21,6083 \times 10^{-3}$
MANDARINA	$y = 0,1497 (0,099) + 0,0008$	$15,6203 \times 10^{-3}$
NARANJA	$y = 0,1497 (0,096) + 0,0008$	$15,1712 \times 10^{-3}$
LIMON	$y = 0,1497 (0,055) + 0,0008$	$9,0335 \times 10^{-3}$

**Anexo N° 28** Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus Spp

Conteo de regresión de concentración	Utilizando (Concentración mg/ml) x 25ml = A(mg) A(mg) / 0,1ml x 100ml = B(mg) B(mg) / 9,57 g x (Líquido extraído g) = C(mg) C(mg) / 5 g = X(mg / g)	Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus Spp
Muestras	Fórmula reemplazada	Repetición 1
<b>TORONJA</b>	$21,758 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25\text{ml} = 0,54395\text{mg}$ $0,54395\text{mg} / 0,1\text{ml} \times 100\text{ml} = 543,95\text{mg}$ $543,95\text{mg} / 9,57\text{g} \times 23,35\text{g} = 1.327,1925\text{mg}$ $1.327,1925\text{mg} / 5\text{g} =$	265,4385
<b>MANDARINA</b>	$16,5185 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25\text{ml} = 0,4129625\text{mg}$ $0,4129625\text{mg} / 0,1\text{ml} \times 100\text{ml} = 412,9625\text{mg}$ $412,9625\text{mg} / 9,57\text{gr} \times 20,60\text{gr} = 888,9265\text{mg}$ $888,9265\text{mg} / 5\text{gr} =$	177,78
<b>NARANJA</b>	$15,4706 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25\text{ml} = 0,386765\text{mg}$ $0,386765\text{mg} / 0,1\text{ml} \times 100\text{ml} = 386,765\text{mg}$ $386,765\text{mg} / 9,57\text{gr} \times 21,40\text{gr} = 864,8663\text{mg}$ $864,8663\text{mg} / 5\text{gr} =$	172,9732
<b>LIMON</b>	$9,1832 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25\text{ml} = 0,22958\text{mg}$ $0,22958\text{mg} / 0,1\text{ml} \times 100\text{ml} = 229,58\text{mg}$ $229,58\text{mg} / 9,57\text{gr} \times 22,36\text{gr} = 536,4063\text{mg}$ $536,4063\text{mg} / 5\text{gr} =$	107,2812

**Anexo N° 29** Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus Spp

<b>Conteo de regresión de concentración</b>	<b>Utilizando</b> (Concentración mg/ml) x 25ml = A(mg) A(mg) / 0,1ml x 100ml = B(mg) B(mg) / 9,57 g x (Líquido extraído g) = C(mg) C(mg) / 5 g = X(mg / g)	<b>Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus Spp</b>
<b>Muestras</b>	<b>Fórmula reemplazada</b>	<b>Repetición 2</b>
<b>TORONJA</b>	$21,758 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,54395 \text{mg}$ $0,54395 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 543,95 \text{mg}$ $543,95 \text{mg} / 9,57 \text{g} \times 23,35 \text{g} = 1.327,1925 \text{mg}$ $1.327,1925 \text{mg} / 5 \text{g} =$	265,4385
<b>MANDARINA</b>	$16,2191 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,405477 \text{mg}$ $0,405477 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 405,4775 \text{mg}$ $405,4775 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 20,60 \text{gr} = 872,8146 \text{mg}$ $872,8146 \text{mg} / 5 \text{gr} =$	174,5629
<b>NARANJA</b>	$15,3209 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,3830 \text{mg}$ $0,3830 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 383,02 \text{mg}$ $383,02 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 321,40 \text{gr} = 856,49 \text{mg}$ $856,49 \text{mg} / 5 \text{gr} =$	171,29
<b>LIMON</b>	$9,0335 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,2258375 \text{mg}$ $0,2258375 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 225,8375 \text{mg}$ $225,8375 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 22,36 \text{gr} = 527,6621 \text{mg}$ $527,6621 \text{mg} / 5 \text{gr} =$	105,5321

**Anexo N° 30** Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus Spp

Conteo de regresión de concentración	Utilizando (Concentración mg/ml) x 25ml = A(mg) A(mg) / 0,1ml x 100ml = B(mg) B(mg) / 9,57 g x (Líquido extraído g) = C(mg) C(mg) / 5 g = X(mg / g)	Resultados expresados en mg compuestos fenólicos / g de hojas Citrus spp
Muestras	Fórmula reemplazada	Repetición 3
<b>TORONJA</b>	$21,6083 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,540 \text{mg}$ $0,540 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 540,2075 \text{mg}$ $540,2075 \text{mg} / 9,57 \text{g} \times 23,35 \text{g} = 1.318 \text{mg}$ $1.318 \text{mg} / 5 \text{g} =$	263,61
<b>MANDARINA</b>	$15,6203 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,3905075 \text{mg}$ $0,3905075 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 390,5075 \text{mg}$ $390,5075 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 20,60 \text{gr} = 840,5908 \text{mg}$ $840,5908 \text{mg} / 5 \text{gr} =$	168,1181
<b>NARANJA</b>	$15,4706 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,37928 \text{mg}$ $0,37928 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 379,28 \text{mg}$ $379,28 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 21,400 \text{gr} = 848,1287 \text{mg}$ $848,1287 \text{mg} / 5 \text{gr} =$	169,6257
<b>LIMON</b>	$9,0335 \times 10^{-3} \text{mg/ml} \times 25 \text{ml} = 0,225 \text{mg}$ $0,225 \text{mg} / 0,1 \text{ml} \times 100 \text{ml} = 225,8375 \text{mg}$ $225,8375 \text{mg} / 9,57 \text{gr} \times 22,36 \text{gr} = 527,66 \text{mg}$ $527,66 / 5 \text{gr} =$	105,53

**Anexo N°31** Análisis de Varianza de Cuantificación de compuestos fenólicos en hojas citrus spp.

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
CONCENTRACION	12	1,00	1,00	1,51

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	38303,75	3	12767,92	1750,39	<0,0001
TRATAMIENTOS	38303,75	3	12767,92	1750,39	<0,0001
Error	58,35	8	7,29		
Total	38362,10	11			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=7.06180

Error: 7.2943 gl: 8

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
1	264,82	3	1,56 A
2	173,48	3	1,56 B
3	171,29	3	1,56 B
4	106,11	3	1,56 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Anexo N°32** Análisis de Varianza de efecto inhibitorio en *Botrytis Cinerea*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
HALOS	37	0,51	0,26	18,11

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	60,23	12	5,02	2,05	0,0656
TRATAMIENTOS	60,23	12	5,02	2,05	0,0656
Error	58,89	24	2,45		
Total	119,13	36			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,03092

Error: 2,4539 gl: 24

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
BLANCO	5,00	1	1,57 A
A1B2C1	7,00	3	0,90 A B
A3B3C1	7,22	3	0,90 A B
A4B2C1	7,56	3	0,90 A B
A2B2C1	7,89	3	0,90 A B
A3B1C1	8,22	3	0,90 A B
A4B1C1	8,67	3	0,90 A B
A3B2C1	8,89	3	0,90 A B
A1B1C1	9,44	3	0,90 A B
A2B3C1	9,44	3	0,90 A B
A2B1C1	10,00	3	0,90 A B
A1B3C1	10,11	3	0,90 B
A4B3C1	10,56	3	0,90 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N°33** Análisis de Varianza de efecto inhibitorio en *Rhizopus Stolonifer*

**Análisis de la varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
INHIBICION	39	0,49	0,26	26,73

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	145,85	12	12,15	2,09	0,0560
TRATAMIENTOS	145,85	12	12,15	2,09	0,0560
Error	151,03	26	5,81		
Total	296,87	38			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=7.15130

Error: 5.8088 gl: 26

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
8,00	12,78	3	1,39 A
12,00	11,33	3	1,39 A B
4,00	10,22	3	1,39 A B
2,00	9,78	3	1,39 A B
9,00	9,56	3	1,39 A B
1,00	9,56	3	1,39 A B
10,00	9,56	3	1,39 A B
7,00	9,22	3	1,39 A B
6,00	8,44	3	1,39 A B
11,00	7,78	3	1,39 A B
3,00	7,11	3	1,39 A B
5,00	6,89	3	1,39 A B
0,00	5,00	3	1,39 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

**Anexo N°34** Análisis de varianza de °Brix en las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

**DIA 1**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,93	0,91	8,75

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	74,25	4	18,56	34,89	<0,0001
TRATAMIENTOS	74,25	4	18,56	34,89	<0,0001
Error	5,32	10	0,53		
Total	79,57	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,95997

Error: 0,5320 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	6,30	3	0,42 A
A1B1	6,63	3	0,42 A
C1	6,77	3	0,42 A
C5	10,20	3	0,42 B
C2	11,77	3	0,42 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,56	0,38	8,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11,05	4	2,76	3,14	0,0646
TRATAMIENTOS	11,05	4	2,76	3,14	0,0646
Error	8,79	10	0,88		
Total	19,83	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,51887

Error: 0,8787 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	10,50	3	0,54 A
C1	10,87	3	0,54 A
A1B1	11,63	3	0,54 A
A2B1	11,87	3	0,54 A
C5	12,97	3	0,54 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 5	15	0,73	0,63	8,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12,29	4	3,07	6,87	0,0063
TRATAMIENTOS	12,29	4	3,07	6,87	0,0063
Error	4,47	10	0,45		
Total	16,76	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,79725

Error: 0,4473 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	7,03	3	0,39 A
C2	7,07	3	0,39 A
C1	8,30	3	0,39 A B
A2B1	8,90	3	0,39 B
A1B1	9,20	3	0,39 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,65	0,52	7,60

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	6,11	4	1,53	4,72	0,0212
TRATAMIENTOS	6,11	4	1,53	4,72	0,0212
Error	3,23	10	0,32		
Total	9,34	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,52798

Error: 0,3233 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	6,73	3	0,33 A
C5	6,80	3	0,33 A B
C1	7,50	3	0,33 A B
A2B1	8,07	3	0,33 A B
A1B1	8,30	3	0,33 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,34	0,07	11,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,13	4	0,78	1,28	0,3418
TRATAMIENTOS	3,13	4	0,78	1,28	0,3418
Error	6,13	10	0,61		
Total	9,26	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,10332

Error: 0,6127 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	5,93	3	0,45 A
A1B1	6,27	3	0,45 A
C2	6,43	3	0,45 A
A2B1	7,07	3	0,45 A
C1	7,10	3	0,45 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N°35** Análisis de varianza de pH en la frutilla inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

DIA 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,59	0,43	5,06

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,51	4	0,13	3,59	0,0460
TRATAMIENTOS	0,51	4	0,13	3,59	0,0460
Error	0,36	10	0,04		
Total	0,87	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,50687

Error: 0,0356 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	3,51	3	0,11 A
C2	3,51	3	0,11 A
C1	3,83	3	0,11 A
A1B1	3,84	3	0,11 A
A2B1	3,96	3	0,11 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,19	0,00	2,49

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	3,7E-03	0,57	0,6910
TRATAMIENTOS	0,01	4	3,7E-03	0,57	0,6910
Error	0,06	10	0,01		
Total	0,08	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,21642

Error: 0,0065 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	3,18	3	0,05 A
C1	3,21	3	0,05 A
A2B1	3,25	3	0,05 A
C5	3,25	3	0,05 A
C2	3,27	3	0,05 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### DIA 5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 5	15	0,21	0,00	3,35

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,03	4	0,01	0,68	0,6200
TRATAMIENTOS	0,03	4	0,01	0,68	0,6200
Error	0,11	10	0,01		
Total	0,14	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28311

Error: 0,0111 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	3,10	3	0,06 A
C1	3,11	3	0,06 A
C5	3,11	3	0,06 A
A1B1	3,17	3	0,06 A
C2	3,21	3	0,06 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,20	0,00	3,30

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,03	4	0,01	0,64	0,6469
TRATAMIENTOS	0,03	4	0,01	0,64	0,6469
Error	0,10	10	0,01		
Total	0,13	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,27148

Error: 0,0102 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	3,02	3	0,06 A
C1	3,02	3	0,06 A
A1B1	3,07	3	0,06 A
C2	3,10	3	0,06 A
A2B1	3,12	3	0,06 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

#### DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,33	0,06	1,46

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,3E-03	1,21	0,3663
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,3E-03	1,21	0,3663
Error	0,02	10	1,9E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11836

Error: 0,0019 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	3,00	3	0,03 A
C1	3,00	3	0,03 A
A1B1	3,02	3	0,03 A
C2	3,04	3	0,03 A
A2B1	3,06	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N°36** Análisis de varianza de firmeza en las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

**DIA 1**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,39	0,15	13,78

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,25	4	0,06	1,60	0,2491
TRATAMIENTOS	0,25	4	0,06	1,60	0,2491
Error	0,39	10	0,04		
Total	0,64	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,53280

Error: 0,0393 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	1,31	3	0,11 A
C5	1,34	3	0,11 A
C1	1,35	3	0,11 A
A1B1	1,58	3	0,11 A
A2B1	1,61	3	0,11 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**DIA 3**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,19	0,00	20,41

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,09	4	0,02	0,59	0,6808
TRATAMIENTOS	0,09	4	0,02	0,59	0,6808
Error	0,37	10	0,04		
Total	0,45	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,51483

Error: 0,0367 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C5	0,81	3	0,11 A
C1	0,90	3	0,11 A
C2	0,98	3	0,11 A
A2B1	0,98	3	0,11 A
A1B1	1,02	3	0,11 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo N°37** Análisis de varianza de pérdida de peso en las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

**DIA 1-3**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-3	15	0,20	0,00	49,94

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,10	4	0,53	0,63	0,6510
TRATAMIENTOS	2,10	4	0,53	0,63	0,6510
Error	8,32	10	0,83		
Total	10,42	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,45038

Error: 0,8315 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C1	1,41	3	0,53 A
AlB1	1,62	3	0,53 A
C2	1,75	3	0,53 A
A2B1	1,83	3	0,53 A
C5	2,52	3	0,53 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**DIA 1-5**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-5	15	0,08	0,00	29,87

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,20	4	0,30	0,21	0,9242
TRATAMIENTOS	1,20	4	0,30	0,21	0,9242
Error	14,01	10	1,40		
Total	15,22	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,18078

Error: 1,4011 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	3,68	3	0,68 A
A2B1	3,69	3	0,68 A
AlB1	3,85	3	0,68 A
C1	4,23	3	0,68 A
C5	4,36	3	0,68 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**DIA 1-7**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-7	15	0,27	0,00	51,74

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	42,15	4	10,54	0,91	0,4934
TRATAMIENTOS	42,15	4	10,54	0,91	0,4934
Error	115,54	10	11,55		
Total	157,69	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=9,13387

Error: 11,5538 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
AlB1	5,02	3	1,96 A
C2	5,43	3	1,96 A
C5	5,93	3	1,96 A
A2B1	6,76	3	1,96 A
C1	9,72	3	1,96 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 1-9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-9	15	0,53	0,34	34,37

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	88,11	4	22,03	2,83	0,0832
TRATAMIENTOS	88,11	4	22,03	2,83	0,0832
Error	77,94	10	7,79		
Total	166,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,50173

Error: 7,7936 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	5,92	3	1,61 A
C5	7,02	3	1,61 A
C2	7,17	3	1,61 A
A2B1	7,66	3	1,61 A
C1	12,83	3	1,61 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

**Anexo N° 38** Análisis de varianza de color en las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

DIA 1 L

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 L	15	0,57	0,39	10,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	120,07	4	30,02	3,26	0,0590
TRATAMIENTOS	120,07	4	30,02	3,26	0,0590
Error	92,07	10	9,21		
Total	212,14	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,15349

Error: 9,2066 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	24,91	3	1,75 A
C5	26,13	3	1,75 A
A2B1	26,39	3	1,75 A
C1	28,54	3	1,75 A
C2	32,93	3	1,75 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

DIA 1 A

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 A	15	0,35	0,08	7,92

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	16,68	4	4,17	1,32	0,3270
TRATAMIENTOS	16,68	4	4,17	1,32	0,3270
Error	31,55	10	3,16		
Total	48,23	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,77310

Error: 3,1551 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	20,99	3	1,03 A
C1	21,74	3	1,03 A
A1B1	22,44	3	1,03 A
C2	22,78	3	1,03 A
C5	24,13	3	1,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### DIA 1 B

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 B	15	0,69	0,57	15,86

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	91,09	4	22,77	5,60	0,0125
TRATAMIENTOS	91,09	4	22,77	5,60	0,0125
Error	40,68	10	4,07		
Total	131,77	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,41983

Error: 4,0680 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	9,51	3	1,16 A
A2B1	11,66	3	1,16 A B
C5	12,14	3	1,16 A B
C1	13,26	3	1,16 A B
C2	17,00	3	1,16 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### DIA 3 L

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 L	15	0,43	0,20	8,22

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	35,55	4	8,89	1,89	0,1881
TRATAMIENTOS	35,55	4	8,89	1,89	0,1881
Error	46,92	10	4,69		
Total	82,46	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,82036

Error: 4,6915 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	24,48	3	1,25 A
C5	25,23	3	1,25 A
C1	26,39	3	1,25 A
A2B1	26,72	3	1,25 A
C2	28,99	3	1,25 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### DIA 3 A

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 A	15	0,34	0,07	33,66

#### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	251,41	4	62,85	1,28	0,3396
TRATAMIENTOS	251,41	4	62,85	1,28	0,3396
Error	489,66	10	48,97		
Total	741,07	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=18,80351

Error: 48,9657 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	14,98	3	4,04 A
C5	16,82	3	4,04 A
C1	22,80	3	4,04 A
C2	24,43	3	4,04 A
A2B1	24,91	3	4,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### DIA 3 B

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 B	15	0,62	0,47	13,24

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	39,92	4	9,98	4,05	0,0332
TRATAMIENTOS	39,92	4	9,98	4,05	0,0332
Error	24,65	10	2,47		
Total	64,57	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,21893

Error: 2,4650 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B1	9,11	3	0,91 A
C5	11,22	3	0,91 A B
C1	12,22	3	0,91 A B
A2B1	12,80	3	0,91 A B
C2	13,93	3	0,91 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N°39** Análisis de varianza de acidez en las frutillas inoculadas con *Botrytis Cinerea* durante los días de almacenamiento.

### DIA 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,48	0,27	4,11

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	3,2E-03	2,27	0,1336
TRATAMIENTOS	0,01	4	3,2E-03	2,27	0,1336
Error	0,01	10	1,4E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10078

Error: 0,0014 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	0,86	3	0,02 A
A1B1	0,90	3	0,02 A
C2	0,92	3	0,02 A
C5	0,94	3	0,02 A
C1	0,94	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

### DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,40	0,16	5,85

### Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,02	4	4,1E-03	1,65	0,2369
TRATAMIENTOS	0,02	4	4,1E-03	1,65	0,2369
Error	0,02	10	2,5E-03		
Total	0,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13310

Error: 0,0025 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	0,79	3	0,03 A
C2	0,84	3	0,03 A
A1B1	0,87	3	0,03 A
C5	0,87	3	0,03 A
C1	0,88	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 5	15	0,27	0,00	5,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,1E-03	0,93	0,4868
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,1E-03	0,93	0,4868
Error	0,02	10	2,3E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12831

Error: 0,0023 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	0,76	3	0,03 A
C5	0,79	3	0,03 A
C1	0,80	3	0,03 A
A1B1	0,82	3	0,03 A
A2B1	0,83	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,11	0,00	7,97

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,9E-03	4	9,8E-04	0,30	0,8709
TRATAMIENTOS	3,9E-03	4	9,8E-04	0,30	0,8709
Error	0,03	10	3,2E-03		
Total	0,04	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15311

Error: 0,0032 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B1	0,69	3	0,03 A
C2	0,70	3	0,03 A
A1B1	0,72	3	0,03 A
C1	0,73	3	0,03 A
C5	0,74	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,16	0,00	11,28

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,3E-03	0,46	0,7633
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,3E-03	0,46	0,7633
Error	0,05	10	0,01		
Total	0,06	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,19165

Error: 0,0051 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C2	0,59	3	0,04 A
A2B1	0,63	3	0,04 A
C1	0,64	3	0,04 A
A1B1	0,64	3	0,04 A
C5	0,66	3	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N° 40** Análisis de varianza de pH en las frutillas inoculadas con *Rhizopus Stolonifer* durante los días de almacenamiento

**DIA 1**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
DIA 1	15	0,06	0,00	1,20	

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	8,9E-04	4	2,2E-04	0,15	0,9602
TRATAMIENTOS	8,9E-04	4	2,2E-04	0,15	0,9602
Error	0,02	10	1,5E-03		
Total	0,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10476

Error: 0,0015 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	3,25	3	0,02 A
C3	3,25	3	0,02 A
C6	3,26	3	0,02 A
A1B2	3,27	3	0,02 A
A2B2	3,27	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**DIA 3**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
DIA 3	15	0,02	0,00	2,08	

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,1E-03	4	2,8E-04	0,06	0,9913
TRATAMIENTOS	1,1E-03	4	2,8E-04	0,06	0,9913
Error	0,04	10	4,4E-03		
Total	0,05	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17919

Error: 0,0044 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	3,20	3	0,04 A
C3	3,21	3	0,04 A
C4	3,21	3	0,04 A
A2B2	3,21	3	0,04 A
A1B2	3,22	3	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**DIA 5**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Aj	CV
DIA 5	15	0,01	0,00	1,64	

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,1E-04	4	7,7E-05	0,03	0,9982
TRATAMIENTOS	3,1E-04	4	7,7E-05	0,03	0,9982
Error	0,03	10	2,7E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13980

Error: 0,0027 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	3,17	3	0,03 A
A2B2	3,18	3	0,03 A
C6	3,18	3	0,03 A
C3	3,18	3	0,03 A
A1B2	3,19	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,02	0,00	1,37

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,9E-04	4	7,3E-05	0,04	0,9965
TRATAMIENTOS	2,9E-04	4	7,3E-05	0,04	0,9965
Error	0,02	10	1,9E-03		
Total	0,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,11589

Error: 0,0019 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	3,13	3	0,02 A
C4	3,14	3	0,02 A
C3	3,14	3	0,02 A
A2B2	3,14	3	0,02 A
A1B2	3,15	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,15	0,00	1,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,3E-03	4	5,7E-04	0,45	0,7735
TRATAMIENTOS	2,3E-03	4	5,7E-04	0,45	0,7735
Error	0,01	10	1,3E-03		
Total	0,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,09639

Error: 0,0013 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	3,09	3	0,02 A
C6	3,10	3	0,02 A
C3	3,10	3	0,02 A
A2B2	3,11	3	0,02 A
A1B2	3,12	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N° 41** Análisis de varianza de Solidos Solubles en las frutillas inoculadas con *Rhizopus Stolonifer* durante los días de almacenamiento

DIA 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,95	0,93	2,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,42	4	0,36	46,47	<0,0001
TRATAMIENTOS	1,42	4	0,36	46,47	<0,0001
Error	0,08	10	0,01		
Total	1,50	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23518

Error: 0,0077 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C3	3,20	3	0,05 A
C6	3,22	3	0,05 A
C4	3,24	3	0,05 A
A2B2	3,81	3	0,05 B
A1B2	3,89	3	0,05 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,10	0,00	2,98

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,6E-03	0,28	0,8820
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,6E-03	0,28	0,8820
Error	0,09	10	0,01		
Total	0,10	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,25942

Error: 0,0093 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B2	3,20	3	0,06 A
C3	3,21	3	0,06 A
C4	3,25	3	0,06 A
A1B2	3,26	3	0,06 A
C6	3,26	3	0,06 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 5	15	0,68	0,55	2,68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,16	4	0,04	5,28	0,0151
TRATAMIENTOS	0,16	4	0,04	5,28	0,0151
Error	0,08	10	0,01		
Total	0,23	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23333

Error: 0,0075 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B2	3,16	3	0,05 A
A1B2	3,18	3	0,05 A
C4	3,21	3	0,05 A B
C3	3,24	3	0,05 A B
C6	3,44	3	0,05 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,45	0,23	2,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,04	4	0,01	2,02	0,1668
TRATAMIENTOS	0,04	4	0,01	2,02	0,1668
Error	0,05	10	0,01		
Total	0,09	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,19052

Error: 0,0050 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B2	3,09	3	0,04 A
C4	3,11	3	0,04 A
A1B2	3,14	3	0,04 A
C3	3,21	3	0,04 A
C6	3,23	3	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,74	0,63	1,32

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,05	4	0,01	7,00	0,0059
TRATAMIENTOS	0,05	4	0,01	7,00	0,0059
Error	0,02	10	1,6E-03		
Total	0,06	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10904

Error: 0,0016 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
C4	3,00	3	0,02	A
A2B2	3,02	3	0,02	A
A1B2	3,06	3	0,02	A B
C3	3,10	3	0,02	A B
C6	3,15	3	0,02	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Tabla N° 42** Análisis de varianza de pérdida de peso en las frutillas inoculadas con *Rhizopus Stolonifer* durante los días de almacenamiento

DIA 1-3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-3	15	0,68	0,55	49,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	91,18	4	22,80	5,29	0,0149
TRATAMIENTOS	91,18	4	22,80	5,29	0,0149
Error	43,06	10	4,31		
Total	134,24	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,57605

Error: 4,3059 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
C4	1,80	3	1,20	A
A1B2	2,56	3	1,20	A
A2B2	2,79	3	1,20	A
C3	5,24	3	1,20	A B
C6	8,55	3	1,20	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 1-5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-5	15	0,68	0,55	38,47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	161,13	4	40,28	5,22	0,0156
TRATAMIENTOS	161,13	4	40,28	5,22	0,0156
Error	77,23	10	7,72		
Total	238,36	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,46793

Error: 7,7235 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
A2B2	3,90	3	1,60	A
C4	5,22	3	1,60	A
A1B2	5,52	3	1,60	A
C3	8,38	3	1,60	A B
C6	13,09	3	1,60	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 1-7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-7	15	0,79	0,70	36,23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	552,12	4	138,03	9,14	0,0022
TRATAMIENTOS	552,12	4	138,03	9,14	0,0022
Error	150,96	10	15,10		
Total	703,07	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=10,44047

Error: 15,0957 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B2	5,19	3	2,24 A
C4	6,69	3	2,24 A
A1B2	7,73	3	2,24 A
C3	12,03	3	2,24 A B
C6	21,97	3	2,24 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 1-9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1-9	15	0,75	0,65	40,35

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	775,24	4	193,81	7,50	0,0046
TRATAMIENTOS	775,24	4	193,81	7,50	0,0046
Error	258,47	10	25,85		
Total	1033,71	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=13,66154

Error: 25,8472 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A2B2	6,27	3	2,94 A
C4	8,92	3	2,94 A
A1B2	9,55	3	2,94 A
C3	11,72	3	2,94 A
C6	26,55	3	2,94 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N° 43** Análisis de varianza de Textura en las frutillas inoculadas con *Rhizopus Stolonifer* durante los días de almacenamiento

DIA 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,66	0,52	11,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,50	4	0,13	4,82	0,0199
TRATAMIENTOS	0,50	4	0,13	4,82	0,0199
Error	0,26	10	0,03		
Total	0,76	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,43390

Error: 0,0261 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	1,14	3	0,09 A
C6	1,41	3	0,09 A B
C3	1,47	3	0,09 A B
A1B2	1,50	3	0,09 A B
A2B2	1,71	3	0,09 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,23	0,00	25,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,17	4	0,04	0,76	0,5763
TRATAMIENTOS	0,17	4	0,04	0,76	0,5763
Error	0,56	10	0,06		
Total	0,72	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,63305

Error: 0,0555 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	0,84	3	0,14 A
C4	0,88	3	0,14 A
A1B2	0,91	3	0,14 A
C3	0,91	3	0,14 A
A2B2	1,14	3	0,14 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Anexo N° 44** Análisis de varianza de Color en las frutillas inoculadas con *Rhizopus Stolonifer* durante los días de almacenamiento

DIA 1 L

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 L	15	0,16	0,00	11,56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15,37	4	3,84	0,46	0,7636
TRATAMIENTOS	15,37	4	3,84	0,46	0,7636
Error	83,51	10	8,35		
Total	98,88	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,76534

Error: 8,3509 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	23,49	3	1,67 A
C6	24,33	3	1,67 A
C3	25,02	3	1,67 A
A2B2	25,90	3	1,67 A
A1B2	26,26	3	1,67 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

DIA 1 A

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 A	14	0,42	0,16	14,67

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	46,89	4	11,72	1,62	0,2507
TRATAMIENTOS	46,89	4	11,72	1,62	0,2507
Error	65,03	9	7,23		
Total	111,93	13			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,74061

Error: 7,2261 gl: 9

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	15,13	3	1,55 A
C4	17,85	3	1,55 A
A2B2	19,58	3	1,55 A
C3	19,60	2	1,90 A
A1B2	19,92	3	1,55 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

DIA 1 B

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1 B	15	0,10	0,00	14,73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,40	4	0,85	0,28	0,8814
TRATAMIENTOS	3,40	4	0,85	0,28	0,8814
Error	29,85	10	2,99		
Total	33,25	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,64278

Error: 2,9852 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	10,95	3	1,00 A
A1B2	11,60	3	1,00 A
C4	11,69	3	1,00 A
A2B2	12,06	3	1,00 A
C3	12,35	3	1,00 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3 L

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 L	15	0,23	0,00	6,82

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	10,01	4	2,50	0,74	0,5887
TRATAMIENTOS	10,01	4	2,50	0,74	0,5887
Error	34,04	10	3,40		
Total	44,05	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,95801

Error: 3,4043 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	25,97	3	1,07 A
A2B2	26,38	3	1,07 A
C4	27,11	3	1,07 A
A1B2	27,50	3	1,07 A
C3	28,28	3	1,07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3 A

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 A	15	0,21	0,00	15,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	28,98	4	7,24	0,65	0,6412
TRATAMIENTOS	28,98	4	7,24	0,65	0,6412
Error	111,87	10	11,19		
Total	140,85	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=8,98764

Error: 11,1868 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
A1B2	20,31	3	1,93 A
C3	20,97	3	1,93 A
C4	22,25	3	1,93 A
C6	23,55	3	1,93 A
A2B2	23,85	3	1,93 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3 B

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3 B	15	0,13	0,00	12,30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3,08	4	0,77	0,36	0,8332
TRATAMIENTOS	3,08	4	0,77	0,36	0,8332
Error	21,52	10	2,15		
Total	24,59	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,94153

Error: 2,1515 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	11,08	3	0,85 A
A1B2	11,83	3	0,85 A
C3	12,17	3	0,85 A
C4	12,20	3	0,85 A
A2B2	12,34	3	0,85 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

**Anexo N° 45 Análisis de varianza de Acidez en las frutillas durante los días de almacenamiento**

DIA 1

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 1	15	0,35	0,09	4,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,1E-03	1,36	0,3158
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,1E-03	1,36	0,3158
Error	0,02	10	1,6E-03		
Total	0,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,10681

Error: 0,0016 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	0,88	3	0,02 A
C4	0,88	3	0,02 A
C3	0,89	3	0,02 A
A1B2	0,93	3	0,02 A
A2B2	0,94	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 3

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 3	15	0,19	0,00	6,09

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	1,5E-03	0,58	0,6831
TRATAMIENTOS	0,01	4	1,5E-03	0,58	0,6831
Error	0,03	10	2,6E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13754

Error: 0,0026 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C6	0,82	3	0,03 A
C4	0,82	3	0,03 A
C3	0,83	3	0,03 A
A2B2	0,86	3	0,03 A
A1B2	0,87	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 5

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 5	15	0,22	0,00	8,19

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	2,8E-03	0,69	0,6154
TRATAMIENTOS	0,01	4	2,8E-03	0,69	0,6154
Error	0,04	10	4,0E-03		
Total	0,05	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16995

Error: 0,0040 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	0,73	3	0,04 A
C3	0,75	3	0,04 A
A2B2	0,78	3	0,04 A
C6	0,78	3	0,04 A
AlB2	0,81	3	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 7

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 7	15	0,20	0,00	7,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	1,6E-03	0,63	0,6529
TRATAMIENTOS	0,01	4	1,6E-03	0,63	0,6529
Error	0,03	10	2,5E-03		
Total	0,03	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13454

Error: 0,0025 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	0,68	3	0,03 A
C3	0,69	3	0,03 A
C6	0,70	3	0,03 A
A2B2	0,72	3	0,03 A
AlB2	0,73	3	0,03 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

DIA 9

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
DIA 9	15	0,36	0,10	5,65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	4	1,8E-03	1,38	0,3087
TRATAMIENTOS	0,01	4	1,8E-03	1,38	0,3087
Error	0,01	10	1,3E-03		
Total	0,02	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,09689

Error: 0,0013 gl: 10

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
C4	0,60	3	0,02 A
C6	0,63	3	0,02 A
C3	0,64	3	0,02 A
A2B2	0,65	3	0,02 A
AlB2	0,67	3	0,02 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)