



**Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí**

**Facultad Ciencias de la Vida y Tecnologías**

**Segunda Cohorte de Maestría en Agroindustria, Mención en Gestión de Calidad y**

**Seguridad Alimentaria**

**Programa de Posgrado**

**Tema**

**Determinación de la capacidad bioactiva de un recubrimiento comestible a base de  
proteína láctea y nisina en la frutilla (*Fragaria ananassa*)**

**Autor**

**Tania Fernanda Oña Cundulle**

**Tutor**

**Ing. Yessenia García Montes MS.c**

**Manta – Manabí – Ecuador**

**2022**

## Aprobación por parte del tribunal de post grado



*Maestría en Agroindustria con Mención en Gestión de  
Calidad y Seguridad Alimentaria  
Cohorte II  
Facultad de Ciencias Agropecuarias*

Oficio. N°. Uleam FXG-P-F-0015  
Manta 19 de julio 2022

Ingeniera.

OÑA CUNDULLE TANIA FERNANDA

**Maestrante del Programa Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de  
Calidad y Seguridad Alimentaria, cohorte II.**

Ciudad.-

De mi consideración:

En respuesta a la solicitud de aprobación de su proyecto de titulación y designación de su tutor, me permito informarle que, en sesión de la Comisión Académica del Programa de **Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de Calidad y Seguridad Alimentaria**, cohorte II en sesión DPCRI-MAMGCSA-CS-005-2022 realizada con fecha 6/7/2022 conoció y resolvió aprobar el tema propuesto:

**“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOACTIVA DE UN  
RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE PROTEÍNA LÁCTEA Y NISINA  
EN LA FRUTILLA (FRAGARIA ANANASSA)”**

De conformidad a las atribuciones determinadas por el art. 14 literal a) del Reglamento Reformatorio y Sustitutivo del Reglamento General de los Programas de Postgrado, se designó en la misma sesión al Ing. **Yessenia García**, como **TUTOR** de su trabajo de titulación, quién coordinará una planificación acorde con los reglamentos internos, para concluir su trabajo con éxito.

Particular que informo para los fines legales pertinentes, a la vez que detallo información del tutor designado.

Correo electrónico: yessenia.garcia@uleam.edu.ec

Número Móvil:

Atentamente,



Firmado digitalmente por:  
**CHRISTIAN SIMON  
RIVADENEIRA  
BARCIA**

Ing. Christian Simón Rivadeneira Barcia Mg.

**Coordinador Académico Maestría en Agroindustria con mención en Gestión de  
Calidad y Seguridad Alimentaria**

### **Declaración de autoría**

Yo, Oña Cundulle Tania Fernanda, con C.I. 0503715740, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría, y que los resultados de este son auténticos originales y personales, los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

A handwritten signature in blue ink on a yellow rectangular background. The signature is stylized and appears to be 'Tania Fernanda Oña Cundulle'. There are some faint markings and a small 'NF' visible within the signature.

Tania Fernanda Oña Cundulle

C.I. 0503715740

### **Agradecimiento**

Agradezco a Dios y a mi familia porque gracias a ellos he podido cumplir con este logro tan grande en mi vida, quiero brindarle mis más grandes agradecimientos por todo lo que me han dado y por lo que ahora soy.

### **Dedicatoria**

A mis padres, por sus sacrificios e incondicional apoyo y consejos, que me brindaron durante cada etapa de mi estudio de posgrado.

## Índice

Resumen .....	11
Abstract.....	12
Capítulo I .....	13
1. Introducción .....	13
1.1. Planteamiento del problema .....	15
1.2. Justificación .....	16
1.3. Hipótesis.....	16
1.4. Objetivos.....	17
1.4.1. Objetivo general.....	17
1.4.2. Objetivos específicos.....	17
Capitulo II.....	17
2. Marco Teórico .....	17
2.1. Recubrimiento comestible.....	17
2.2. Capacidad bioactiva de los alimentos .....	18
2.3. Proteína láctea en recubrimientos comestibles .....	19
2.4. Nisina como ingrediente en recubrimientos comestibles.....	21
2.5. Frutilla ( <i>Fragaria ananassa</i> ) .....	21
Capitulo III.....	22
3. Metodología.....	22
3.1. Ubicación, tipo y diseño de la investigación .....	22
3.1.1. Ubicación de la investigación.....	22
3.1.2. Tipo de investigación .....	22

3.1.3.	Diseño de la investigación .....	22
3.1.4.	Fuentes de la recopilación de la información .....	23
3.2.	Esquema de análisis de varianza.....	23
3.3.	Tratamientos.....	23
3.4.	Modelo matemático.....	24
3.5.	Instrumentos de investigación.....	24
3.6.	Manejo del experimento.....	25
3.6.1.	Selección y separación de las frutillas.....	25
3.6.2.	Obtención del recubrimiento comestible .....	25
3.6.3.	Aplicación del recubrimiento comestible en las frutillas .....	28
3.7.	Medición de variables .....	29
3.7.1.	Mediciones de variables fisicoquímicas .....	29
3.7.1.1.	Grados Brix .....	30
3.7.1.2.	pH .....	30
3.7.1.3.	Acidez titulable .....	30
3.7.1.4.	Índice de madurez.....	31
3.7.2.	Variables microbiológicas medidas al mejor tratamiento .....	31
3.7.3.	Polifenoles Totales medidos al mejor tratamiento.....	31
3.7.4.	Análisis sensorial realizado al mejor tratamiento.....	31
Capítulo IV	.....	32
4.	Resultados y discusión .....	32
4.1.	Formulación óptima para alargar la vida útil de las frutillas .....	32
4.2.	Análisis fisicoquímicos .....	35

4.2.1.	Grados Brix (°Bx).....	36
4.2.2.	Potencial de hidrógeno (pH) .....	38
4.2.3.	Acidez titulable.....	40
4.2.4.	Índice de madurez .....	42
4.3.	Contenido total de polifenoles .....	44
4.4.	Análisis microbiológico .....	45
4.5.	Análisis sensorial.....	45
4.5.1.	Color.....	46
4.5.2.	Aroma.....	47
4.5.3.	Sabor.....	48
4.5.4.	Aceptabilidad .....	49
Capítulo V	.....	50
5.	Conclusiones y recomendaciones.....	50
5.1.	Conclusiones .....	50
5.2.	Recomendaciones .....	51
Capítulo VI	.....	52
6.	Referencias y anexos .....	52
6.1.	Referencias.....	52
6.2.	Anexos.....	61



## Índice de tablas

—	
<b>Tabla 1</b> Aplicaciones alimentarias de películas y recubrimientos comestibles a base de proteína de leche .....	20
<b>Tabla 2</b> Esquema del ADEVA .....	23
<b>Tabla 3</b> Esquema experimental que se realizó en la investigación.....	24
<b>Tabla 4</b> Formulación establecida para cada tratamiento .....	28
<b>Tabla 5</b> Variables medidas durante cada día de tratamiento.....	29
<b>Tabla 6</b> Evolución de °Bx, pH, acidez e índice de madurez en la frutilla con recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina .....	34
<b>Tabla 7</b> Resultados del atributo de las frutillas respecto al color de los 3 tratamientos evaluados .....	47
<b>Tabla 8</b> Resultados del atributo de las frutillas respecto al aroma de los 3 tratamientos evaluados .....	48
<b>Tabla 9</b> Resultados del atributo de las frutillas respecto al sabor de los 3 tratamientos evaluados .....	49
<b>Tabla 10</b> Resultados del atributo de las frutillas respecto a la aceptabilidad de los 3 tratamientos evaluados .....	50

## Índice de figuras

<b>Figura 1:</b> Diagrama de flujo para la obtención del recubrimiento comestible .....	27
<b>Figura 2:</b> Variación de los °Bx de la frutilla en el tiempo al aplicar un recubrimiento comestible con adición de 2 % de nisina (tratamiento 3).....	36
<b>Figura 3:</b> Medida de grados brix para cada día de cada tratamiento .....	37
<b>Figura 4:</b> Variación de pH de la frutilla en el tiempo al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de nisina (tratamiento 3) .....	38
<b>Figura 5:</b> Medida de pH para cada día de cada tratamiento .....	38
<b>Figura 6:</b> Variación de acidez en la frutilla al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de Nisina (tratamiento 3).....	40
<b>Figura 7:</b> Medida de acidez para cada día de cada tratamiento .....	41
<b>Figura 8:</b> Variación de acidez en la frutilla en el tiempo al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de Nisina (tratamiento 3). .....	42
<b>Figura 9:</b> Índice de madurez para cada día de cada tratamiento .....	42
<b>Figura 10:</b> Diagrama radial de resultados sensoriales obtenidos en los 3 tratamientos. ....	46

## Resumen

Los recubrimientos comestibles resultan una alternativa al buscar prolongar la vida de anaquel de algunos alimentos. Usualmente se proponen ingredientes biodegradables, como lo es la proteína de suero de leche, que, en combinación con la nisina, ingrediente bactericida, permitiría prolongar la vida útil de frutas como la frutilla, misma que se caracteriza por tener una vida de anaquel muy corta. Esta investigación obtuvo la formulación adecuada de un recubrimiento compuesto por proteína láctea y nisina para alargar la vida útil de la frutilla, esto se evaluará analizando los parámetros fisicoquímicos y sensoriales de la fruta. De acuerdo con los resultados obtenidos la formulación más adecuada que permitió alargar la vida útil de la frutilla fue la utilización de 8 % de proteína láctea y 2 % de nisina (tratamiento 3), esta formulación permitió que en 7 días los parámetros fisicoquímicos no se alteraran drásticamente como ocurrió en el tratamiento control. Los parámetros de pH, °Brix, acidez e índice de madurez en el día de senescencia fueron de 9.6, 4.71, 0.51, y 9.53 respectivamente para el tratamiento control a los 2 días; para el tratamiento 3 fueron de 7.67, 4.34, 0.71 y 10.83 respectivamente al día 7. En adición, el análisis sensorial demostró que no hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos y se concluyó que las características organolépticas de la frutilla no se vieron alteradas por la presencia del recubrimiento comestible, mientras que la vida de anaquel de la fruta se logró extender.

**Palabras clave:** Recubrimiento comestible, nisina, vida útil, característica sensorial, frutilla

### Abstract

Edible coatings are an alternative when seeking to prolong the shelf life of some foods. Biodegradable ingredients are usually proposed, such as whey protein, which, in combination with nisin, a bactericidal ingredient, would allow prolonging the shelf life of fruits such as strawberries, which are characterized by having a very short shelf life. This research seeks to obtain the adequate formulation of a coating composed of milk protein and nisin to extend the shelf life of the strawberry, this will be evaluated by analyzing the physicochemical and sensory parameters of the fruit. According to the results obtained, the most suitable formulation that allowed to extend the shelf life of the strawberry was the use of 8% milk protein and 2% nisin (treatment 3). This formulation allowed that in 7 days the physicochemical parameters were not drastically altered as occurred in the control treatment. The parameters of pH, °Brix, acidity, and maturity index on the day of senescence were 9.6, 4.71, 0.51, and 9.53, respectively, for the control treatment at 2 days; for treatment 3 they were 7.67, 4.34, 0.71 and 10.83 respectively on day 7. In addition, the sensory analysis showed that there was no significant difference ( $p>0.05$ ) between the treatments, and it was concluded that the organoleptic characteristics of the strawberry were not altered by the presence of the edible coating, while the shelf life of the fruit was able to extend.

**Keywords:** Edible coating, nisin, shelf life, sensory characteristic, strawberry

## Capítulo I

### 1. Introducción

La necesidad de nuevas prácticas que busquen la sustentabilidad del ecosistema a través del desarrollo de recubrimientos que no afecten la calidad de los alimentos, es un factor indispensable en el sector alimentario (Tahir et al. 2019). Fernández *et al.* (2015) afirman que el creciente interés de los consumidores hacia productos naturales y nutritivos que ayuden a mejorar el bienestar del consumidor ha orientado y motivado investigaciones hacia el desarrollo de películas y recubrimientos comestibles como una alternativa para cumplir estas necesidades.

Existen diversos trabajos investigativos que destacan la funcionalidad de los recubrimientos comestibles en beneficio de la conservación de alimentos (Fernández et al. 2015, Tahir et al. 2019, López et al. 2016). Además, presentan la facilidad de poder agregar a su formulación, agentes antimicrobianos que brindan estabilidad microbiológica al alimento, convirtiéndose en una alternativa viable para el desarrollo de productos alimenticios mínimamente procesados (Davidson et al. 2013); así como disminuir los riesgos para la salud y las pérdidas económicas ocasionadas debido a la contaminación generada por microorganismos (Pisoschi et al. 2018).

Tahir *et al.* (2019) en una revisión bibliográfica, resaltaron el uso de polisacáridos sobre la extensión de la vida útil postcosecha y la preservación de la calidad de frutas y verduras. Los autores indicaron que las gomas se han utilizado como excelentes vehículos de sustancias activas, controlando también la velocidad de difusión de estas y mejorando el control de la maduración de frutas y hortalizas. Además, extractos de plantas, aceites esenciales, compuestos fenólicos, y las vitaminas se pueden incorporar en recubrimientos comestibles de polisacáridos con el fin de mejorar sus propiedades de barrera, propiedades antioxidantes y antimicrobianas.

Por su parte, López *et al.* (2016), desarrollaron un recubrimiento comestible a base de concentrado de proteínas de lactosuero y cera de abeja en dos condiciones de

almacenamiento: ambiente ( $17 \pm 2^\circ\text{C}$  y HR: 69%) y refrigeración ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$  y HR: 66%) durante 15 días. Se evidenció que la temperatura de almacenamiento influye en la variación de acidez, mientras que para pH no existió diferencia significativa. De igual forma, evitó la reducción de los sólidos solubles en un 3.76% a condiciones del ambiente y en un 2.27% a condiciones de refrigeración. Para el índice de madurez no hubo cambios significativos y la firmeza se mantuvo, excepto el tratamiento ambiente sin recubrimiento, este presentó una pérdida de firmeza del 12.04% con respecto al tratamiento ambiente con recubrimiento.

Con los datos mencionados se puede inferir que la utilización de recubrimientos comestibles resulta una alternativa viable con la finalidad de prolongar la vida de anaquel de diversos alimentos; sin que esto afecte las propiedades organolépticas de los mismos. Anaya-Esparza *et al.* (2020) afirman que actualmente se procura que el desarrollo y aplicación de este tipo de recubrimientos, sean seguros, biodegradables y con adecuadas propiedades tecnológicas y funcionales. La utilización de proteína láctea resulta interesante para la funcionalidad de estos, debido a que presenta carbohidratos y proteínas de buena calidad, lo que lo convierte en un medio adecuado para el desarrollo de bacterias, tales como las bacterias ácido-lácticas (BAL), las cuales se utilizan como agentes antibacterianos (Santos-Vázquez *et al.* 2020).

Dentro de estas bacterias está la nisina, la única bacteriocina aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como conservante en la industria alimentaria. Molecularmente, es un péptido de 34 aminoácidos con un peso molecular inferior a 5 kDa, producido por ciertas cepas de *Lactococcus lactis* (Sierra *et al.* 2013); eficaz para controlar el crecimiento microbiológico (Wang *et al.* 2015). La Nisina se mantiene estable a pH ácido teniendo su máxima solubilidad y estabilidad a un pH de 2.0, mientras que a un pH de 7.0 es irreversiblemente estable. Sus propiedades fisicoquímicas la hacen resistente a los tratamientos térmicos y cambios de pH que sufren los alimentos durante las etapas de proceso o en el almacenamiento (Cano-Serna *et al.* 2015).

### 1.1. Planteamiento del problema

Actualmente en la industria alimentaria se ha dado un creciente interés por el uso de polímeros biodegradables en la elaboración de envases alimentarios debido a temas de contaminación y afectación ambiental que generan los envases plásticos a base de polietileno. Sumado a esto, están las pérdidas en distintas frutas ya sea por plagas (Solano-Doblado et al. 2018), o durante las actividades de manipuleo, almacenamiento, envasado o procesamiento postcosecha (Singh y Sharma 2018, Erazo y Salazar 2020) incidiendo de manera significativa sobre las características de calidad, afectando directamente en la rentabilidad de los productores (Fernández et al. 2017).

Se ha estimado que las pérdidas postcosecha a nivel mundial de frutas y hortalizas se situaron entre el 30 y 50 % de la producción total (Porat et al. 2018, Singh y Sharma 2018). Enfocados en la frutilla se estima que las pérdidas postcosechas por ataques de enfermedades fúngicas alcanzan el 50 % (Azam et al. 2019). Si bien se han desarrollado tecnologías que son eficaces para la conservación de las frutas, presentan limitaciones como altos costes, pérdida de propiedades organolépticas, cambios en la composición nutricional de los alimentos, aspectos relacionados con la seguridad alimentaria, entre otros (Peña 2020).

En adición, Azam et al. (2019) mencionan que las frutillas son consideradas como una de las frutas más perecederas, debido a su alta tasa de respiración, ablandamiento de los tejidos, pérdida de agua, susceptibilidad a daños físicos e infecciones por hongos. Es por esto, que una de las principales recomendaciones para alargar la vida útil de las frutillas es controlar los factores físicos de conservación como son la temperatura y la humedad del medio.

La frutilla representa un cultivo de importancia económica para el país (Garcés 2021), alcanzando una producción de 789 toneladas, según informa la Organización de las Naciones Unidas (FAO 2021). Bajo este contexto, se plantea la alternativa de utilizar un

recubrimiento comestible a base de proteína láctea y agente antimicrobiano para la conservación de la frutilla.

### **1.2. Justificación**

Los recubrimientos y películas obtenidos de proteínas son transparentes y flexibles con buenas propiedades mecánicas (González 2015), además de extender el tiempo de almacenamiento y mejorar el aspecto de alimentos (Dehghani et al. 2018). En el proceso de obtención de estos recubrimientos, se pueden añadir sustancias o agentes antimicrobianos como las bacterias ácido lácticas, para resaltar más la funcionalidad de estos. Dichos agentes sirven de barrera contra la humedad e intercambio gaseoso y proporcionen brillo a la fruta (Kumar y Bhatnagar 2017).

Es importante señalar que las propiedades funcionales de los recubrimientos y películas comestibles son el resultado directo de la materia prima utilizada en su fabricación, que debe obtenerse de fuentes naturales para garantizar la biodegradabilidad; por tal razón, los recubrimientos basados en proteínas son excelentes barreras frente al O<sub>2</sub>, sus propiedades mecánicas mejoran considerablemente mediante la adición de un agente plastificante, como el glicerol, utilizado generalmente para mejorar la flexibilidad (Chiumarelli y Hubinger 2014).

El uso y manejo de biopelículas y recubrimientos comestibles sobre productos alimenticios no es un tratamiento innovador ya que se realiza desde hace años, con el propósito de suplir los tradicionales envases considerados contaminantes y perjudiciales para el consumidor; por lo tanto, se convierte en una de las alternativas con más futuro en el campo del envasado y conservación de alimentos (Han 2014).

### **1.3. Hipótesis**

Las hipótesis por contrastar en la siguiente investigación serán:

H<sub>0</sub>: No existe capacidad bioactiva del recubrimiento comestible a base de proteína láctea y Nisina aplicado en la frutilla.



Ha: Existe capacidad bioactiva del recubrimiento comestible a base de proteína láctea y Nisina aplicado en la frutilla.

#### **1.4. Objetivos**

##### **1.4.1. Objetivo general**

Determinar la capacidad bioactiva de un recubrimiento comestible a base de proteína láctea y bacterias ácido-lácticas aplicado en frutilla (*Fragaria ananassa*).

##### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Establecer la formulación idónea para la obtención de un revestimiento comestible
- Determinar las características fisicoquímicas de la frutilla con recubrimiento comestible.
- Identificar el contenido de polifenoles totales de la frutilla en el mejor tratamiento.
- Realizar análisis microbiológico y sensorial del mejor tratamiento.

## **Capítulo II**

### **2. Marco Teórico**

#### **2.1. Recubrimiento comestible**

Las películas o recubrimiento comestibles han existido y se han utilizado durante siglos, el primer reporte de su utilización fue el uso de ceras en ciertas frutas; esta práctica fue realizada por ciudadanos chinos para minimizar la pérdida de agua (Janes y Dai 2012). En adición, la creciente demanda de los mercados por productos alimenticios de calidad y frescos, como también, por empaques amigables con el medio ambiente han dado pie al desarrollo e incremento de la investigación y aplicación de películas comestibles (Han 2014). Los recubrimientos comestibles son una capa delgada de material que recubre o envuelve un producto alimenticio con el objetivo de que actúe como una barrera para el entorno que rodea el alimento, a los mismos se les puede añadir productos antimicrobianos, antioxidantes, enzimas minerales o vitaminas (Janes y Dai 2012).

Los recubrimientos comestibles tienen la característica de extender la vida de anaquel de los productos alimenticios y, en algunos casos, mejorar la calidad del alimento controlando la transferencia de masa entre el medio ambiente y los alimentos y también entre varios componentes dentro del producto alimenticio. También, las películas comestibles tienen un gran potencial para mejorar la calidad de los alimentos al restringir la migración de humedad, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, lípidos, colores y sabores entre los componentes de los alimentos, transportar los ingredientes de los alimentos y/o mejorar las características mecánicas y reológicas (Shendurse et al. 2018).

## **2.2. Capacidad bioactiva de los alimentos**

Los compuestos bioactivos alimentarios son constituyentes extra nutricionales que normalmente se encuentran en pequeñas cantidades en diversos alimentos como cereales, frutos secos, aceites, frutas y verduras. Numerosos compuestos bioactivos han demostrado tener efectos beneficiosos para la salud del consumidor (Román-Gutiérrez et al. 2022).

Entre los efectos que ofrecen estos elementos se mencionan propiedades antiinflamatorias, antidiabéticas, antioxidantes y anticancerígenas, por la participación en funciones importantes del metabolismo enzimático (Román-Gutiérrez et al. 2022). Los compuestos bioactivos son de diferentes tipos y funciones y se diferencian según sus componentes, estructura química, distribución en determinados órganos, concentración, sitio de acción, efectividad y especificidad en la acción biológica que realizan. Entre los compuestos más conocidos y estudiados se encuentran los compuestos fenólicos, péptidos bioactivos, carotenoides, tocoferoles, fitoesteroles y compuestos orgánicos sulfurados (Shrinet et al. 2021).

Para establecer recomendaciones dietéticas es necesario realizar mucha más investigación de la que ya se ha realizado, pero si existe evidencia suficiente para recomendar que la dieta de las personas debe buscar alimentos ricos en componentes bioactivos. De acuerdo con un artículo escrito por Teodoro (2019) detalla varias de las

ventajas que brindan los compuestos bioactivos y entre ellos destaca los efectos mencionados anteriormente.

### **2.3. Proteína láctea en recubrimientos comestibles**

Las películas comestibles son generalmente sintetizadas con proteínas, lípidos y polisacáridos que son utilizados de forma singular o realizando mezclas, un producto que ha demostrado ser excelente para la preparación de las películas o recubrimientos comestibles son las proteínas provenientes de la leche. Las proteínas lácteas son de naturaleza más nutritiva si se compara con muchas otras fuentes de proteína alimentaria; además, brindan muchas características físicas importantes para el comportamiento deseado de las películas, un ejemplo es su capacidad de actuar como emulsionante y dar solubilidad en el agua (Shendurse et al. 2018).

El contenido total de la proteína láctea consiste en 80 % de caseína y 20 % de proteínas del suero. Los principales componentes de la caseína son  $\alpha_1$ -,  $\alpha_2$ -,  $\beta$ -,  $\kappa$ -caseína y en menor proporción  $\gamma$ -caseína y la distribución de estas es de un 38, 10, 36, 13 y 3 % respectivamente. Por otra parte, las proteínas del suero se dividen en cinco fracciones,  $\alpha$ -lactoalbúmina,  $\beta$ -lactoglobulina, albúmina de suero bovino, inmunoglobulina y peptona de proteosa; la distribución teórica en composición es 20, 52, 7, 12 y 9 % respectivamente. Estas proteínas del suero son globulares y son solubles a un pH de 4.6 (Fox et al. 2015).

En la tabla 1 se detalla algunas de las aplicaciones de las proteínas de leche utilizadas en la formación de películas y recubrimientos comestibles y la función que realizan en el alimento que fueron utilizados.

**Tabla 1**

Aplicaciones alimentarias de películas y recubrimientos comestibles a base de proteína de leche.

Proteínas de leche utilizadas en la formación de películas comestibles	Función realizada	Alimento aplicado
Caseína- Monoglicérido acetilado	Reduce la pérdida de humedad	Pescado congelado
Caseína-ácido esteárico	Retención de humedad	Zanahorias peladas
Caseína- Monoglicérido acetilado	Barrera contra la humedad	Tallos de apio
Caseinato de sodio	Reduce la pérdida de agua	Cerezas
Caseinato de calcio	Previene el pardeamiento oxidativo	Rodajas de papa
	Reduce la pérdida de humedad	Zanahorias cortadas
	Reduce el pardeamiento	Papas cortadas
	Reduce la migración de aceite	Maní
Caseinato de potasio–caseína de cuajo	Mejora las propiedades sensoriales	Filetes congelados de pescado
Aislados de proteína de suero	Reduce respiración	Manzana
	Reduce pérdida de peso	Espárrago
	Reduce rehidratación	Piezas de fresas
	Reduce ranciedad	Maní tostado y nueces
	Barrera contra la humedad	Cereales y pasas
	Microencapsulación	Grasa de la leche
	Reduce absorción de grasa durante fritura	Mezcla de pastelería
	Reduce pérdidas mecánicas	Dados de pollo deshidratado
Aislados de proteína de suero - monoglicérido acetilado	Reduce ranciedad y Reduce la pérdida de humedad	Salmón congelado
Concentrados de proteína de suero- Cera de abeja	Reduce el oscurecimiento y reduce la pérdida de peso	Caqui cortado
	Reduce el pardeamiento enzimático	Rodajas de manzana

Fuente: Tomado de Fox *et al.* (2015).

#### **2.4. Nisina como ingrediente en recubrimientos comestibles**

Las bacterias ácido-lácticas se han utilizado, actualmente, como un nuevo conservante biológico debido a los efectos probióticos y actividad antibacteriana que presenta. Además, la subespecie *Lactococcus lactis* puede producir nisina, una bacteriocina que ha sido aprobada para ser utilizada como aditivo alimentario. La nisina ha llamado la atención de muchos científicos, especialmente, por sus propiedades bactericidas contra las bacterias gram positivas. No obstante, las bacterias ácido-lácticas han demostrado una baja tasa de supervivencia durante el proceso de transformación de alimentos como tratamientos mecánicos, procesos térmicos, transporte, almacenamiento, exposición al oxígeno, o su paso por el tracto intestinal (Lan et al. 2021). Moumita *et al.* (2017) aseguran que tener una alta tasa de supervivencia de la bacteria es vital para que la misma cumpla la función dentro del organismo. Para esto se ha demostrado en algunos artículos de investigación, que los recubrimientos comestibles son componentes importantes que pueden mantener la actividad de las bacterias ácido-lácticas y permitir el uso óptimo de sus deseados efectos fisiológicos (Lan et al. 2021).

#### **2.5. Frutilla (*Fragaria ananassa*)**

En Ecuador la producción de frutilla se realiza en zonas con una altura de 1300 a 3600 metros sobre el nivel del mar, con temperaturas que se encuentra en los 15 grados centígrados. La producción del Ecuador se centra en la provincia de Pichincha, con aproximadamente 400 hectáreas cultivadas, seguido por Tungurahua con 240 hectáreas, las demás provincias que incluye Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura y Azuay, la producción de frutilla se encuentra por encima de las 40 hectáreas (Garcés 2021).

La frutilla o fresa es una de las frutas, de color rojo, con mayor aceptación mundial y se caracteriza además por ser fuente de minerales, carotenoides, vitamina C, y flavonoides. El mercado consumidor de este producto busca siempre un alimento de apariencia apetitosa y buena calidad nutricional (Cárdenas-Navarro et al. 2019).

A pesar de ser un fruto demandado, la principal desventaja es que tiene la característica de ser muy perecedero, debido a que su metabolismo presenta una tasa acelerada de respiración y carece de barreras que eviten la pérdida de agua. Además, otra desventaja es que no posee resistencia a daños mecánicos y es muy susceptible a ataques microbiológicos (López-Mata et al. 2012).

### **Capítulo III**

#### **3. Metodología**

##### **3.1. Ubicación, tipo y diseño de la investigación**

###### **3.1.1. Ubicación de la investigación**

La fase experimental del presente trabajo investigativo se efectuó en el cantón Quevedo, Provincia de Los Ríos. La materia prima e insumos para la obtención del recubrimiento, así como las muestras de frutillas se adquirió en la misma localidad. Los análisis fisicoquímicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo a excepción de la prueba de polifenoles totales y pruebas microbiológicas, las cuales se contrató el servicio de análisis del laboratorio INIAP (Quevedo) y Multianalityca Cia. Ltda (Quito) respectivamente.

###### **3.1.2. Tipo de investigación**

Se plasmó una investigación de tipo exploratorio y experimental. A nivel exploratorio, permitió explorar acerca de lo relacionado a la capacidad bioactiva del recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina en la frutilla. Experimentalmente se manipulo las variables en condiciones controladas, en base al diseño establecido, para la obtención de resultados.

###### **3.1.3. Diseño de la investigación**

Se implementó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 5 tratamientos y 3 réplicas, para un total de 15 unidades experimentales. Para la comparación entre

medias de los tratamientos se empleó la prueba de Tukey al  $p < 0.05$ . Cada unidad experimental se conformó por 10 frutillas.

### 3.1.4. Fuentes de la recopilación de la información

La fuente primaria de la investigación es el trabajo a nivel de laboratorio (trabajo de campo); mientras las fuentes secundarias fueron artículos de revistas científicas, libros, tesis e informes.

## 3.2. Esquema de análisis de varianza

El esquema del análisis de la variación por ADEVA se muestra en la tabla 2.

**Tabla 2**

Esquema del ADEVA

<b>F.V.</b>	<b>S.C.</b>	<b>G.L.</b>	<b>M.C.</b>	<b>F</b>
Tratamiento (T-1)	$SC_T$	4	$MC_T$	$F_T = MC_T/MC_{EE}$
Error experimental	$SC_{EE}$	10	$MC_{EE}$	
Total (T*r)-1	$SC_{Total}$	14		

Nota: F.V. fuentes de varianza, S.C. suma de cuadrados, G.L. grados de libertad, M.C. cuadrado medio, F frecuencia de variación.

## 3.3. Tratamientos

En el esquema experimental de la Tabla 3, se detalla la descripción de cada tratamiento aplicado con distintas concentraciones de Nisina.

**Tabla 3**

Esquema experimental que se realizó en la investigación.

<b>Tratamiento</b>	<b>Repeticiones</b>	<b>Descripción</b>
1	3	Frutilla sin recubrimiento comestible
2	3	Frutilla con recubrimiento comestible y sin nisina
3	3	Frutilla con recubrimiento comestible y 2% de nisina
4	3	Frutilla con recubrimiento comestible y 4% de nisina
5	3	Frutilla con recubrimiento comestible y 6% de nisina

### 3.4. Modelo matemático

El modelo matemático que se empleó se muestra en la ecuación 1:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \quad \text{Ecuación 1}$$

Dónde:

$Y_{ij}$  es el total de observaciones en estudio.

$\mu$  es el efecto de la media general

$T_i$  el efecto de los tratamientos

$E_{ij}$  el error experimental.

### 3.5. Instrumentos de investigación

En el efecto de un recubrimiento comestible a base de proteína láctea en las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas de la frutilla (*Fragaria ananassa*), se estudiaron las siguientes variables:

Variables independientes:

- Combinación de proteína láctea y nisina



## Variables de respuesta

- Características fisicoquímicas: pH, acidez titulable (%ffa), sólidos solubles (°Brix) e índice de madurez (%).
- Valoración microbiológica: (Aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y Mohos y levaduras).
- Valoración sensorial: (color, aroma, sabor, aceptabilidad).

### 3.6. Manejo del experimento

#### 3.6.1. Selección y separación de las frutillas

La preparación de las frutillas se realizó según el procedimiento descrito por Villarroel y Yáñez (2016). Se recolectó las muestras de frutilla, de un tamaño homogéneo, y se procedió a establecer las unidades experimentales formadas por 10 frutillas, las cuales fueron desinfectadas sumergiendo la fruta en una solución de agua destilada con ácido cítrico al 2% durante 10 minutos. Posteriormente se dejaron secar a temperatura ambiente durante 1 hora.

#### 3.6.2. Obtención del recubrimiento comestible

La obtención del recubrimiento comestible se llevó a cabo de acuerdo con la metodología establecida por Chae y Heo (1997). En la figura 1 se muestra un flujograma resumiendo el proceso que se siguió para cada tratamiento.

A continuación, se detalla la metodología realizada para cada paso del flujograma:

**Recepción:** El principal componente utilizado para la elaboración del recubrimiento comestible es la proteína concentrada de suero de leche, para la cual se utilizó el producto Avonlac 282, con un contenido de proteína del 80 % ((Prospector 2022)

**Pesado:** Se pesó la materia prima e insumos de acuerdo con las formulaciones establecidas (Tabla 4).

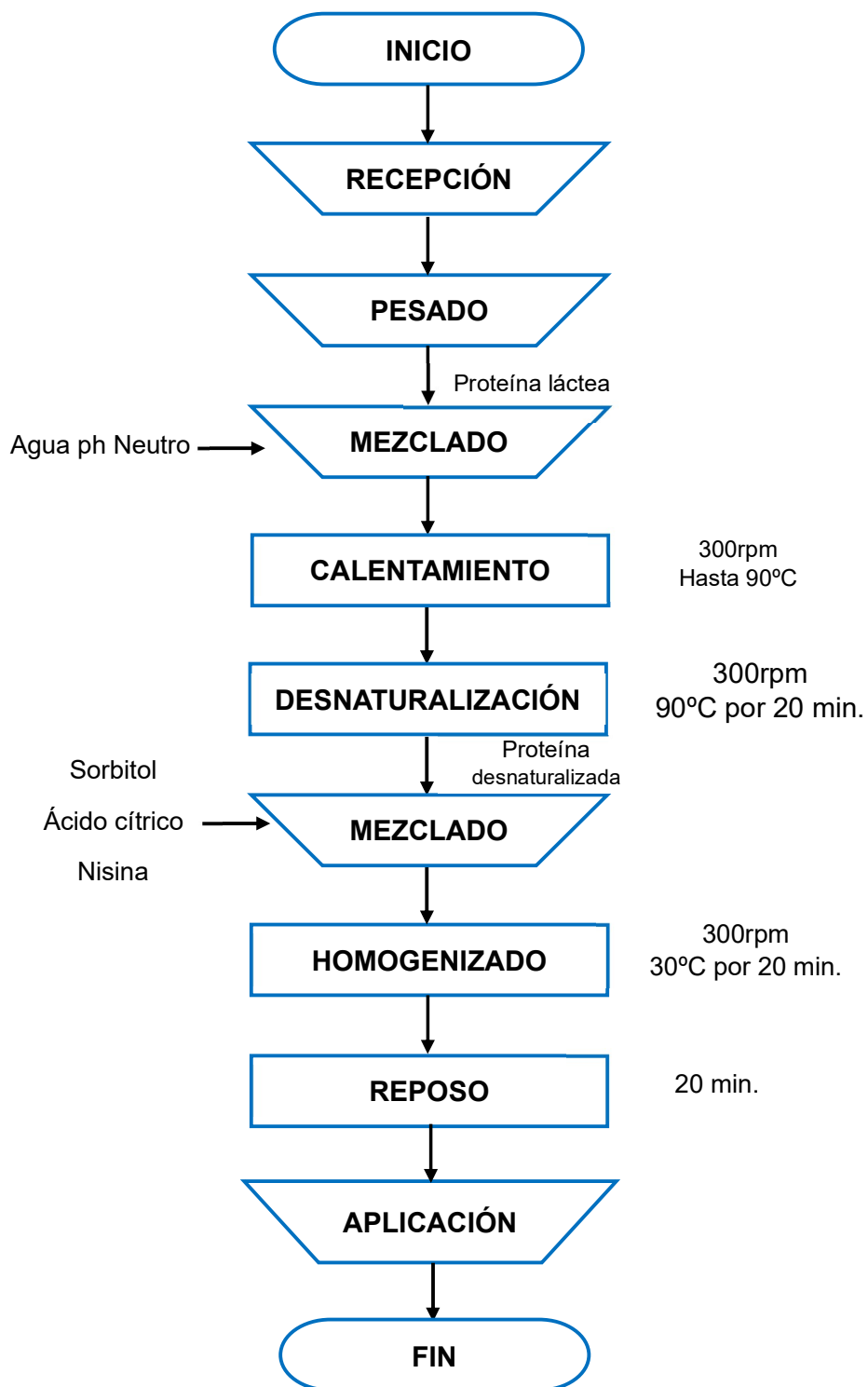
**Mezclado:** Se mezcló la proteína con el resto de los insumos para su homogenización.

**Homogenización:** La solución se homogenizó llevándola a una temperatura de 30°C con un parámetro de agitación de 300 rpm durante 20 minutos.

**Desnaturalización:** En el mismo recipiente donde se realizó la homogenización se incrementó gradualmente la temperatura hasta alcanzar 90 °C, y se mantuvo esa temperatura durante 30 minutos.

Figura 1

Diagrama de flujo para la obtención del recubrimiento comestible



Nota: Flujograma elaborado en base a la metodología realizada por Chae y Heo (1997).

**Tabla 4**

Formulación establecida para cada tratamiento.

Componente	Formulación tratamientos				
	T1	T2	T3	T4	T5
Agua destilada (pH neutro) (ml)	-	200	200	200	200
Proteína láctea (8% del agua) (g)	-	16	16	16	16
Sorbitol (1:2 en relación con la proteína) (g)	-	8	8	8	8
Nisina (g)	-	0	2	3	4
Ácido cítrico (0.1%) (g)	-	0.2	0.2	0.2	0.2

Nota: Para el T1 el cual fue el tratamiento testigo no se aplicó ningún tipo de recubrimiento en las frutillas.

### **3.6.3. Aplicación del recubrimiento comestible en las frutillas**

El proceso de aplicación del recubrimiento se basó en la metodología realizada por López-Mata *et al.* (2012) con ciertas modificaciones. El proceso consistió en formar unidades experimentales de 10 frutillas, cada una realizada por triplicado, cada frutilla fue examinada minuciosamente y se comprobó que no tengan ningún tipo de daño mecánico o infecciones fúngicas y fueron seleccionadas al azar para colocarlas en el tratamiento correspondiente. Luego, el tratamiento 1, el cual no requería el proceso de adición del recubrimiento comestible fue colocado en la charola donde se la iba a conservar durante el tiempo de la investigación. Los demás tratamientos fueron sumergidos durante 60 segundos de acuerdo con la solución de recubrimiento correspondiente a cada tratamiento (tabla 4). Para la eliminación del exceso de recubrimiento se aplicó un pequeño flujo de aire caliente y las fresas fueron colocadas en las charolas correspondientes donde se dejaron a temperatura ambiente ( $24\pm 3$  °C).

### 3.7. Medición de variables

En este apartado se detalla los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales realizados a cada tratamiento.

El experimento se realizó durante siete días y cada día se midieron las variables mostradas en la tabla 5, cuando el tratamiento mostró señales de senescencia muy marcadas fue descartado.

Luego se seleccionó el mejor tratamiento, los parámetros para seleccionarlo fue en base a las características fisicoquímicas y se eligió a las frutillas que alteraron en menor cantidad sus características fisicoquímicas.

Al mejor tratamiento seleccionado se realizó la medición de la cantidad de polifenoles totales y características microbiológicas.

**Tabla 5**

Variables medidas durante cada día de tratamiento

Día de tratamiento		Parámetros medidos		
1	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
2	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
3	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
4	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
5	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
6	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez
7	°Bx	pH	Acidez	Índice de madurez

#### 3.7.1. Mediciones de variables fisicoquímicas

Para la medición de las variables fisicoquímicas se tomó las frutillas y fueron aplastadas con la ayuda de un mortero y diluidas en agua destilada (2.5 gr pulpa con 22.5 ml agua

destilada), la solución resultante fue utilizada para medir los parámetros de grados brix, pH y acidez.

#### **3.7.1.1. Grados Brix**

Para la medición de esta variable se siguió el procedimiento establecido en la norma NTE INEN-ISO 2172: 2013 (2013) utilizando el refractómetro portátil Ref 3115. Marca J&G SC.

#### **3.7.1.2. pH**

El potencial de hidrogeno se midió en base a la norma NTE INEN-ISO 1842: 2013 (2013) mediante la utilización de un pH metro digital pH/mV/T con AT serie 700 de sobremesa.

#### **3.7.1.3. Acidez titulable**

Para medir la acidez de las muestras se realizó por la técnica de titulación siguiendo la norma NTE INEN-ISO 750 (2013), como reactivo se utilizó NaOH 0.1 N. Los resultados de acidez fueron anotados como porcentaje de ácido cítrico contenido en la muestra. El cálculo se realizó mediante el uso de la ecuación 2.

$$A = V * 2 * F$$

Ecuación 2

Donde:

A: Acidez titulable en porcentaje de ácido específico (g ácido cítrico/100 g de fruta)

V: Volumen de solución de NaOH 0,1 N empleado en la titulación (ml)

F: Factor de acidez del ácido cítrico (0,064)

#### 3.7.1.4. Índice de madurez

El índice de madurez se determinó mediante el uso de la metodología detallada por Quinza y López (1978), el cual se calcula de acuerdo con la ecuación 3.

$$\text{Índice madurez} = \frac{^{\circ}\text{Brix}}{\text{Acidez titulable}} \quad \text{Ecuación 3}$$

#### 3.7.2. Variables microbiológicas medidas al mejor tratamiento

La prueba microbiológica se realizó al tratamiento 3 al día 5, que fue cuando se tomó la muestra. Las pruebas se realizaron en un laboratorio privado utilizando el método de referencia AOAC 997.02 y se evaluó el recuento de mohos y levaduras y el contenido de coliformes totales / *Escherichia coli*.

#### 3.7.3. Polifenoles Totales medidos al mejor tratamiento

Las muestras para la medición de polifenoles totales fueron enviadas al laboratorio INIAP, Estación Experimental Santa Catalina y la medición de polifenoles fue realizada por el método MO-LSAIA-3.

#### 3.7.4. Análisis sensorial realizado al mejor tratamiento

El análisis sensorial se basó en la metodología realizada por Treviño *et al.* (2015). Se evaluó las características organolépticas del mejor tratamiento, el cual tuvo un mayor tiempo de vida útil. Las características que se evaluaron fueron el color, aroma, sabor y aceptabilidad de las frutillas a los días 1 y 5 del tratamiento 3 y la muestra testigo al día 1.

La prueba se realizó a 15 panelistas no entrenados consumidores de frutillas. Los panelistas se encontraron en un rango de 25 a 44 años.

Para el análisis del sabor y aceptabilidad utilizó una escala hedónica de cinco puntos donde el número 5 se define como “me gusta mucho”, el número 4 “me gusta”, 3 “ni me gusta ni me disgusta”, el 2 “Me disgusta un poco” y el 1 “me disgusta mucho”.

El procedimiento para realizar el análisis consistió en entregar a los panelistas en platos blancos las 3 muestras a evaluar codificadas. Se entregó las hojas de catación y se explicó

el proceso para realizar la evaluación de las muestras. La codificación que se dio a las muestras para el testigo fue A0, para el tratamiento 3 al día uno fue B2-1 y al tratamiento 3 al día 5 fue B2-5. Los datos fueron procesados estadísticamente con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis en el software SPSS.

## Capítulo IV

### 4. Resultados y discusión

#### 4.1. Formulación óptima para alargar la vida útil de las frutillas

En los ensayos realizados se pudo evidenciar que la adición de 2% de nisina (tratamiento 3) se desempeñó como el mejor tratamiento, permitiendo conservar las propiedades fisicoquímicas de la frutilla durante 7 días; contrario a esto, los demás tratamientos tuvieron un menor tiempo de vida útil. Esto se debió a la tasa de respiración de las frutas a temperatura ambiente, lo cual causó un aumento de los niveles de etileno, elevando los grados brix incentivándose el crecimiento de microorganismos. Por otra parte, la acción del revestimiento comestible protegió a la fruta de la pérdida de la humedad, redujo la tasa de respiración, mejoro la textura y redujo el crecimiento microbiano, debido a esto el tratamiento 1 o testigo fue el primer tratamiento en alterar sus características fisicoquímicas y microbiológicas, siendo desechado desde el día 3 debido a la aparición de microorganismos (Khodaei et al. 2021). Los valores promedios de °Bx, pH, acidez e índice de madurez se describen en la Tabla 6, donde se muestran solo los valores obtenidos hasta el día 5, ya que el día 6 y 7 solo se midió los parámetros para el T3 y no se pudo realizar un análisis estadístico.

La frutilla respondió de forma más favorable al aplicar un recubrimiento comestible a base de proteína láctea con adición de nisina (2%). Autores como Romero (2019) y Batista et al. (2022) señalan que la nisina presenta actividad antimicrobiana y bioconservante sobre diversas bacterias; siendo considerada como un conservante para varios productos alimenticios, además de que su uso está aprobado por la FAO. De la misma manera, Hager



*et al.* (2019) confirmaron en su estudio que la nisina tiene efectos antimicrobianos importantes, aunque plantean que aún es un desafío incorporarlo en la industria de alimentos por su costo relativamente elevado. Lo mencionado anteriormente, se puede evidenciar en el tiempo de vida útil de la frutilla, donde los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron aceptables hasta el día 7 de la evaluación para el T3. La variable °Bx en el T3 presentó un valor de 9.13, superior a los de Reyes *et al.* (2012) y Ruíz *et al.* (2016) quienes registraron 8.2 de °Bx. Estos valores no están dentro del límite establecido en la NTE INEN 2337 para frutas frescas (6.0 °Brix) (INEN 2008).

**Tabla 6**

Evolución de °Bx, pH, acidez e índice de madurez en la frutilla con recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina para cada tratamiento.

Parámetros/ Tratamientos	Testigo	Recubrimiento + 0% nisina	Recubrimiento + 2% nisina	Recubrimiento + 4% nisina	Recubrimiento + 6% nisina
<b>°Bx</b>					
día 1	6,9b	6,4b	6,63ab	6,5a	6,5 <sup>a</sup>
día 2	9,6c	7,1b	6,83ab	6,67a	6,6 <sup>a</sup>
día 3		8,03c	7,53b	8,1c	6,97 <sup>a</sup>
día 4			7,63a	8,1b	7,67 <sup>a</sup>
día 5			7,67a		8,7b
<b>pH</b>					
día 1	3,74b	3,71ab	3,69ab	3,66ab	3,63a
día 2	4,71b	3,7 <sup>a</sup>	3,71a	3,7a	3,67a
día 3		4,11b	4,07b	4,18b	3,74b
día 4			4,15a	4,18a	3,99a
día 5			4,34a		4,25a
<b>Acidez</b>					
día 1	0,73a	0,78b	0,79b	0,78b	0,77b
día 2	0,51a	0,73b	0,78c	0,77c	0,76bc
día 3		0,7ab	0,71b	0,68a	0,71b
día 4			0,73c	0,68b	0,6a
día 5			0,71b		0,52b
<b>Índice de madurez (IM)</b>					
día 1	9,43b	8,2 <sup>a</sup>	8,4a	8,33a	8,4a
día 2	18,7c	9,77b	8,8a	8,7a	8,73a
día 3		11,5c	10,57b	11,83c	9,77a
día 4			10,4a	11,83b	12,77c
día 5			10,83a		16,73b

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ). Los valores del día 6 y 7 no se muestran debido a que solo el T3 presentó estos valores.

## 4.2. Análisis fisicoquímicos

Frutilla con recubrimiento comestible al día 1

Para el día 1, los parámetros evaluados presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor  $\leq 0.05$ ) entre los tratamientos aplicados. El efecto de la maduración fue evidente en el tratamiento testigo T1, obteniendo valores promedios de °Bx (6.9), pH (3.74), acidez (0.73) e índice de madurez (9.43).

Frutilla con recubrimiento comestible al día 2

En el día 2, se presentó diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor  $\leq 0.05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento testigo T1 tuvo similar comportamiento que lo observado en el día 1 obteniendo cambios significativos en los valores de °Bx (9.6), pH (4.71), acidez (0.51) e índice de madurez (18.7). De esta manera se pudo evidenciar el corto tiempo de vida útil de la frutilla sin recubrimiento comestible, madurando rápidamente sin poder continuar con su análisis y observación.

Frutilla con recubrimiento comestible al día 3

En el día 3, el tratamiento testigo fue descartado al encontrarse completamente deteriorado por efecto de la maduración y la presencia de microorganismos. Los tratamientos restantes presentaron diferencias significativas ( $p$  valor  $\leq 0.05$ ), donde el tratamiento con recubrimiento con adición de nisina T2 empezó su deterioro obteniendo valores de °Bx (7.1), pH (4.11), acidez (0.7) e índice de madurez (11.5).

Frutilla con recubrimiento comestible al día 4

En el día 4 se descartó el T2 al observarse presencia de microorganismos finalizando así su análisis en el estudio. Los tratamientos evaluados presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor  $\leq 0.05$ ), donde el tratamiento con recubrimiento con adición de 2% de nisina T3 registró de valores de °Bx (7.63), pH (4.15), acidez (0.73) e índice de madurez (10.4).

Frutilla con recubrimiento comestible al día 5

En el día 5 al final del periodo de evaluación, existió diferencias estadísticas significativas ( $p$  valor  $\leq 0.05$ ), entre el tratamiento T3 y T5 con recubrimiento con adición de 2 y 6 % de nisina, respectivamente. El T3 registró valores de °Bx (7.67), pH (4.34), acidez (0.71) e índice de madurez (10.83).

Frutilla con recubrimiento comestible al día 6 y 7

A los días 6 y 7 solo se obtuvo datos para el T3, el cual fue el único tratamiento que aún mantenía características para ser consumido. Por este motivo se designó al T3 como el mejor tratamiento, al ser el recubrimiento que alargó más la vida útil de la frutilla.

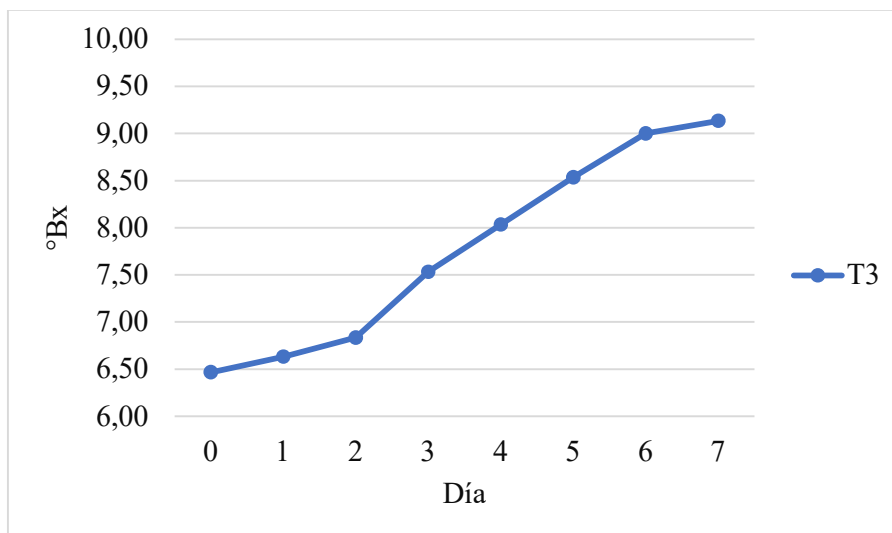
#### **4.2.1. Grados Brix (°Bx)**

Para el parámetro de grados Brix se muestra en una sola figura (figura 2) el comportamiento del mejor tratamiento T3 y luego en una figura comparativa el comportamiento de la variable en el tiempo para todos los tratamientos (figura 3).

Para el T3 se obtuvo un valor inicial de 6.47 en el día 0, incrementándose gradualmente hasta el día 7 donde presentó un °Bx de 9.13 (figura 2).

**Figura 2**

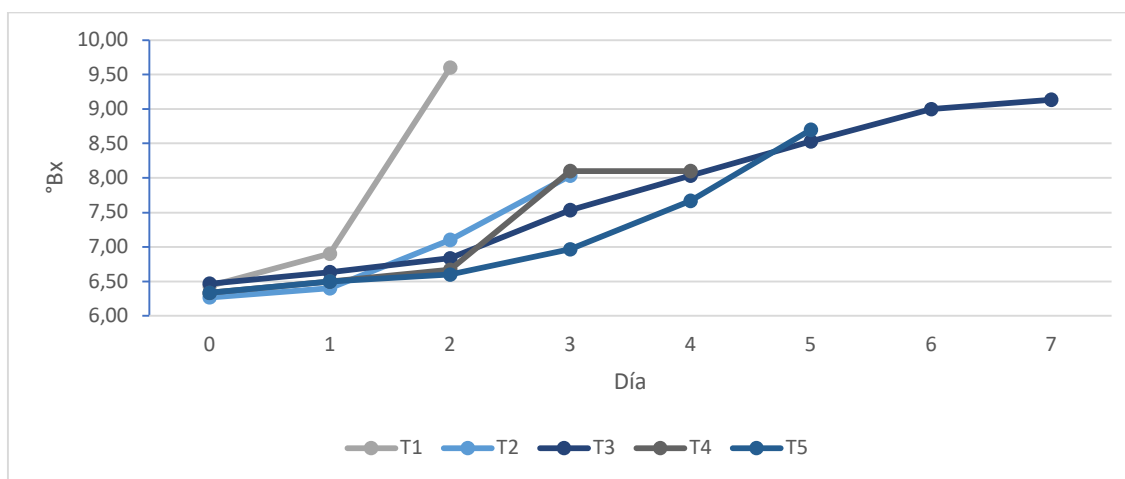
Variación de los °Bx de la frutilla en el tiempo al aplicar un recubrimiento comestible con adición de 2 % de nisina (tratamiento 3)



Para todos tratamientos se puede observar en la figura 3 el comportamiento de los grados brix en el tiempo.

**Figura 3**

Medida de grados brix para cada día de cada tratamiento



El comportamiento de los grados brix de acuerdo con el experimento es que van aumentando a medida que la frutilla va madurando. Se puede ver un incremento acelerado para el tratamiento 1 donde solo se obtuvo una medida de 6.4 en el día 0 y un valor de 9.6 para el segundo día de tratamiento; para el día 3 presentó una descomposición no favorable y presencia de hongo motivo por el cual ya no se tomó medidas y se desechó el experimento. Los demás tratamientos mostraron un incremento progresivo de los grados brix. Estos resultados son similares a los obtenidos por Ferrer (2020) donde también obtuvo un incremento de los grados brix de 3 puntos desde el primer día de tratamiento hasta el último día de la investigación y también concluyó que la acción de los recubrimientos comestibles aplicados a la fruta ralentiza el aumento de los sólidos solubles si se compara con el control.

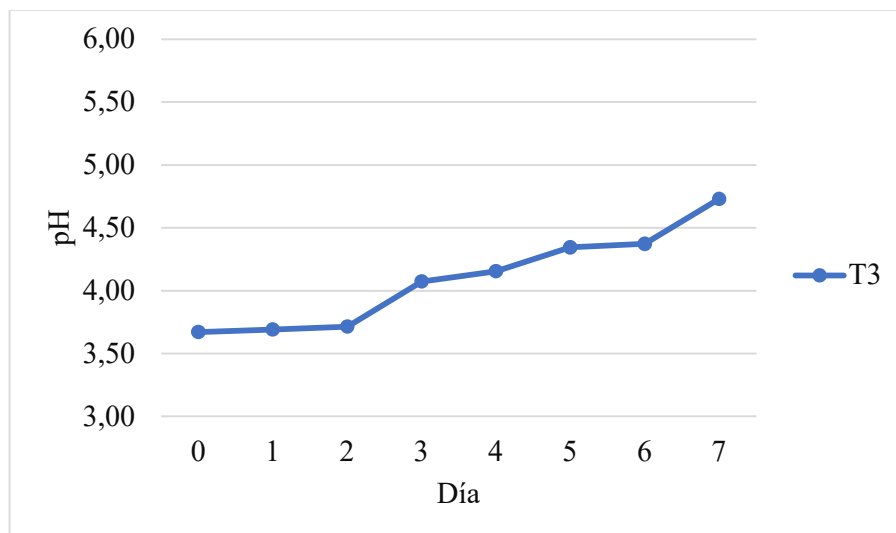
#### **4.2.2. *Potencial de hidrógeno (pH)***

Para el parámetro de pH se muestra en una sola figura (figura 4) el comportamiento del mejor tratamiento T3 y luego en una figura comparativa el comportamiento de la variable en el tiempo para todos los tratamientos (figura 5).

Para el T3 se obtuvo un valor inicial de 3.67 en el día 0, con igual comportamiento que la variable °Bx, incrementándose de forma gradual hasta el día 7 donde presentó un valor de 4.73 (figura 4).

**Figura 4**

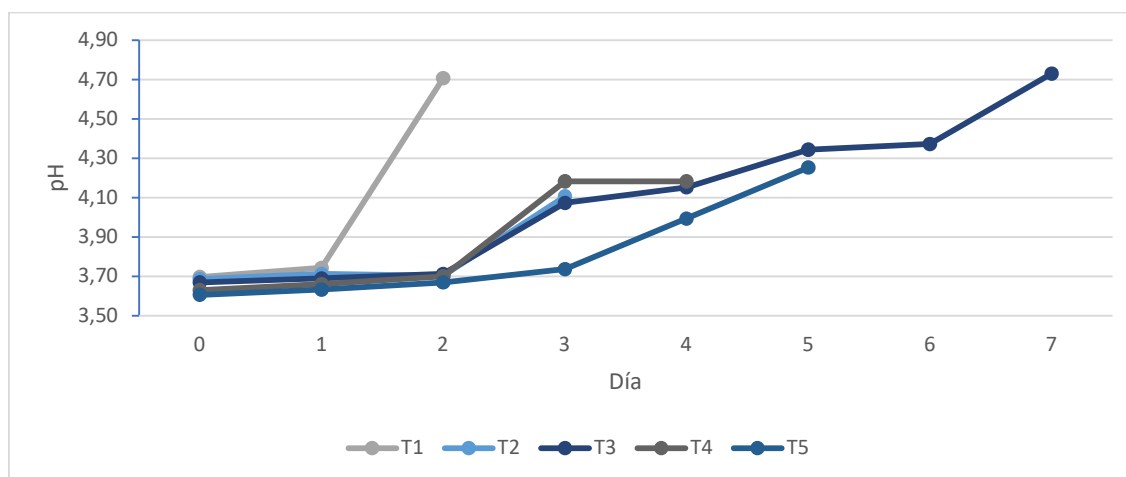
Variación de pH de la frutilla en el tiempo al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de nisina (tratamiento 3).



Para todos tratamientos se puede observar en la figura 5 el comportamiento del pH en el tiempo.

**Figura 5**

Medida de pH para cada día de cada tratamiento



El valor de pH fue aumentando de forma mínima hasta tener un valor promedio de 4.73 al séptimo día en el tratamiento 3. Para el control el pH se alteró de manera acelerada empezando al día 0 con un valor de 3.7, similar al de los demás tratamientos, y llegando a un valor de 4.7 en el segundo día, valor alcanzado por el tratamiento 3 al séptimo día.

En comparación, García y Pinzón (2017) y Ferrer (2020) registraron valores inferiores de pH con 3.2 a 3.3 y 3.66, respectivamente. Almenar (2005) y Escalante (2015), indican que este parámetro es uno de los que presenta menor variación durante el periodo de post cosecha de la frutilla; sin embargo, dicha variación influye en el crecimiento de distintos microorganismos. Respecto a esto, Aconsa (2022) afirma que algunas bacterias como los hongos crecen y se desarrollan a pH bajos mientras que las bacterias necesitan los valores más altos para proliferar.

#### **4.2.3. Acidez titulable**

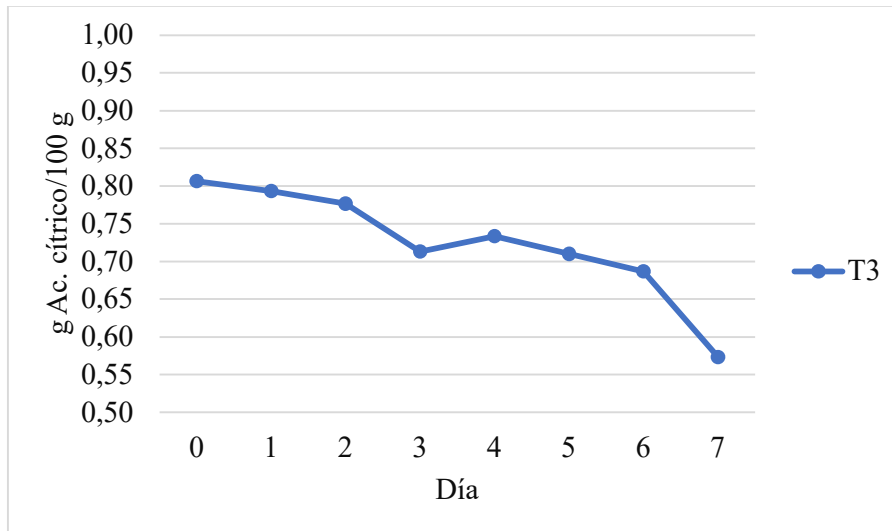
Para el parámetro de acidez titulable se muestra en una sola figura (figura 6) el comportamiento del mejor tratamiento T3 y luego en una figura comparativa el comportamiento de la variable en el tiempo para todos los tratamientos (figura 7).

De este parámetro para el T3 se obtuvo un valor inicial de 0.81 en el día 0, disminuyendo hasta el día 7 cuando obtuvo una acidez de 0.57 (figura 6).



**Figura 6**

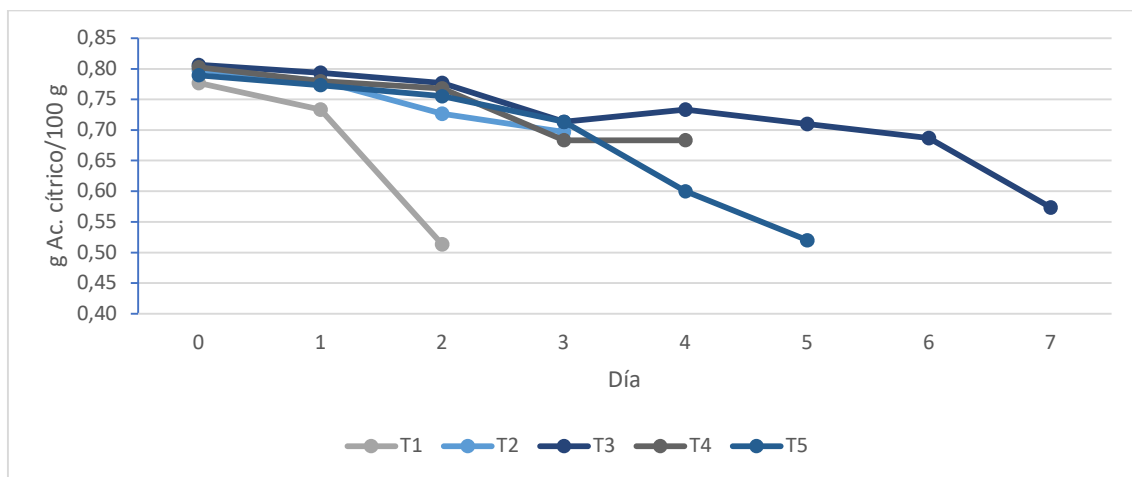
Variación de acidez en la frutilla al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de Nisina (tratamiento 3)



Para todos tratamientos se puede observar en la figura 7 el comportamiento de la acidez en el tiempo.

**Figura 7**

Medida de acidez para cada día de cada tratamiento



En general se observa que el comportamiento de la acidez va disminuyendo mientras la fruta madura. Para el tratamiento 1 se puede observar que empieza con un valor de 0.78 en el día 0 y termina con un valor de 0.51 para el día dos. Los demás tratamientos muestran un comportamiento similar, aunque en una forma menos acelerada. Los tratamientos 3 y 5, los cuales tuvieron una vida útil más larga alcanzaron valores de 0.57 y 0.52 respectivamente.

Domene y Rodríguez (2014) señalan que la fruta experimenta una disminución de acidez a medida que madura; esto se puede comprobar con los valores obtenidos en este estudio. Similar comportamiento presentó Ruíz et al. (2016) al tener una variación de acidez de 1.16 a 0.9 g ácido cítrico/100g. Ferrer (2020) por el contrario obtuvo un valor de acidez de 0.8 g a 0.9 ácido cítrico/100g.

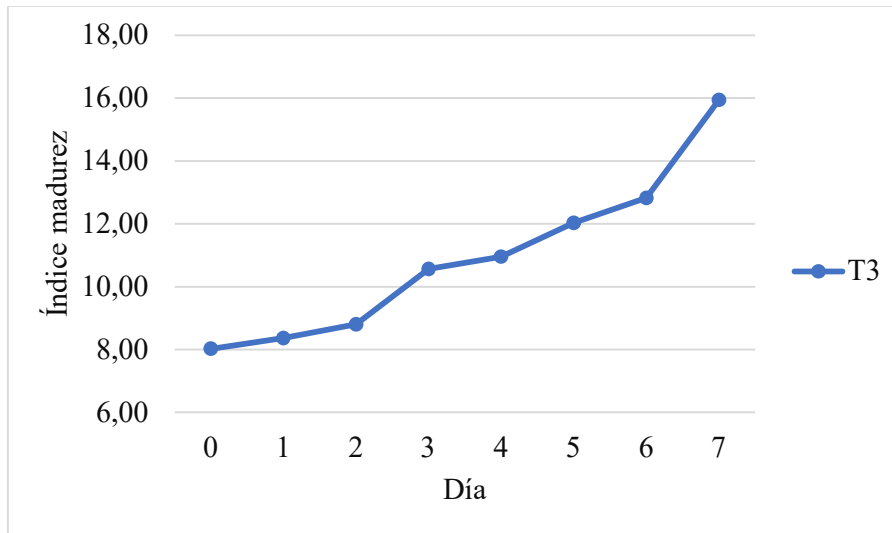
#### **4.2.4. Índice de madurez**

Para el parámetro de índice de madurez se muestra en una sola figura (figura 8) el comportamiento del mejor tratamiento T3 y luego en una figura comparativa el comportamiento de la variable en el tiempo para todos los tratamientos (figura 9).

Para esta variable se obtuvo un valor inicial de 0.81 en el día 0 para el tratamiento 3, presentando un aumento hasta el día de su senescencia al día 7 donde obtuvo un valor de 15.94 (figura 8).

**Figura 8**

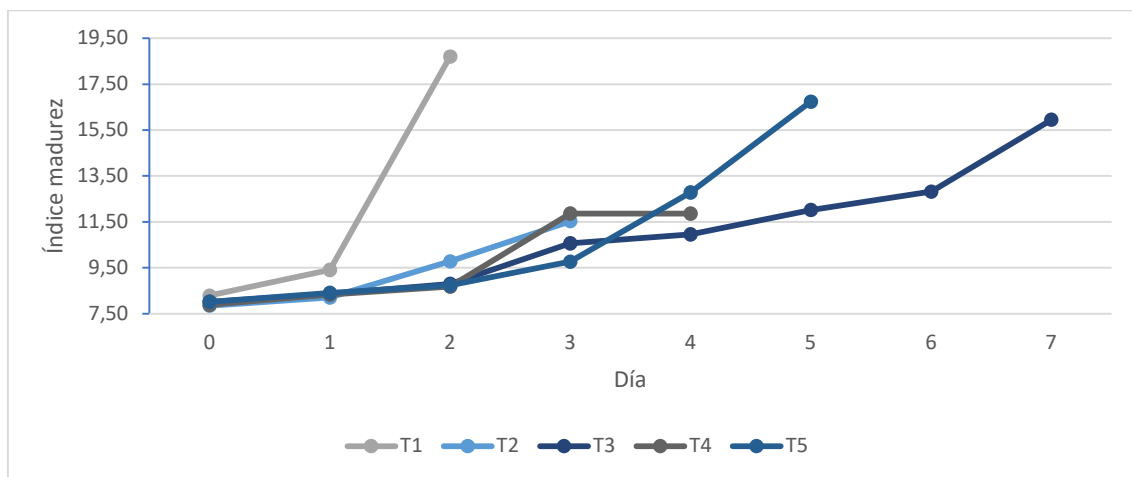
Variación de acidez en la frutilla en el tiempo al aplicar recubrimiento comestible con adición de 2 % de Nisina (tratamiento 3).



Para todos tratamientos se puede observar en la figura 9 el comportamiento de la acidez en el tiempo.

**Figura 9**

Índice de madurez para cada día de cada tratamiento



El índice de madurez como ya se mencionó se puede obtener con la fracción entre los °Brix y la acidez, el cual es un valor indicativo muy importante en la calidad organoléptica (Domene y Rodríguez 2014). Para el tratamiento 1 mostro un incremento desde 8.29 (día 0) a 18.70 (día 2), sin embargo, para los demás tratamientos se observó un comportamiento menos acelerado en comparación. Si bien, los demás tratamientos presentaron un comportamiento similar el tratamiento 3 y 5 fueron los que tuvieron un mayor tiempo de vida útil y alcanzando un índice de madurez de 15.94 y 16.74 respectivamente. Los valores para el índice de madurez aumentaron con el paso de los días; en el día 0 se determinó un índice de madurez de 8.02 (tratamiento 3), inferior a lo presentado por Ferrer (2020) con 8.08. Para el día 7, se observó un aumento de este parámetro con 15.94 (tratamiento 3), comparable a los resultados de Pérez y Zurita (2019), quienes obtuvieron un índice de madurez de 10.43 y 32.25 entre los días 6 y 8, respectivamente. Aunque el índice de madurez no es el único factor que determina si la frutilla llegó al final de su vida útil es un valor importante para establecer un parámetro límite para considerarse al momento de evaluar la vida útil de la fruta.

#### **4.3. Contenido total de polifenoles**

El contenido total de polifenoles se midió para el mejor tratamiento el cual fue el tratamiento 3 (fresa recubierta con película comestible y 2% de nisina). Los valores obtenidos para el día 1 y 5 fueron 303.23 y 302.91 mg Ac. Gálico/100g respectivamente. Se midió el contenido de polifenoles totales para las frutillas del tratamiento 1 (sin adición de recubrimiento comestible) y se obtuvo un valor de 273.23 mg Ac. Gálico/100g para el día 1. La cantidad de polifenoles en las frutillas tratadas con el recubrimiento comestible fue mayor a la del tratamiento 1, además en el estudio de Koyama *et al.* (2022) donde analizaron el contenido polifenólico de fresas recién cosechadas obtuvieron valores entre 150 a 300 mg Ac. Gálico/100g, así se puede inferir que el tratamiento con recubrimiento comestible incrementa el número de polifenoles totales, sin embargo, es necesario realizar un análisis más profundo para obtener datos estadísticos significativos.

#### **4.4. Análisis microbiológico**

En el análisis se obtuvo una medida menor a 1 UP/g y el contenido de coliformes totales y *E. coli* dio un valor menor a 1 UFC/g. Con estos resultados se concluye que en cuanto a la parte microbiológica las frutillas del tratamiento 3 aún son aptas para el consumo humano. Otros autores han obtenido resultados similares al momento de evaluar microbiológicamente las frutas tratadas con recubrimientos y demostrado que es posible alargar la vida útil de las frutas utilizando un recubrimiento comestible (Ferrer 2020, García y Pinzón 2017, Tahir et al. 2019, López et al. 2016).

#### **4.5. Análisis sensorial**

Los cuatro parámetros sensoriales que se decidieron evaluar fueron color, aroma, sabor y aceptabilidad. En la figura 10 se muestra un gráfico radial donde se puede observar los resultados para cada uno de los 3 tratamientos a los cuales se les realizó el análisis sensorial con 15 panelistas no entrenados. Se puede inferir de la figura que los tratamientos tuvieron resultados similares y que no se presentó ninguna diferencia significativa por lo que la aplicación del recubrimiento comestible no afecta las características organolépticas. Estos resultados coinciden con lo reportado por Treviño *et al.* (2015) donde también aplicaron un recubrimiento comestible a la frutilla y en el análisis sensorial la aplicación del recubrimiento no resultó en afectación de los parámetros sensoriales ( $p > 0.05$ ).

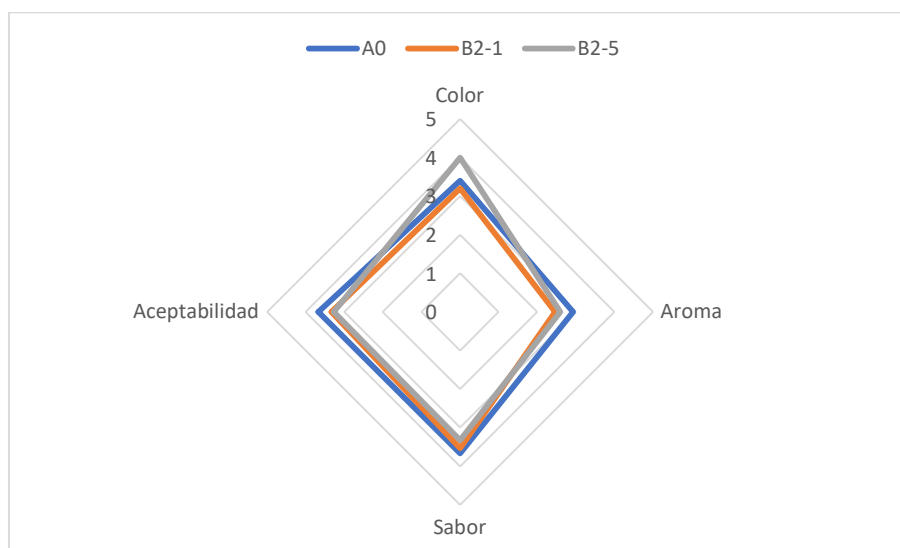
En adición, con los resultados obtenidos se confirma que el recubrimiento comestible y la adición de nisina no afecta las características organolépticas al compararlas con el tratamiento control. Ferrer (2020) obtuvo resultados similares en su investigación, donde aplicó un recubrimiento comestible a base de almidón de cidrayota y evaluó la vida útil de la fresa. Sus resultados del análisis sensorial no mostraron diferencias significativas para las variables de aroma, sabor y textura.

De acuerdo con Ortiz (2017) una de las características que debe tener un recubrimiento comestible es que no debe alterar las características sensoriales del alimento,

por lo que el recubrimiento a base de proteína láctea y nisina cumple con este requisito y además como ya se mencionó ayuda a prolongar la vida útil de las frutillas.

### Figura 10

Diagrama radial de resultados sensoriales obtenidos en los 3 tratamientos.



Nota: A0: Tratamiento 1 día 1. B2-1: Tratamiento 3 día 1. B2-5: Tratamiento 3 día 5.

#### 4.5.1. Color

El promedio de los resultados para el atributo de color de acuerdo con la escala hedónica propuesta fue de 3.4 para el tratamiento A0, 3.2 para el tratamiento B2-1 y 4 para el tratamiento B2-5 (tabla 5). Es decir, que los panelistas calificaron el color de la fruta como rojo y rojo intenso en promedio para los 3 tratamientos.

De acuerdo con los resultados obtenidos para el atributo de color no se presentaron diferencias significativas, valor  $p=0.1006$  ( $p > 0.05$ ), entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Kruskal Wallis.

**Tabla 7**

Resultados del atributo de las frutillas respecto al color de los 3 tratamientos evaluados.

Atributo	Catador	A0	B2-1	B2-5
Color	1	2	2	3
	2	3	4	5
	3	4	3	3
	4	2	2	3
	5	2	4	5
	6	4	4	3
	7	5	4	4
	8	4	3	5
	9	5	4	5
	10	2	4	4
	11	3	2	5
	12	5	2	5
	13	3	5	4
	14	3	2	5
	15	4	3	1

Nota: Prueba hedónica, 1: Rojo muy claro; 2: Rojo claro; 3: Rojo; 4: Rojo intenso; 5: Rojo muy intenso; A0: Tratamiento 1 día1. B2-1: Tratamiento 3 día 1. B2-5: Tratamiento 3 día 5.

#### **4.5.2. Aroma**

El promedio de los resultados para el atributo de aroma de acuerdo con la escala hedónica propuesta fue de 2.93 para el tratamiento A0, 2.47 para el tratamiento B2-1 y 2.60 para el tratamiento B2-5 (tabla 6). Es decir, que los panelistas calificaron el aroma de la fruta como ligeramente perceptible a Medianamente intenso en promedio para los 3 tratamientos.

De acuerdo con los resultados obtenidos para el atributo de aroma no se presentaron diferencias significativas, valor  $p=0.4107$  ( $p > 0.05$ ), entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Kruskal Wallis.

**Tabla 8**

Resultados del atributo de las frutillas respecto al aroma de los 3 tratamientos evaluados.

Atributo	Catadores	A0	B2-1	B2-5
Aroma	1	3	4	3
	2	4	3	3
	3	2	2	2
	4	2	2	1
	5	4	3	3
	6	3	1	4
	7	4	2	2
	8	2	2	1
	9	3	4	2
	10	4	2	2
	11	1	2	4
	12	4	5	2
	13	4	2	2
	14	2	1	4
	15	2	2	4

Nota: Prueba hedónica, 1: Nada perceptible; 2: Ligeramente perceptible; 3: Medianamente intenso; 4: Intenso; 5: Muy intenso; A0: Tratamiento 1 día1. B2-1: Tratamiento 3 día 1. B2-5: Tratamiento 3 día 5.

#### **4.5.3. Sabor**

El promedio de los resultados para el atributo de sabor de acuerdo con la escala hedónica propuesta fue de 3.67 para el tratamiento A0, 3.53 para el tratamiento B2-1 y 3.33 para el tratamiento B2-5 (tabla 7). Es decir, que los panelistas calificaron el sabor de la fruta como Ni me gusta ni me disgusta a Me gusta en promedio para los 3 tratamientos.

De acuerdo con los resultados obtenidos para el atributo de aroma no se presentaron diferencias significativas, valor  $p=0.7299$  ( $p > 0.05$ ), entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Kruskal Wallis.



**Tabla 9**

Resultados del atributo de las frutillas respecto al sabor de los 3 tratamientos evaluados.

Atributo	Catadores	A0	B2-1	B2-5
Sabor	1	3	4	4
	2	3	4	5
	3	4	3	3
	4	3	3	2
	5	3	3	4
	6	4	3	5
	7	4	4	3
	8	3	3	1
	9	5	4	4
	10	4	2	3
	11	2	3	3
	12	4	5	2
	13	4	4	4
	14	4	4	5
	15	5	4	2

Nota: Prueba hedónica, 1: Me disgusta mucho; 2: Me disgusta poco; 3: Ni me gusta ni me disgusta; 4: Me gusta; 5: Me gusta mucho; A0: Tratamiento 1 día1. B2-1: Tratamiento 3 día 1. B2-5: Tratamiento 3 día 5.

#### **4.5.4. Aceptabilidad**

El promedio de los resultados para el atributo de sabor de acuerdo con la escala hedónica propuesta fue de 3.67 para el tratamiento A0, 3.33 para el tratamiento B2-1 y 3.27 para el tratamiento B2-5 (tabla 8). Es decir, que los panelistas calificaron el sabor de la fruta como Ni me gusta ni me disgusta a Me gusta en promedio para los 3 tratamientos.

De acuerdo con los resultados obtenidos para el atributo de aroma no se presentaron diferencias significativas, valor  $p=0.6133$  ( $p > 0.05$ ), entre los tratamientos de acuerdo con la prueba de Kruskal Wallis.

**Tabla 10**

Resultados del atributo de las frutillas respecto a la aceptabilidad de los 3 tratamientos evaluados.

Atributo	Catadores	A0	B2-1	B2-5
Aceptabilidad	1	3	4	4
	2	3	4	5
	3	4	2	2
	4	4	4	2
	5	3	3	4
	6	4	3	5
	7	5	5	3
	8	2	2	1
	9	5	4	4
	10	4	2	3
	11	3	2	3
	12	3	4	3
	13	4	4	4
	14	3	3	4
	15	5	4	2

Nota: Prueba hedónica, 1: Me disgusta mucho; 2: Me disgusta poco; 3: Ni me gusta ni me disgusta; 4: Me gusta; 5: Me gusta mucho; A0: Tratamiento 1 día1. B2-1: Tratamiento 3 día 1. B2-5: Tratamiento 3 día 5.

## Capítulo V

### 5. Conclusiones y recomendaciones

#### 5.1. Conclusiones

- El recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina demostró tener la capacidad de alargar la vida útil de la frutilla. A diferencia de la frutilla control que tuvo una vida útil de 2 días el tratamiento 3 permitió que la frutilla alargue su vida útil hasta los 7 días.
- Se estableció que la fórmula de recubrimiento comestible más idóneo, para la conservación de las frutillas, es el tratamiento que contiene proteína láctea y 2 % de nisina en su composición.

- El recubrimiento comestible permitió que las características fisicoquímicas de la frutilla no se vieran alteradas de forma acelerada, al contrario, permitieron que los parámetros disminuyeran en menor medida en el tiempo lo que conservó las características organolépticas de la frutilla y por tanto alargó su vida útil.
- Los polifenoles totales se vieron incrementados en el tratamiento 3 (recubrimiento comestible y 2% de nisina, día 1) en comparación con el tratamiento 1 (control, día 1) con valores de 303.23 y 273.23 mg Ac. Gálico/100g.
- El análisis sensorial demostró que la adición del recubrimiento comestible y un 2% de nisina no afecta las características sensoriales de la fruta y, además, mantiene las características sensoriales de la frutilla durante más tiempo.

## 5.2. Recomendaciones

- El recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina demostró alargar la vida útil de la fresa a temperatura ambiente y sin empacar las fresas, sin embargo, para proponer utilizar el recubrimiento a nivel industrial es necesario realizar un análisis sobre la viabilidad económica y de vida útil a condiciones de refrigeración y transporte y con las fresas empacadas adicionalmente en un envase donde se puedan transportar a mercados y supermercado.
- Es necesario llevar a cabo un análisis microbiológico más exhaustivo para poder analizar el grado bactericida que proporciona el recubrimiento comestible a base de proteína láctea y nisina.
- Para corroborar que el recubrimiento comestible aumenta la cantidad de polifenoles totales sería importante realizar un análisis de polifenoles y su comportamiento en tiempo cuando las frutillas se encuentran con el recubrimiento comestible.
- Un análisis sensorial realizado a un panel entrenado o experto permitiría conocer de forma más clara si el recubrimiento comestible afecta o no las características organolépticas de la frutilla.

## Capítulo VI

### 6. Referencias y anexos

#### 6.1. Referencias

Aconsa. 2022. pH en alimentos: su importancia en la seguridad alimentaria - Aconsa (en línea, sitio web). Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://aconsa-lab.com/ph-en-alimentos-importancia/>.

Almenar, E. 2005. Envasado activo de fresas silvestres (en línea). Valencia, UNIVERSITAT DE VALENCIA. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/10062/almenar.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Anaya-Esparza, LM; Pérez-Larios, A; Ruvalcaba-Gómez, JM; Sánchez-Burgos, JA; Romero-Toledo, R; Montalvo-González, E. 2020. Funcionalización de los recubrimientos a base de quitosano para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 23. DOI: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.241>.

Azam, M; Ejaz, S; Naveed Ur Rehman, R; Khan, M; Qadri, R. 2019. Postharvest Quality Management of Strawberries (en línea). In *Asao, T; Asaduzzaman, M (eds.)*. Rijeka, IntechOpen. p. Ch. 4 DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.82341>.

Batista, A; Muñoz, R; Yasky, S; Contreras, R. 2022. Evaluación teórica de la exposición dietaria a la bacteriocina nisina como conservante natural para aderezos de tipo mayonesa vegetal en Chile (en línea). Revista chilena de nutrición 49(4):494-501. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0717-75182022000500494>.

Cano-Serna, D; Gómez-Marín, A; Oviedo-Gallego, V; Rios-Osorio, A. 2015. Nisina como conservante de alimentos: revisión sistemática de la literatura (en línea). Rev Hechos Microbiol. 6(1-2):52-64. Disponible en <http://www.udea.edu.co/hm>.

Cárdenas-Navarro, R; López-Pérez, L; Lobit, P. 2019. Effect of the N application season and harvest period on the production and quality of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* Duch). *Scientia Agropecuaria* 10(3):337-345. DOI:

<https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.03.03>.

Chae, S il; Heo, TR. 1997. Production and properties of edible film using whey protein (en línea). *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 1997 2:2 2(2):122-125. DOI:

<https://doi.org/10.1007/BF02932339>.

Chiumarelli, M; Hubinger, MD. 2014. Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. *Food Hydrocolloids* 38:20-27. DOI:

<https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2013.11.013>.

Davidson, PM; Critzer, FJ; Taylor, TM. 2013. Naturally Occurring Antimicrobials for Minimally Processed Foods (en línea). *Annual Review of Food Science and Technology* 4(1):163-190.

DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030212-182535>.

Dehghani, S; Hosseini, SV; Regenstein, JM. 2018. Edible films and coatings in seafood preservation: A review (en línea). *Food Chemistry* 240:505-513. DOI:

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.034>.

Domene, M; Rodríguez, M. (2014). *Parámetros de calidad externa en la industria agroalimentaria*. s.l., s.e.

Erazo, C; Salazar, D. 2020. Conservación de la papaya (*Carica papaya* L.) con aplicación de bacterias ácido-lácticas provenientes del mucilago de cacao (*Theobroma cacao*). Quevedo, UTEQ. 59 p.

Escalante, A. 2015. Aplicación de un recubrimiento comestible de goma tara (*Caesalpinia spinosa* Molina Kuntze) sobre fresas (*Fragaria ananassa* cv. Aromas) para prolongar su conservación (en línea). Lima, UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA.

Consultado 19 oct. 2022. Disponible en

<https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/1854/J11.E74-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

FAO. 2021. Datos de cultivos.

Fernández, D; Bautista, S; Fernández, D; Ramírez, O; García, A; Falcón, A. 2015. Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 24(3):52-57.

Fernández, N; Echeverría, D; Mosquera, S; Paz, S. 2017. Estado actual del uso de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas (en línea). *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 15(2):134-141. DOI: [https://doi.org/10.18684/BSAA\(15\)134-141](https://doi.org/10.18684/BSAA(15)134-141).

Ferrer, Y. 2020. Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de almidón de cidrayota (*Sechium edule*) de la variedad *virens levis* en la calidad y vida útil de la fresa (*Fragaria ananassa*) (en línea). Ambato, UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. . Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/31413>.

Fox, PF; Uniacke-Lowe, T; McSweeney, PLH; O'Mahony, JA. 2015. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. 2nd ed. Cham, Springer International Publishing. 145-239 p. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2>.

Garcés, J. 2021. Evaluación de tres fertilizantes orgánicos para mejorar la producción de fresa (*Fragaria x ananassa*). Cevallos, Universidad Técnica de Ambato.

García, O; Pinzón, MI. 2017. Efecto de recubrimientos de almidón de plátano guayabo (*Musa paradisiaca* L.) en la calidad de las fresas. *Revista Alimentos Hoy* 24(39):92.

González, R. 2015. Films biodegradables antimicrobianos a base de almidón y gelatina (en línea). Valencia, UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA. . Consultado 18 oct. 2022. Disponible en [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/56543/D%C4%82AZ - FILMS](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/56543/D%C4%82AZ%20-%20FILMS)

BIODEGRADABLES ANTIMICROBIANOS A BASE DE ALMID%3N Y GELATINA.pdf?sequence=2.

Hager, J v; Rawles, SD; Xiong, YL; Newman, MC; Webster, CD. 2019. Edible Corn-zein-based Coating Incorporated with Nisin or Lemongrass Essential Oil Inhibits *Listeria monocytogenes* on Cultured Hybrid Striped Bass, *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*, Fillets During Refrigerated and Frozen Storage (en línea). *Journal of the World Aquaculture Society* 50(1):204-218. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jwas.12523>.

Han, JH. 2014. Chapter 9 - Edible Films and Coatings: A Review (en línea). *In Han, JHBT-I in FP (Second E (ed.))*. San Diego, Academic Press. p. 213-255 DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>.

INEN. 2008. NTE INEN 2337 (2008) (Spanish): Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos (en línea). Ecuador, s.e. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2337.pdf>.

\_\_\_\_\_. 2013. NTE INEN-ISO 1842:2013 - PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE pH (IDT). (en línea). *INEN*. Ecuador, s.e. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_iso\\_1842\\_extracto.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_1842_extracto.pdf).

\_\_\_\_\_. 2013. NTE INEN-ISO 750:2013 - PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS- DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE (IDT) (en línea). *INEN*. Ecuador, s.e. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_iso\\_750\\_extracto.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_iso_750_extracto.pdf).

\_\_\_\_\_. 2013. NTE INEN-ISO 2173:2013 - PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS- DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES-MÉTODO REFRACTOMÉTRICO (IDT) (en línea). *INEN*. . Ecuador, s.e. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en [https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte\\_inen\\_2173-1.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2173-1.pdf).

Janes, M; Dai, Y. 2012. Edible films for meat, poultry and seafood (en línea). *In Kerry, JP* (ed.). s.l., Woodhead Publishing. p. 504-506 DOI:

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-1-84569-751-8.50026-X>.

Khodaei, D; Hamidi-Esfahani, Z; Rahmati, E. 2021. Effect of edible coatings on the shelf-life of fresh strawberries: A comparative study using TOPSIS-Shannon entropy method (en línea). *NFS Journal* 23:17-23. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.02.003>.

Koyama, R; Ishibashi, M; Fukuda, I; Okino, A; Osawa, R; Uno, Y. 2022. Pre- and Post-Harvest Conditions Affect Polyphenol Content in Strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Plants* 11(17). DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11172220>.

Kumar, A; Bhatnagar, T. 2017. Studies to enhance the shelf life of tomato using aloe vera and neem based herbal coating (en línea). *Australian Journal of Science and Technology* 1(2). Consultado 18 oct. 2022. Disponible en [chrome-extension://efaidnbmninnibpcapjpcgclclefindmkaj/https://www.aujst.com/vol-1-2/04\\_AJST.pdf](chrome-extension://efaidnbmninnibpcapjpcgclclefindmkaj/https://www.aujst.com/vol-1-2/04_AJST.pdf).

Lan, W; Zhang, R; Ji, T; Sameen, DE; Ahmed, S; Qin, W; Dai, J; He, L; Liu, Y. 2021. Improving nisin production by encapsulated *Lactococcus lactis* with starch/carboxymethyl cellulose edible films (en línea). *Carbohydrate Polymers* 251:117062. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117062>.

López, D; Cuatin, L; Andrade, J; Osorio, O. 2016. Evaluación de un recubrimiento comestible a base de proteínas de lactosuero y cera de abeja sobre la calidad fisicoquímica de uchuva (*Physalis peruviana* L.) (en línea). *Acta Agronómica* 65(4):326-333. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169945826003>.

López-Mata, M; Ruiz-Cruz, S; Navarro-Preciado, C; Ornelas-Paz, J; Estrada-Alvarado, M; Gassos-Ortega, L; Rodrigo-Garcías, J. 2012. Efecto de recubrimientos comestibles de uitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas (en línea). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* XIV(1):33-43. Consultado 18 oct. 2022. Disponible en <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/113/106>.



- Moumita, S; Goderska, K; Johnson, EM; Das, B; Indira, D; Yadav, R; Kumari, S; Jayabalan, R. 2017. Evaluation of the viability of free and encapsulated lactic acid bacteria using in-vitro gastro intestinal model and survivability studies of synbiotic microcapsules in dry food matrix during storage (en línea). LWT 77:460-467. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.079>.
- Ortiz, R. 2017. Formulación de un recubrimiento comestible antifúngico a base de gelatina, glicerol y natamicina encapsulada en liposomas de fosfatidilcolina para su aplicación en fresa (*Fragaria vesca*) (en línea). Quito, Escuela Politécnica Nacional. . Consultado 20 oct. 2022. Disponible en <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/17195>.
- Peña, N. 2020. Development of polymeric and silica filtering materials functionalized with antimicrobial compounds for the elimination of microorganisms in liquid food (en línea). Valencia (Spain), Universitat Politècnica de València. DOI: <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/137041>.
- Pérez, J; Zurita, J. 2019. Evaluación del efecto de diferentes concentraciones de sábila (*Xanthorrhoeaceae*) y cera carnauba (*Copernicia prunifera*) como recubrimiento para incrementar la vida útil de la frutilla (*Fragaria xananassa*) (en línea). Quito, USFQ. . Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/9101>.
- Pisoschi, AM; Pop, A; Georgescu, C; Turcuş, V; Olah, NK; Mathe, E. 2018. An overview of natural antimicrobials role in food (en línea). European Journal of Medicinal Chemistry 143:922-935. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.095>.
- Porat, R; Lichter, A; Terry, LA; Harker, R; Buzby, J. 2018. Postharvest losses of fruit and vegetables during retail and in consumers' homes: Quantifications, causes, and means of prevention (en línea). Postharvest Biology and Technology 139:135-149. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.11.019>.
- Prospector. 2022. Avonlac® 282 por Glanbia Nutritionals - Alimentos, Bebidas y Nutrición (en línea, sitio web). Consultado 19 oct. 2022. Disponible en

<https://www.ulprospector.com/es/la/Food/Detail/2039/361198/Avonlac-282?st=1&sl=143962669&crit=a2V5d29yZDpbYXZvbmXhY10%3d&ss=2&k=avonlac&t=avonlac>.

Quinza, E; López, M. 1978. Índices de madurez de frutos cítricos. Hojas divulgadoras 25-X78.

Reyes, M; Zschau, V. (2012). Frutilla, consideraciones productivas y manejo (en línea). Chile, s.e. Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://biblioteca.inia.cl/handle/20.500.14001/7561>.

Román-Gutiérrez, AD; García-Castro, MA; Castañeda-Ovando, MA; Autónoma del Estado de Hidalgo, U. 2022. Compuestos bioactivos presentes en alimentos con actividad antihipertensiva y su efecto en COVID-19. Periodicidad: Semestral 9:1-6. Consultado 13 dic. 2022.

Romero, A. 2019. Adición de nisina a queso fresco artesanal para disminuir la carga microbiana (en línea). Puebla, BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA. . Consultado 19 oct. 2022. Disponible en <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/14765/211419T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Ruiz, M; Ávila, J; Ruales, J. 2016. Diseño de un recubrimiento comestible bioactivo para aplicarlo en la frutilla (*Fragaria vesca*) como proceso de postcosecha (en línea). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 17(2):276-287. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81349041015>.

Santos-Vázquez, A; Velázquez-López, A; Vela-Gutiérrez, G. 2020. Viabilidad de bacterias ácido-lácticas en dos productos funcionales formulados con lactosuero y malanga (en línea). Biotecnia 22(3):138-145. DOI: <https://doi.org/10.18633/BIOTECNIA.V22I3.1234>.

Shendurse, A; Gopikrishna, G; Patel, A; Pandya, A. 2018. Milk protein based edible films and coatings—preparation, properties and food applications. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering* 8(2):219-226. DOI: <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2018.08.00273>.

Shrinet, K; Singh, RK; Chaurasia, AK; Tripathi, A; Kumar, A. 2021. Bioactive compounds and their future therapeutic applications. *Natural Bioactive Compounds* :337-362. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820655-3.00017-3>.

Sierra, L; Montoya, O; Ciro, H. 2013. Evaluación de la nisina como sustancia inactivadora de *Bacillus licheniformis* en el extracto líquido de café (en línea). *Revista MVZ Córdoba* 18:3715-3721. Consultado 18 oct. 2022. Disponible en [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-02682013000400016&Ing=en&nrm=iso&tIng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682013000400016&Ing=en&nrm=iso&tIng=es).

Singh, D; Sharma, RR. 2018. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables and Their Management. *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables* :1-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00001-7>.

Solano-Doblado, L; Alamilla-Beltrán, L; Jiménez, C. 2018. Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados (en línea). *Revista especializada en ciencias químico-biológicas* 21(supl. 2):30-42. DOI: <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2018.0.153>.

Tahir, HE; Xiaobo, Z; Mahunu, GK; Arslan, M; Abdalhai, M; Zhihua, L. 2019. Recent developments in gum edible coating applications for fruits and vegetables preservation: A review (en línea). *Carbohydrate Polymers* 224:115141. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115141>.

Teodoro, AJ. 2019. Bioactive Compounds of Food: Their Role in the Prevention and Treatment of Diseases (en línea). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/3765986>.

Treviño, MZ; García, S; Flores, M; Arévalo, K. 2015. Edible Active Coatings Based on Pectin, Pullulan, and Chitosan Increase Quality and Shelf Life of Strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Food Science* 80(8):M1823-M1830. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12938>.

Villarroel, J; Yáñez, A. 2016. Evaluación de diferentes polímeros biodegradables de origen vegetal como recubrimientos comestibles en frutas para prolongar su conservación (en línea). Quevedo, UTEQ. . Consultado 18 oct. 2022. Disponible en <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/1513>.

Wang, H; Zhang, R; Zhang, H; Jiang, S; Liu, H; Sun, M; Jiang, S. 2015. Kinetics and functional effectiveness of nisin loaded antimicrobial packaging film based on chitosan/poly(vinyl alcohol). *Carbohydrate Polymers* 127:64-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.03.058>.

## 6.2. Anexos

### Resultado de prueba microbiológica



#### INFORME DE RESULTADOS

INF.DIV-FQ-46014f

#### DATOS DEL CLIENTE

Cliente:	ONA CUNDULLE TANNIA FERNANDA
Dirección:	VALENCIA, SECTOR LA MODERNA, CALLE PRINCIPAL
Teléfono:	0959410499

#### DATOS DE LA MUESTRA

Muestra de:	ALIMENTO		
Descripción:	FRUTILLA		
Lote	-	Contenido declarado	1000g
Fecha de Elaboración:	-	Fecha de Vencimiento	-
Fecha de Recepción:	2022-10-17	Hora de Recepción	15:58
Fecha de Análisis:	2022-10-18	Fecha de Emisión	2022-10-24
Material de Envase:	-		
Toma de Muestra realizada por:	Cliente		
Observaciones:	Los resultados reportados en el presente informe se refieren a los datos y las muestras entregadas por el cliente a nuestro laboratorio.		

#### CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

Color:	Característico	Olor:	Característico
Estado:	SÓLIDO	Conservación:	REFRIGERACIÓN
Temperatura de la muestra:	---		

#### RESULTADOS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	RESULTADO	UNIDAD	METODO DE ANALISIS INTERNO	METODO DE ANALISIS DE REFERENCIA
RECuento DE MOHOS Y LEVADURAS	<1	UP / g	MMI-02	AOAC 997.02
COLIFORMES TOTALES / E. COLI	<1	UFC / g	MMI-04	AOAC 991.14

Se prohíbe la reproducción del presente informe de resultados, excepto en su totalidad previa autorización escrita de Multianalityca Cia. Ltda.

Cualquier información adicional correspondiente a los ensayos está a disposición del cliente cuando lo solicite.

El Tiempo de Retención de las Muestras en el Laboratorio a partir de la fecha de ingreso será de 15 días para muestras perecibles y 1 mes calendario para muestras medianamente perecibles y estables. Muestras para análisis microbiológicos 5 días laborables a partir de la fecha de análisis, posterior a este tiempo, el laboratorio no podrá realizar reensayos para verificación de datos o valores no conformes por parte del cliente.

Toda la información relacionada con datos del cliente e ítems de ensayo (muestras) y que pueda afectar a la validez de los resultados, ha sido proporcionada y son responsabilidad exclusiva del cliente. El laboratorio se responsabiliza únicamente de los resultados emitidos los cuales corresponden a la muestra analizada y descrita en el presente documento.

El laboratorio declina toda responsabilidad, acerca de desvíos encontrados en las muestras entregadas por el cliente y que pueden afectar a la validez de los resultados, particular que es comunicado al cliente en caso de ser detectado por el laboratorio.

El tiempo de almacenamiento de los informes de resultados y toda la información técnica relacionada al mismo para dar trazabilidad será de 5 años a partir de su fecha de emisión. (Punto 8.4.2 CR GA01 Criterios Generales Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibración según NTE INEN- ISO/IEC 17025:2018).

Prueba de Kruskal Wallis para el atributo color en el análisis sensorial

**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Color	A0	15	3,40	1,12	3,00	4,31	0,1006
Color	B2-1	15	3,20	1,01	3,00		
Color	B2-5	15	4,00	1,20	4,00		

Prueba de Kruskal Wallis para el atributo aroma en el análisis sensorial

**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Aroma	A0	15	2,93	1,03	3,00	1,60	0,4107
Aroma	B2-1	15	2,47	1,13	2,00		
Aroma	B2-5	15	2,60	1,06	2,00		

Prueba de Kruskal Wallis para el atributo sabor en el análisis sensorial

**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Sabor	A0	15	3,67	0,82	4,00	0,56	0,7299
Sabor	B2-1	15	3,53	0,74	4,00		
Sabor	B2-5	15	3,33	1,23	3,00		



Prueba de Kruskal Wallis para el atributo aceptabilidad en el análisis sensorial

**Prueba de Kruskal Wallis**

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Aceptabilidad	A0	15	3,67	0,90	4,00	0,89	0,6133
Aceptabilidad	B2-1	15	3,33	0,98	4,00		
Aceptabilidad	B2-5	15	3,27	1,16	3,00		

## Resultado de análisis de polifenoles

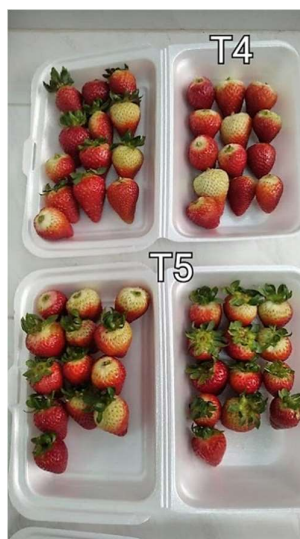
MC-LSAIA-2201-06

	<b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</b> ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS Panamericana Sur Km. 1. Cutuglagua. Tífs. 2690691-3007134. Fax 3007134 Casilla postal 17-01-340	

<b>**NOMBRE PETICIONARIO:</b>	Srta. Tania Fernanda Oña Cundulle	<b>**INSTITUCIÓN:</b>	Universidad Laica Eloy Alfaro de <u>Manabi</u>
<b>**DIRECCIÓN:</b>	Quevedo	<b>**ATENCIÓN:</b>	Srta. Srta. Tania Fernanda Oña Cundulle
<b>FECHA DE EMISIÓN:</b>	14/10/2022	<b>FECHA DE RECEPCIÓN.:</b>	22/09/2022
<b>FECHA DE ANÁLISIS:</b>	Del 23 de septiembre al 14 de octubre del 2022	<b>HORA DE RECEPCIÓN:</b>	15H00
		<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>	Polifenoles

ANÁLISIS	POLIFENOLES	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-31	
METODO REF.	CROS E Y MARIGO G. (1982/1973)	
UNIDAD	mg Ac. Gálico/100g	
22-0223	303,23	Frutilla recubrimiento día 1 R
22-0224	302,91	Frutilla recubrimiento día 5
22-0225	273.23	Frutilla testigo

## Frutillas en estudio



## Pesado de los insumos para la formulación correcta del recubrimiento





## Recubrimiento de la frutilla



## Frutillas con recubrimiento día 1



## Frutillas con recubrimiento al día 6





### Análisis sensorial de frutilla con recubrimiento comestible al día 5



Análisis sensorial



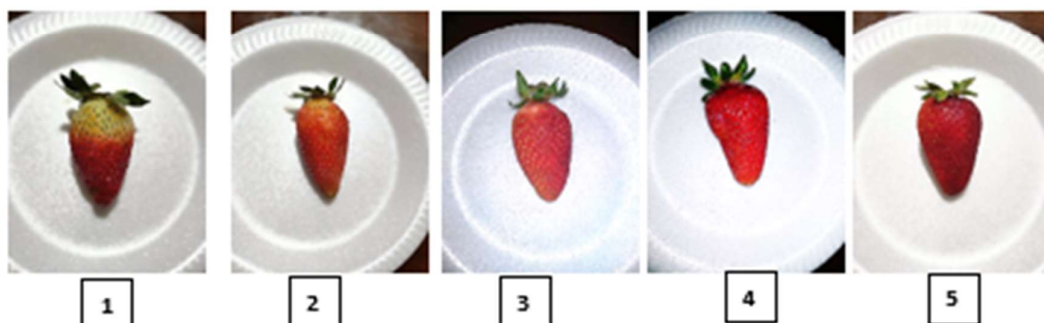
**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROINDUSTRIALES**  
**HOJA DE CATACIÓN**

**Determinación de la capacidad bioactiva de un recubrimiento comestible a base de proteína láctea y Nisina en la frutilla (*Fragaria ananassa*)**

Manta, octubre 15 del 2022

NOMBRE: .....

**Indicaciones:** Por favor pruebe las siguientes muestras de frutillas con recubrimiento comestible y marque con una (X) la respuesta que considere más conveniente



PARAMETRO	Escala	MUESTRAS			
		Puntaje	Testigo A0	B2-1	B2-5
COLOR	Rojo muy claro	1			
	Rojo claro	2			
	Rojo	3			
	Rojo intenso	4			
	Rojo muy intenso	5			
AROMA	Nada perceptible	1			
	Ligeramente perceptible	2			
	Medianamente intenso	3			
	Intenso	4			
	Muy intenso	5			
SABOR	Me disgusta mucho	1			
	Me disgusta un poco	2			
	Ni me gusta ni me disgusta	3			
	Me gusta	4			
	Me gusta mucho	5			
ACEPTABILIDAD	Me disgusta mucho	1			
	Me disgusta un poco	2			
	Ni me gusta ni me disgusta	3			
	Me gusta	4			
	Me gusta mucho	5			