



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE MAGISTER EN ALIMENTOS

Películas comestibles para alimentos con propiedades antimicrobianas

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Soto Granda, María Antonia

DIRECTOR: Meneses Chamba, Miguel Ángel, PhD.

LOJA - ECUADOR

2020

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

PhD.

Miguel Ángel Meneses Chamba

DOCENTE DE LA TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: “Películas comestibles para alimentos con propiedades antimicrobianas” realizado por María Antonia Soto Granda, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, mayo del 2020

f).....

DECLARACIÓN DE AUDITORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo María Antonia Soto Granda declaro ser la autora del presente trabajo de titulación: “Películas comestibles para alimentos con propiedades antimicrobianas” de la Maestría en Alimentos, siendo el PhD. Miguel Ángel Meneses Chamba director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de Investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”.

f.....

Autora: María Antonia Soto Granda

Cédula:1900553015

DEDICATORIA

A Dios, por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y cumplir con esta meta que me planteo al terminar mi pregrado, a pesar de las dificultades que he vivido todo este año y medio

A mi Madre Julia Dayse Edith Granda Gutiérrez y Abuelito Rafael Alejandro Soto Villacis, por iluminarme y protegerme desde el cielo todos los días de mi vida, por estar acompañándome de manera espiritual en los momentos de desesperación y angustia que he tenido durante toda mi vida académica

A mi Padre Charvel Antonio Soto Torres y a mis hermanos, Enrique, Andrea, Inés y Juan, por confiar en mí, por haberme dado todo lo que soy como persona, mis valores, principios y mi coraje para conseguir mis objetivos, por sus consejos en los momentos difíciles y por ayudarme con los recursos necesarios para poder realizar mis estudios académicos

AGRADECIMIENTO

Primeramente, quiero agradecer a Dios por haberme guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de muchas oportunidades, experiencias y aprendizajes

A la UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA, por permitirme realizar mis estudios de posgrado y poder hoy cumplir seguir formando académicamente

A mi Director de tesis el PhD. Miguel Ángel Meneses Chamba, por su paciencia, comprensión y dedicación en este trabajo, quien con sus conocimientos, experiencia y motivación ha logrado en mí que pueda culminar con mis estudios de posgrado con esta investigación.

También me gustaría agradecer a todos y cada uno de mis profesores quienes compartieron sus conocimientos durante este posgrado, de manera especial al Mgrt. Jorge Felipe Reyes Bueno por haber compartido sus conocimientos sobre la presente investigación los cuales me supieron ser de mucha utilidad para poder hoy culminar con esta investigación.

A mi Familia, por el apoyo incondicional que me supieron brindar a lo largo de esta gran meta, gracias por los consejos la paciencia y la confianza depositada, de forma especial quiero hacer un agradecimiento muy especial a mi hermana María Inés, la cual siempre asido como mi madre en los 26 años de vida que llevo, y en este trabajo ha llegado a ser un pilar muy fundamental y asido uno de mis más grandes razones para salir adelante muchas gracias mi eterna Mes por siempre estar y confiar en mí siempre.

A mis compañeros de la primera cohorte de la Maestría en Alimentos, por compartir sus conocimientos, amistad y compañerismo siempre

ÍNDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUDITORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
ABREVIATURAS.....	xii
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPITULO I.....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1. ETA.....	6
1.1. Microorganismos causantes de ETA.....	7
1.1.1. Mohos	7
1.1.2. Levaduras	8
1.2. Películas comestibles	9
1.2.1. Tipos de películas comestibles	9
1.2.2. Propiedades de una película comestible.....	9
1.2.2.1. <i>Propiedades de barrera</i>	9
1.2.2.2. <i>Propiedades mecánicas</i>	10

1.2.2.3. Propiedades de solubilidad.....	10
1.3. Aplicaciones de las películas comestibles	10
1.4. <i>Simira Ecuadorensis</i> (Guapala).....	11
1.4.1. Aplicaciones en la Industria Alimentaria	11
1.5. Aplicación de extractos naturales en alimentos	12
1.6. Estudios realizados con extractos naturales con efecto antimicrobiano aplicados en alimentos	12
CAPITULO II.....	15
MATERIALES Y MÉTODOS	15
2. Elaboración del extracto de hoja de Guapala <i>Simira Ecuadorensis</i>	16
2.1. Recolección y preparación de muestras	17
2.2. Acondicionamiento de materias primas	17
2.3. Elaboración de película comestible	18
2.3.1. Formulación de recubrimiento.....	18
2.4. Análisis microbiológicos.....	21
2.5. Análisis sensoriales	21
2.6. Diseño de la Investigación.....	21
2.6.1. Análisis estadístico	22
CAPITULO III.....	23
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	23
3.1. Rendimientos de extracción.....	24
3.2. Obtención de Películas comestibles con extracto de Guapala	24
3.3. Efecto antimicrobiano del extracto de Guapala en fresas.....	24
3.4. Efecto del extracto de Guapala sobre la calidad sensorial de fresas	29
CONCLUSIONES.....	34
RECOMENDACIONES	35

BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS.....	39
ANEXO 1 ELABORACIÓN DE EXTRACTO.....	40
ANEXO 2 PROTOCOLO DE SIEMBRA MICROBIOLÓGICA.....	42
ANEXO 3 FICHA PARA ANÁLISIS SENSORIAL.....	43
ANEXO 4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Carga mundial de ETA.....	6
Figura 2 Presencia de mohos en alimentos	8
Figura 3 Levaduras en alimentos.....	8
Figura 4 Simira ecuatoriensis (guapala)	11
Figura 5 Elaboración de extracto de Guapala	16
Figura 6 Fresas.....	17
Figura 7 Fresas con hipoclorito de calcio	17
Figura 8 Elaboración de película.....	20
Figura 9 Fresas con recubrimiento al 5to día	21
Figura 10 Recubrimientos con extracto de guapala	24
Figura 11 Fresas para determinación microbiológica.....	25
Figura 12 Análisis microbiológicos.....	25
Figura 13 Determinación de Mohos y levaduras	26
Figura 14 Efecto de la temperatura de almacenamiento y la concentración de extracto sobre el crecimiento microbiano.....	29
Figura 15 Deshidratación de hojas de Guapala	40
Figura 16 Maceración de Hojas de Guapala	40
Figura 17 Filtrado de extracto	41
Figura 18 Rotavaporación de Etanol	41
Figura 19 Optimización de respuesta (Tratamiento óptimo)	45
Figura 20 Diagrama de Pareto.....	46
Figura 21 Gráficas de probabilidades	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Evaluación de extractos naturales como conservantes alimentarios	13
Tabla 2 Formulación de recubrimiento	18
Tabla 3 Rendimiento de extracto	24
Tabla 4 Resultados microbiológicos temperatura ambiente	27
Tabla 5 Resultados microbiológicos temperatura de refrigeración	27
Tabla 6 Fresas con recubrimiento al ambiente primer día	30
Tabla 7 Fresas con recubrimiento primer día en refrigeración.....	30
Tabla 8 Fresas con recubrimiento quinto día al ambiente	32
Tabla 9 Fresas con recubrimiento quinto día en refrigeración	33

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 ELABORACIÓN DE EXTRACTO.....	40
ANEXO 2 PROTOCOLO DE SIEMBRA MICROBIOLÓGICA.....	42
ANEXO 3 FICHA PARA ANÁLISIS SENSORIAL.....	43
ANEXO 4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS	44

ABREVIATURAS

ETA	Enfermedades transmitidas por alimentos
INEN	Instituto Ecuatoriano de Normalización
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
BPM	Buenas Prácticas de Manufactura
OMS	Organización Mundial de la Salud
UFC	Unidades formadoras de colonias
ESPC	Estimado
TNTC	Incontable
g	Gramo

RESUMEN

En el presente trabajo se realizaron películas o recubrimientos comestibles con efecto antimicrobiano, con la adición de extracto de guapala *Simira ecuadorensis*, esto con la finalidad de darle un valor agregado a las diferentes vegetaciones de nuestro país, así como también evitar y sustituir conservantes sintéticos, por conservantes naturales los cuales permitan alargar la vida útil de los alimentos de una mejor manera sin alterar sus características sensoriales y nutricionales. Para ello se partió de la obtención de un extracto de guapala *Simira ecuadorensis*, el cual fue adicionado a la película comestible en 3 concentraciones diferentes (0,1; 0,5 y 1,0%), se almacenaron a temperatura ambiente y en refrigeración, finalmente se determinó el efecto antimicrobiano mediante el método oficial de la AOAC 6407, para mohos y levaduras, así como también evaluaciones sensoriales (color, olor, sabor y textura) de las mismas. La concentración que presentó efecto antimicrobiano considerable fue la de 1% de extracto combinada con temperatura de refrigeración. Con todo lo expuesto en la presente investigación, se recomienda el uso de este tipo de recubrimientos comestibles con antimicrobianos de origen vegetal.

Palabras claves: película comestible, conservación, vida útil, mohos y levaduras

ABSTRACT

In the present work, edible films or coatings with antimicrobial effect were made, with the addition of guapala extract *Simira ecuadorensis*, this in order to give added value to the different vegetation of our country, as well as avoid and replace synthetic preservatives, by natural preservatives which allow to extend the shelf life of food in a better way without altering its sensory and nutritional characteristics. For this, it was based on obtaining an extract of guapala *Simira ecuadorensis*, which was added to the edible film in 3 different concentrations (0.1, 0.5 and 1.0%), stored at room temperature and in refrigeration. Finally, the antimicrobial effect was determined by means of the official method of AOAC 6407, for molds and yeasts, as well as sensory evaluations (color, odor, flavor and texture) of the same. The concentration that presented considerable antimicrobial effect was that of 1% of extract combined with refrigeration temperature. With all the exposed in the present investigation, the use of this type of edible coatings with antimicrobials of vegetable origin is recommended.

Keywords: edible film, conservation, shelf life, molds and yeasts

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un gran interés por incentivar al consumo de alimentos más sanos y nutritivos, que tengan un alto índice de vitaminas y minerales que contribuyan al buen desarrollo del cuerpo disminuyendo de esta manera el incremento de enfermedades como la diabetes y la obesidad, la desventaja que presentan este tipo de alimentos es el tiempo de vida útil, la misma que se encuentra por debajo de los 30 días debido a su alto contenido de agua, es por ello que la industria busca elaborar alternativas de conservación, que permitan conservar las características sensoriales y nutritivas de este tipo de alimentos.

Según la FAO, un tercio de los alimentos que son producidos a nivel mundial se desechan o se desperdician lo que equivale a 1300 toneladas de alimentos desperdiciados, debido a la mala manipulación que se les da dentro de las grandes industrias, así mismo la elaboración de algunos productos de grado alimentario no utilizan el 100% de los alimentos, como resultado de esto se tiene un gran porcentaje de desechos de subproductos y/o alimentos altamente perecederos como son las frutas.

La tecnología dentro del ámbito alimentario, busca satisfacer las necesidades y preferencias de los consumidores al querer desarrollar alimentos de fácil preparación pero que tenga una larga vida útil sin sacrificar las características nutricionales y sensoriales de los mismos.

Las películas comestibles o recubrimientos comestibles, son considerados como barreras antimicrobianas que permiten alargar la vida útil de los alimentos gracias a su característica permeable que presentan contra factores extrínsecos como la temperatura y humedad relativa que pueden llegar a influir de forma directa en la contaminación física, química y microbiológica de un alimento, dichas soluciones formadoras de la película o recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, el mismo que es un compuesto de naturaleza proteica, un lípido o por una mezcla de éstos, a pesar de sus diferencias, ambas proceden de igual manera frente a diversas sustancias que actúan sobre el alimento como barrera frente al transporte de gases y vapor de agua durante su conservación. Así mismo los compuestos antimicrobianos que se encuentran presentes en ciertas plantas están siendo considerados como nuevos aditivos tecnofuncionales los cuales actúan frente la actividad microbiana de bacterias y hongos, dependiendo de la naturaleza tanto del microorganismo a tratar, así como la del alimento en el cual se le va a aplicar.

El presente trabajo tiene como objetivos planteados elaborar películas comestibles para alimentos con propiedades antimicrobianas, determinar la formulación de una película comestible a base de extracto de guapala *Simira ecuadorensis* para la conservación de frutas de consumo directo y evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de guapala *Simira ecuadorensis* en la elaboración de películas comestibles para la conservación de frutas de consumo directo a través de indicadores microbiológicos como determinación de mohos en siembra en placa petrifilm, así mismo está formado por tres capítulos, en el primer capítulo se hace una breve descripción sobre la importancia que tienen las Enfermedades transmitidas por alimentos, información de la hoja de guapala *Simira ecuadorensis* y su uso en la industria de alimentos, así como también se presentan algunas investigaciones que se han realizado sobre la aplicación de extractos naturales como conservantes, en el segundo capítulo se describe los materiales y métodos empleados para el desarrollo de la presente investigación, finalmente en el último capítulo se presentan los resultados obtenidos de esta investigación así como también la discusión de los mismos, realizando una comparación con investigaciones ya realizadas.

CAPITULO I.

MARCO TEÓRICO

1. ETA

Las enfermedades transmitidas por los alimentos o también denominadas como (ETA) son producidas por la ingestión de alimentos y/o bebidas contaminados con microorganismos patógenos, los cuales afectan la salud de los consumidores en forma individual o colectiva, los síntomas más comunes son diarreas y vómitos, pero también se pueden llegar a presentar otro tipo de síntomas más severos como: choque séptico, hepatitis, cefaleas, fiebre, visión doble, etc., (Flores y Herrera, 2005). En la Figura 1 se puede observar los reportes emitidos por la OMS, sobre la cantidad de personas afectadas por enfermedades transmitidas por alimentos.



Figura 1 Carga mundial de ETA

Fuente: OMS (2015)

Elaborado por: Autora

Hasta la fecha se han descrito más de 250 enfermedades transmitidas por alimentos, la mayoría son infecciones ocasionadas por distintas bacterias, virus y parásitos, entre las más comunes se encuentran especies de los géneros *Campylobacter* y *Salmonella*, así como la cepa O157:H7 de la enterobacteria *Escherichia coli*, que a largo plazo, algunas de estas enfermedades pueden conducir a otros padecimientos; por ejemplo, es posible que una infección con la cepa O157:H7 de *E. coli* llegue a provocar el síndrome hemolítico urémico (SHU) con secuelas de insuficiencia renal crónica (Torrens et al., 2015).

1.1. Microorganismos causantes de ETA

Una de las principales causas más importantes de la disminución de la calidad, seguridad biológica y alimentaria de los alimentos es el desarrollo de microorganismos como bacterias, hongos, virus y parásitos los cuales son los responsables de las alteraciones organolépticas y nutricionales en un alimento, para evitar que estos produzcan enfermedades, garantizar su calidad microbiológica, mediante el estudio de microorganismos indicadores de higiene, los cuales nos ayudan a revelar las condiciones de manejo, higiene y desinfección de los alimentos durante las diferentes etapas del proceso de elaboración (González et al., 2010). El tipo de microorganismo a presentarse dependerá de la naturaleza del alimento, no todos los microorganismos crecen en el mismo alimento, su crecimiento se verá relacionado con las características tanto intrínsecas como extrínsecas del alimento como tal (Saltos et al., 2018). En la presente investigación debido a las características intrínsecas (acidez), que presenta el alimento seleccionado (fresas), el cual facilita el crecimiento de los microorganismos tolerantes a ácido, se hace el estudio de microorganismos como hongos y levaduras (predominantemente hongos) y bacterias lácticas (Corrales, 2018).

1.1.1. Mohos

Los mohos están formados por estructuras tubulares llamadas hifas, las cuales crecen por ramificación y extensión longitudinal, no son móviles, presentan su pared celular de forma filamentosa la cual está compuesta por celulosa, quitina o ambas, se presentan en colonias grandes de color variable (puede llegar a producir un pigmento amarillo, negro o verde) como se puede observar en la Figura 2 y pueden ser Toxigénicos y de descomposición (Borbolla et al., 2004). Estos microorganismos, se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o a su vez como agentes contaminantes y en los equipos que son usados para su preparación, provocando de esta manera el deterioro fisicoquímico de éstos, debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos originando un olor desagradable (Bibek y Bhumia, 2010).

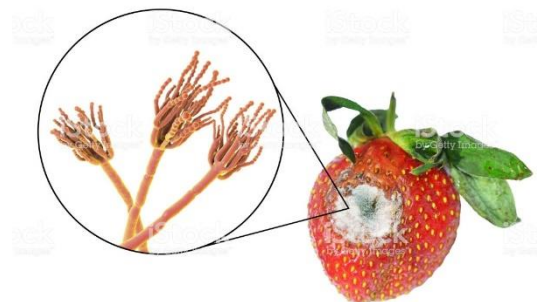


Figura 2 Presencia de mohos en alimentos

Fuente: Morales (2011)

Elaborado por: Autora

1.1.2. Levaduras

Son especies particulares capaces de causar deterioro en alimentos y bebidas, son considerados como organismos eucariontes unicelulares redondos u ovals, se reproducen por gemación, no son móviles, su pared celular está compuesta por polisacáridos (glucanos) proteínas y lípidos, se presentan en colonias pequeñas con bordes definidos de color rosado o verde- azul no poseen centro (Bibek et al., 2010). La actividad contaminante de las levaduras sobre alimentos puede inhibirse por dos vías; mediante la aplicación de métodos físicos con actividad bactericida, entre los que se destacan la esterilización por calor a presión y por filtración y por la aplicación de condiciones ambientales desfavorables con efecto bacteriostático, tales como disminución de la a_w , bajos valores de pH y temperatura (Orberá, 2004). En la Figura 3 se puede observar el crecimiento de levaduras en placa petrifilm de un alimento contaminado (Magalhaes y Queiroz, 2019)

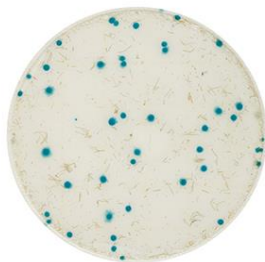


Figura 3 Levaduras en alimentos

Fuente: Magalhaes y Queiroz (2019)

Elaborado por: Autora

1.2. Películas comestibles

Una película o recubrimiento comestible se define como una matriz continua, estructurada por polisacáridos, compuestos de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos, normalmente se presenta delgada y se estructura alrededor de un alimento, generalmente a través de una inmersión, poseen propiedades mecánicas, generando un efecto barrera frente al transporte de gases, y pueden adquirir diversas propiedades funcionales dependiendo de las características de las sustancias encapsuladas y formadoras de dichas matrices, así mismo algunas de las características que debe tener una película o recubrimiento comestible son: su costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas, sobre la tensión y la flexibilidad, propiedades ópticas de brillo y opacidad, su efecto barrera frente al flujo de gases, resistencia estructural al agua, a microorganismos y su aceptabilidad sensorial (Rojas-Graü et al., 2009).

1.2.1. Tipos de películas comestibles

Los recubrimientos comestibles se clasifican según su material estructural, estos pueden ser a base de proteínas, lípidos o carbohidratos, en la actualidad se han realizado nuevas tecnologías en base de películas o recubrimientos, compuestos principalmente por diversos polisacáridos, proteínas y lípidos, esto con la finalidad de aprovechar las propiedades de cada uno de estos compuestos y la sinergia entre los componentes que son combinados para la formación del recubrimiento, ya que las propiedades mecánicas y de barrera dependen de los compuestos o ingredientes que integran la matriz polimérica y de su compatibilidad (Altenhofen et al., 2009)

1.2.2. Propiedades de una película comestible

Algunas de las propiedades que presentan las películas o recubrimientos, son:

1.2.2.1. *Propiedades de barrera*

Las películas comestibles deben presentar en gran medida esta propiedad contra gases y vapores, a los cuales se ve sometido un alimento, esto debido a que ciertos ambientes ajenos a los alimentos pueden incurrir en algunos procesos no beneficiosos como: la oxidación, pérdida de aromas, aumento o disminución de la humedad lo cual puede llegar

a acelerar su descomposición ya sea por deshidratación o por putrefacción, alterando de esta manera la calidad final del alimento o producto (Fabra et al., 2012).

1.2.2.2. *Propiedades mecánicas*

Con lo que respecta a las propiedades mecánicas, son aquellas que permiten determinar la durabilidad de la película o recubrimiento, al ser combinada con otros compuestos, como los lípidos, plasticantes, etc., es donde el recubrimiento adquiere este tipo de propiedad (Regalado et al., 2006).

1.2.2.3. *Propiedades de solubilidad*

Es una propiedad muy importante ya que está estrechamente relacionada con el uso que se le vaya a dar a la película o recubrimiento, es decir que si se desea que proporcione resistencia a la humedad e integridad al alimento que cubre, se debe emplear que dicha película sea insoluble, por otro lado si la película es soluble se requiere que contenga algún ingrediente específico (Pérez Gago et al., 1999).

1.3. *Aplicaciones de las películas comestibles*

Las películas o recubrimientos comestibles permiten alargar la vida útil de los alimentos, mejorando de esta manera su calidad, pero para que esta tecnología “de empackado”, sea eficiente se debe considerar, la forma en que las propiedades de la solución de la cual está formado dicho recubrimiento afectan o influyen en la vida útil del alimento en donde es aplicado, es decir como este puede cambiar con el tiempo, la interacción que se presenta entre el polímero y el alimento, así mismo hasta qué punto se puede ver afectada la película por las condiciones de almacenamiento como por ejemplo la temperatura (Bourtoom, 2008).

1.4. *Simira Ecuadorensis* (Guapala)



Figura 4 *Simira ecuadorensis* (guapala)
Fuente: Basantes (2003)
Elaborado por: Autora

La guápala (Figura 4) es considerado como un arbusto que tiene mayor dispersión de semillas, se encuentra muy bien distribuida en zonas hondonadas y laderas con una mayor densidad, se encuentra formando grupos en toda la reserva aprovechando de esta manera los claros del bosque, este arbusto brota a partir de la primera semana del mes de diciembre, alcanzando su mayor producción en el mes de abril (Basantes, 2003).

Dentro de la Botánica es considerada como un arbusto o árbol pequeño caducifolio, de hasta 10 m de altura, ramificado presentando muchos tallos desde 1 m del suelo, dichos tallos poseen tejidos que se oxidan presentando un color rojo purpúreo cuando son cortados, sus hojas son simples, opuestas, grandes de hasta 15 cm de longitud por 8 cm de ancho, ápice agudo, borde entero y pecíolo cortó, sus flores son simples (1,3 x 1,6 cm) con pedúnculo; cáliz de seis sépalos, verde claro; corola de cuatro pétalos de color amarillo, agrupadas en inflorescencias panículas terminales, el fruto una cápsula de 3,5 cm, verde (tierno) y café oscuro (maduro), con dos cavidades donde existen numerosas semillas aladas (Aguirre, 2013).

1.4.1. Aplicaciones en la Industria Alimentaria

De una forma que se la puede llegar a considerar dentro de nuestro país, especialmente en la ciudad de Zapotillo, este arbusto es muy utilizado para construcciones rurales, leña y

para cercar huertos, para evitar la salida de los animales (cabras), pero la hoja en la cual se centra la presente investigación, es usada por los zapotillanos como envoltura de los quesos de chiva, fabricando a más de las envolturas, canastas colgantes a partir de dichas hojas, en las que se colocaban los quesos debido a la falta de refrigeradoras, de esta forma el queso tenía una mayor vida útil dándole un aroma y un color rosáceo, se sabe que en la actualidad son pocas las personas que continúan con esta tradición (Sánchez et al., 2006).

1.5. Aplicación de extractos naturales en alimentos

Las plantas y sus subproductos agroalimentarios son una gran fuente de productos naturales biológicamente activos, ya que cuentan con constituyentes químicos que presentan un alto rango de estructuras y propiedades tanto físico – químicas como biológicas, muchos de los beneficios que presentan este tipo de productos y subproductos y que han sido conocidos desde la antigüedad, es su efecto antimicrobiano, insecticida, antioxidante, etc. Este tipo de efectos son debidos a los compuestos sintetizados que se encuentran presentes y que han sido demostrados de forma genética, fisiológica y bioquímica, las técnicas para su extracción dependerán de su aplicación y del efecto esperado (Saíz, 2010).

En Ecuador, existe una tradición muy fuerte sobre el uso de plantas, especialmente por parte de los pueblos indígenas, como aplicación medicinal y de alimentos, varios de estos grupos étnicos utilizan el conocimiento ancestral para curar enfermedades infecciosas causadas por parásitos, bacterias y virus, mientras que desde la antigüedad hasta la presente fecha se siguen empleando hojas de diferentes plantas o arbustos con la finalidad de contener y transportar los alimentos así como también para llevar a cabo procesos de maduración o conservación de los mismos (Rondon, 2018).

1.6. Estudios realizados con extractos naturales con efecto antimicrobiano aplicados en alimentos

A continuación, en la Tabla 1, se presentan algunos estudios realizados, sobre el efecto antimicrobiano que presentan extractos naturales aplicados en alimentos.

Tabla 1 Evaluación de extractos naturales como conservantes alimentarios

TEMA DE ESTUDIO REALIZADO	CONCENTRACIONES	RESULTADOS OBTENIDOS	CITA BIBLIOGRAFIA
Evaluación del extracto de romero (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>) con aceite de oliva (<i>Olea europea L.</i>) como conservante natural en una mortadela especial	T1: 1,0% de extracto de romero y 0,5% de aceite de oliva, T2: 1,5% extracto de romero y 0,5% de aceite de oliva T3: 2,0 % de extracto de romero y 0,5% de aceite de oliva	De la investigación realizada se determinó que los tres tratamientos realizados aportan una larga vida útil de la mortadela durante un mes, así mismo el T3 (tratamiento 3) favorece el aumento de proteína, cenizas y fibra en el producto final.	(Vergara et al., 2016)
Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada	T1: 150 mg.kg-1 de AEO, T2: 8 % de EA T3: 150 mg.kg-1 de AEO y 8 % de EA	La combinación del aceite esencial de orégano y el extracto de ajo T3 favorecieron a la inhibición de microorganismos patógenos como coliformes, <i>Escherichia coli</i> , mohos y levaduras así como también aumento la vida útil de la carne de hamburguesa	(Castillo, 2017)
Uso de extracto de <i>Simira ecuadorensis</i> (Standl) como conservante de queso fresco.	T1: 1.02 g liofilizado/453.6 g queso T2: 1.23 g atomizado/453.6 g queso T3: 1.27 g etanólico/453.6 g queso T4: 1.3 g etanol-agua/453,6 g queso	El extracto de guapala <i>Simira ecuadorensis</i> presento efecto antimicrobiano sobre <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>coliformes totales</i> y <i>Escherichia coli</i> , sin embargo, en cuanto a las características sensoriales del queso final con extracto no fue muy aceptable su color específicamente.	(Jumbo, 2019)
Efecto de los extractos de orujo de uva obtenidos de diferentes	T1: 1% de extracto T2: 2% de extracto	Los tratamientos si presentaron efecto antimicrobiano sobre sepas como <i>E coli</i> , así mismo no se ve efecto negativos en las	(Sagdic et al., 2011)

<p>variedades de uva sobre la calidad microbiana de la empanada de carne.</p>	<p>T3: 5% de extracto T4: 10% de extracto</p>	<p>características sensoriales del producto final, tanto como en la carne como en las empanadas.</p>	
<p>Evaluación de la actividad antibacteriana y antioxidante del extracto metanólico e hidrometanólico de las cáscaras de naranja dulce.</p>	<p>T1:25% de extracto T2: 50% de extracto T3: 75% de extracto T4: 100% de extracto</p>	<p>De la presente investigación se pudo determinar que los extractos matanolicos presentaron mayor halos de inhibición en las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>E coli</i>. De hasta 16 mm con adición del 75 y 100% de extracto, frente a los extractos hidrometanolicos los cuales presentaron halos de inhibición de entre 10 y 12 mm en los porcentajes añadidos anteriormente mencionados</p>	<p>(Dubey et al., 2011)</p>

Fuente: La Autora
Elaborado por: Autora

CAPITULO II.

MATERIALES Y MÉTODOS

2. Elaboración del extracto de hoja de Guapala *Simira Ecuadorensis*

Para la elaboración del extracto las hojas de Guapala fueron recolectadas en la ciudad de Macará, para la elaboración de extracto se realizó el siguiente procedimiento (Figura 5)

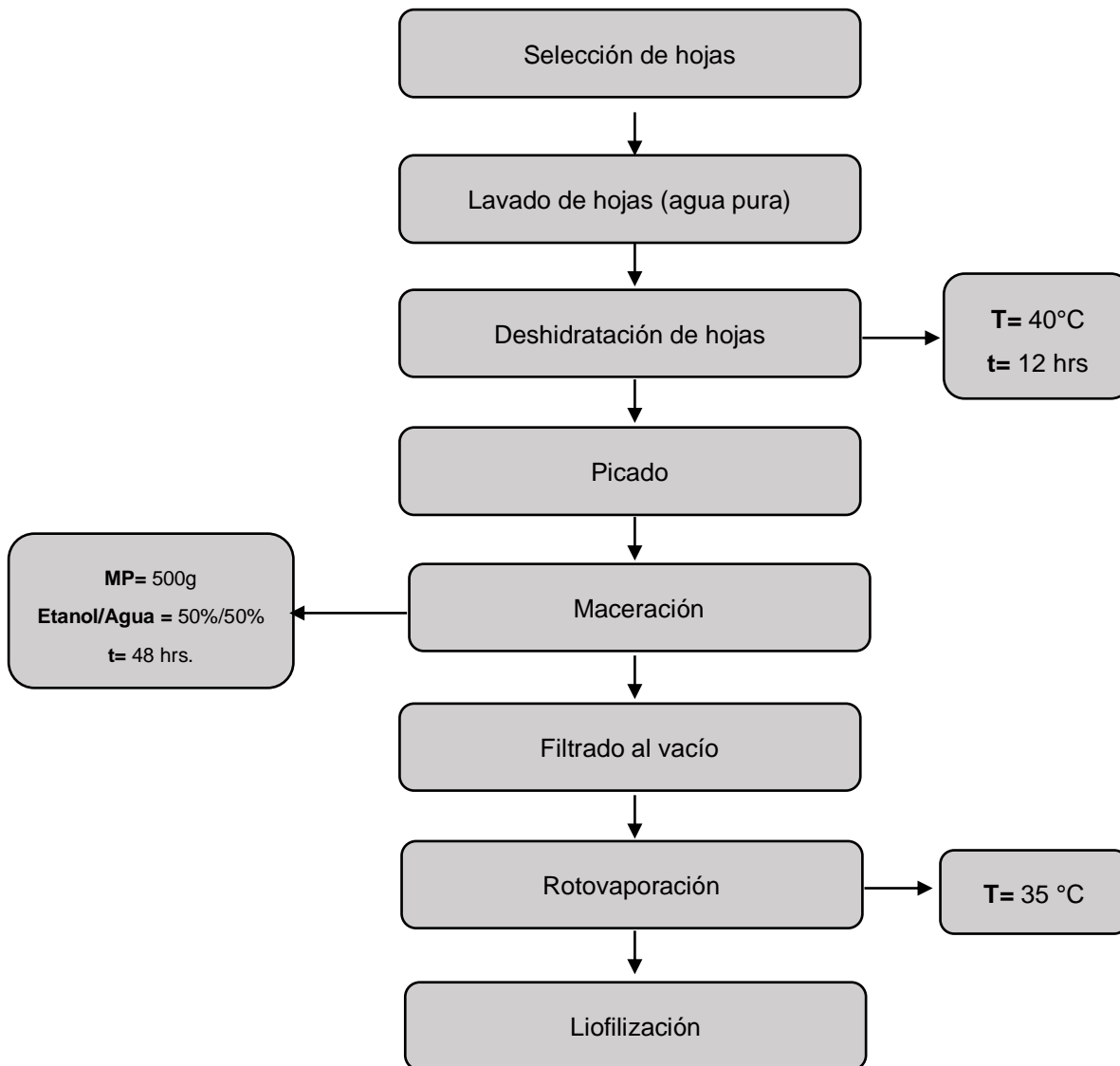


Figura 5 Elaboración de extracto de Guapala

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

2.1. Recolección y preparación de muestras

Para la presente investigación se evaluará el recubrimiento en fresas empacadas en film de supermercado (Figura 6), se seleccionó dicha materia prima debido a que es una fruta que tiene una vida útil reducida debido a su alto contenido de agua, así como también su selección se debió a que es muy consumida por el medio local.



Figura 6 Fresas
Fuente: Autora
Elaborado por: Autora

2.2. Acondicionamiento de materias primas

Se desinfectaron las frutas con hipoclorito de calcio a 100 ppm durante 1 minuto (FAO,2003), para disminuir de esta forma la carga microbiana presente en las mismas (Figura 7).



Figura 7 Fresas con hipoclorito de calcio
Fuente: Autora
Elaborado por: Autora

2.3. Elaboración de película comestible

Para la elaboración de la película se propusieron 3 concentraciones diferentes (0,1 – 0,5 y 1%) de extracto de guapala por cada 100 g de recubrimiento (formulación de recubrimiento). Las formulaciones que se las plantearon, tomando con referencia investigaciones científicas de Enciso y Hortua (2010).

2.3.1. Formulación de recubrimiento

A continuación, en la Tabla 2 se presenta la formulación del recubrimiento comestible (para 100 g de recubrimiento), así como también la función que cumple cada ingrediente.

Tabla 2 Formulación de recubrimiento

INGREDIENTES	PESO (%)
Agua	95,34
Almidón de yuca	1,9
Glicerol	1,9
Aceite vegetal	0,38
Tween 60	0,38
Extracto de Guapala liofilizado	0,1; 0,5; 1
TOTAL	100%

Fuente: (Enciso y Hortua, 2010)

Elaborado por: Autora

Almidón de yuca. – Es considerado como el material hidrocoloide, el cual forma redes moleculares cohesionadas por una alta interacción entre sus moléculas, este tipo de polisacáridos le confiere a la película buenas propiedades mecánicas y de barrera a gases como el O₂ y CO₂, por lo cual retardan respiración y envejecimiento de muchas frutas y hortalizas (Eric, 2009).

Glicerol. - Este ingrediente cumple la función de plastificante, lo que específicamente hace en la película sean menos rígidas a la hora de ser mezclado con el almidón de yuca (Enriquez et al., 2012).

Aceite Vegetal. - Los lípidos en la formación de películas o recubrimientos comestibles, presentan propiedades de barrera frente a la humedad, reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y la apariencia del producto final, con recubrimiento (Fernandez et al., 2015).

Tween 60.- Emulsionante el cual permite reducir las fuerzas de cohesión lo que a su vez permite disminuir la tensión superficial, aumentando la humectabilidad de la solución de recubrimiento y mejorando de ese modo la compatibilidad del recubrimiento con la superficie de la fruta (Cerón, 2010)

Extracto de Guapala. - Antimicrobiano

Además, se debe recalcar que se optó por utilizar el almidón de yuca debido a su fácil acceso y elaboración, así como también por el costo el mismo que esta \$1,25 los 500g frente a la proteína aislada de soya que tiene un precio de \$2,50 la misma cantidad, el proceso de elaboración se los explica en la Figura 8.

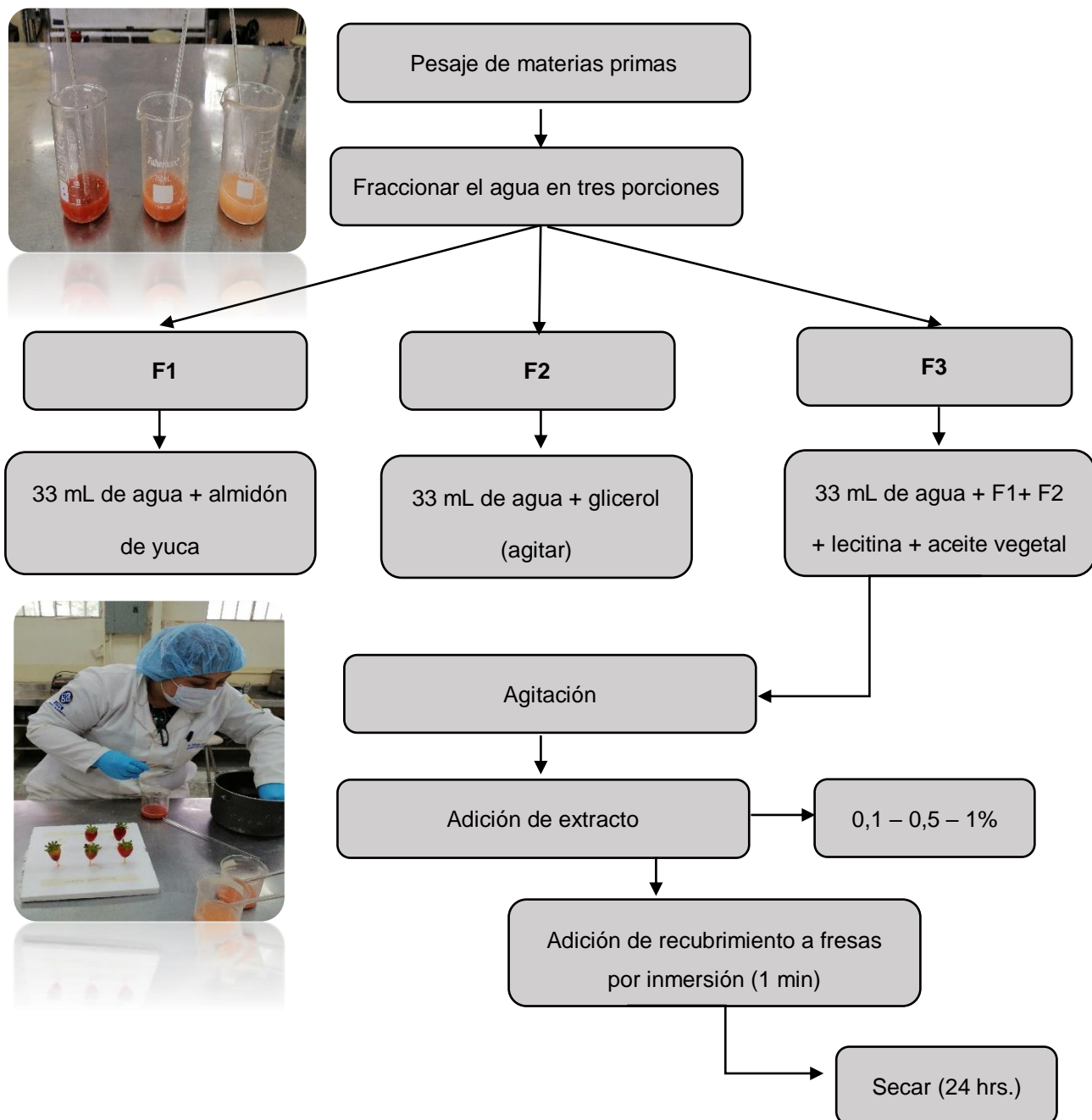


Figura 8 Elaboración de película

Fuente: Enciso y Hortua (2010)

Elaborado por: Autora

Una vez que se adicionaron los recubrimientos a las fresas se deja que trascurren las 24 horas de secado a dos temperaturas diferentes (ambiente y refrigeración), cada una con su respectivo control (fresas sin recubrimiento), posterior a esto se iba realizando controles tanto de la calidad sensorial como microbiológico a los 5 días transcurridos.

2.4. Análisis microbiológicos

Para la realización de los análisis microbiológicos se los realizaron mediante el método oficial de la AOAC 6407, para mohos y levaduras, una vez realizada la siembra se encubaron las placas a 25 °C durante 5 días

Los resultados obtenidos fueron transformados a Log10 uf/g a excepción de los resultados en donde no existió actividad antimicrobiana

2.5. Análisis sensoriales

Para la realización de la prueba sensorial se contó con la ayuda de 5 personas no entrenadas del laboratorio de alimentos se aplicó una prueba cualitativa, se evaluó color, olor, textura y sabor de las fresas, tomando como referencia el control de ambas temperaturas, cabe recalcar que existieron frutas con presencia de mohos las cuales no fueron catadas por obvias razones.

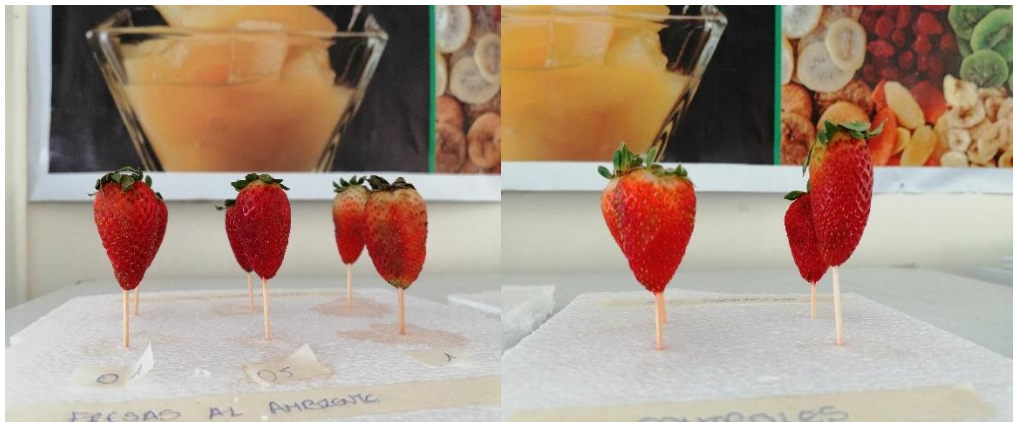


Figura 9 Fresas con recubrimiento al 5to día

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

2.6. Diseño de la Investigación

En el presente trabajo se pretende evaluar el efecto antimicrobiano que tienen 3 concentraciones de extracto de guapala *Simira ecuadorensis* (0,1; 0,5 y 1%), en elaboración de un recubrimiento comestible, para frutas de consumo directo (fresas). Los tratamientos serán distribuidos en un diseño completamente al azar, con 3 tratamientos con 2

repeticiones cada uno, a temperatura ambiente y refrigeración cada uno, así mismo se contará con un blanco por cada temperatura (fresas sin recubrimiento)

2.6.1. Análisis estadístico

El análisis estadístico se determinó por medio de la prueba de ANOVA (Análisis de varianza) para encontrar la diferencia entre tratamientos y el test de rango múltiple Tukey, con un nivel de significancia <0.05 .

Hipótesis nula: El extracto de *Simira ecuadorensis*, no presenta actividad antimicrobiana, frente al microorganismo seleccionado (mohos).

Hipótesis Alternativa: El extracto de *Simira ecuadorensis* presenta actividad antimicrobiana, frente al microorganismo seleccionado (mohos).

Variables: Las variables planteadas son las siguientes:

Dependiente: Crecimiento de microorganismos

Independiente: Concentración de extracto en el recubrimiento comestible, tiempo de almacenamiento, temperatura de almacenamiento

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Rendimientos de extracción

En la Tabla 3 se presenta el rendimiento que se obtuvo del extracto de Guapala, *Simira Ecuadorensis*

Tabla 3 Rendimiento de extracto

Tipo de extracto	Cantidad de extracto obtenido (g)	Rendimiento %
Liofilizado	46,48	9,30

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

3.2. Obtención de Películas comestibles con extracto de Guapala

En la Figura 13 se puede observar las tres películas o recubrimientos comestibles adiconando el extracto de guapala liofilizado a tres concentraciones diferentes: 0,1; 0,5 y 1%, como se puede apreciar, existe una variación notable en cuanto al color en los tres recubrimientos, esto se debe a la cantidad de extracto añadido.



Figura 10 Recubrimientos con extracto de guapala

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

3.3. Efecto antimicrobiano del extracto de Guapala en fresas

A continuación, en las Figuras 11 y 12 se muestran las fresas con recubrimiento pasados los 5 días y la realización del análisis microbiológico.



Figura 11 Fresas para determinación microbiológica

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora



Figura 12 Análisis microbiológicos

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

Una vez transcurridos los 5 días de incubación se procede a realizar el conteo de colonias, para ello se seleccionan las placas que contengan entre 15 y 150 colonias, los mohos poseen características como colonias grandes, planas y con bordes difusos de color variable (negro, verde o amarillo), como se puede observar en la Figura 13, por otra parte las levaduras son colonias pequeñas con bordes definidos son de color rosado oscuro o verde-azul (Figura 13), pueden presentarse de forma esférica, cabe recalcar que en el caso de que no haya colonias presentes después de los 3 días de incubación, el recuento es de cero y la prueba se considera terminada.



Figura 13 Determinación de Mohos y levaduras

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

En las Tablas 4 y 5 se exponen los resultados microbiológicos de cada uno de los tratamientos tanto a temperatura ambiente y de refrigeración, como se puede observar las fresas a temperatura ambiente, presentan mayor crecimiento microbiano conforme al paso del tiempo, para Bibek y Bhunia (2010), la descomposición de los alimentos ocurre como una consecuencia del crecimiento microbiano o de la liberación al ambiente alimentario de enzimas microbianas extracelulares o intracelulares, sin embargo la contaminación de un alimento por microorganismos ocurre mucho más rápido que la contaminación por enzimas extra o intercelulares, factores como la temperatura, tiempo y la humedad del ambiente en el cual es almacenado el alimento, inciden de forma directa sobre su conservación, así mismo la composición nutricional de los alimentos es otro de los grandes factores que favorecen el crecimiento microbiano, debido a que distintos microorganismos pueden aprovechar un mismo nutriente o sustrato presente en el alimento para su crecimiento, dicho aprovechamiento puede cambiar de forma adversa las cualidades que hacen que los alimentos sean considerados como aceptables o aptos para el consumo humano, de la misma manera las frutas frescas, tienen un alto contenido de agua (80%) y de carbohidratos (cerca del 10% o más), muy pocas proteínas (<10%) y un pH de 4,5 o menor, esto significa que su descomposición se halla confinada con el crecimiento de mohos, levaduras y bacterias acidúricas (bacterias ácido lácticas), debido a esto para reducir la descomposición de este tipo de alimentos su conservación se la realiza en refrigeración, congeladas o secas, esto con la finalidad de reducir la aw (actividad de agua), la cual favorece el crecimiento microbiano.

Tabla 4 Resultados microbiológicos temperatura ambiente

TRATAMIENTOS TEMPERATURA AMBIENTE	MOHOS Y LEVADURAS			
	DÍA 1	Log10 ufc/g	DÍA 5	Log10 ufc/g
Fresas al 0,5%	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	TNTC	-
Fresas con 0,5% (Duplicado)	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	TNTC	-
Fresas con 1%	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	2.5 x10 ² ufc/g	2,40
Fresas con 1% (Duplicado)	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	1.30x10 ² ufc/g	2,55
Control	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	TNTC	-

Fuente: Autora**Elaborado por:** Autora**Tabla 5** Resultados microbiológicos temperatura de refrigeración

TRATAMIENTOS TEMPERATURA REFRIGERACIÓN	MOHOS Y LEVADURAS			
	DÍA 1	Log10 ufc/g	DÍA 5	Log10 ufc/g
Fresas al 0,5%	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	3.5 x10 ² ufc/g ESPC	2,55
Fresas con 0,5% (Duplicado)	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	2.5 x10 ² ufc/g ESPC	2,40
Fresas con 1%	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	1.2 x10 ² ufc/g	2,10
Fresas con 1% (Duplicado)	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	5.0 x10 ¹ ufc/g	1,70
Control	< 1.0 x10 ¹ ufc/g	1,00	5.0 x10 ² ufc/g ESPC	3,55

Fuente: Autora**Elaborado por:** Autora

En las figuras 14 y 15 se presenta la incidencia que tiene la temperatura de almacenamiento sobre el crecimiento microbiano, según Urzúa (2016), los alimentos son expuestos a diferentes temperaturas desde el momento de su producción hasta su consumo, sin embargo con cada elevación de 10 °C en la temperatura de almacenamiento, el crecimiento microbiano se ve favorecido debido a las reacciones enzimáticas la cuales se derivan según la composición nutricional del alimento, por lo tanto el índice de reacción enzimática se reduce a la mitad al disminuir la temperatura de almacenamiento en 10 °C, con respecto a la concentración de extracto añadida, Rendón et al., (2017), menciona que las especies vegetales ecuatorianas como la *Simira ecuadorensis* si presentan efectos bacterianos con valores mínimos que oscilaron entre 20 y 100 ppm, esto como una concentración inhibitoria (MIC), así mismo dentro del estudio menciona que, dicho efecto antimicrobiano se puede deber a la presencia de compuestos fenólicos (ácido fenólico, flavonoides, taninos, cumarinas y quinonas) los cuales tienen propiedades redox que absorben y neutralizan los radicales libres retardando procesos oxidativos; estos compuestos actúan como antioxidantes naturales en los alimentos, los cuales evitan a corto plazo la descomposición de los alimentos a más de evitar el uso de aditivos como conservantes o antioxidantes sintéticos. Extractos de la *Simira ecuadorensis*, han sido aplicados para la conservación de alimentos como el queso. (Jumbo , 2019), menciona que los extracto de *Simira ecuadorensis* en maceración con etanol y agua si presenta un efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, Coliformes totales, mohos y levaduras, por ende se puede asegurar con la presente investigación que el extracto de *Simiria ecuadorensis*, al 1% si tiene un efecto sobre los microorganismos de descomposición estudiados (mohos y levaduras), y que los extractos vegetales serán los nuevos conservantes naturales de la industria alimentaria.

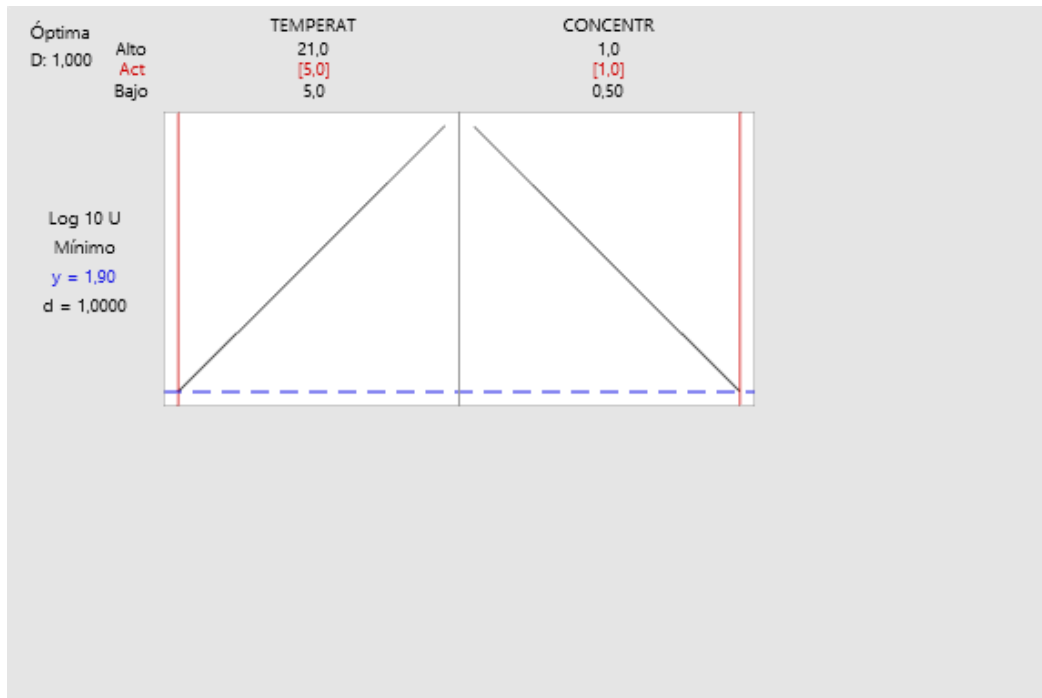


Figura 14 Efecto de la temperatura de almacenamiento y la concentración de extracto sobre el crecimiento microbiano

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

3.4. Efecto del extracto de Guapala sobre la calidad sensorial de fresas

Una vez transcurridas las 24 horas de secado de los recubrimientos comestibles se realizó las pruebas sensoriales al primer día de las fresas de forma cualitativa, como se puede observar en la Tabla 6 y 7, en lo que respecta a color y olor de la fruta con recubrimiento se mantienen en los tres tratamientos las mismas características, con respecto al control (fresa sin recubrimiento), esto se puede deber primeramente a que el color del extracto empleado es de color rojo y en las concentraciones empleadas no afectaron en cuanto al color ni al olor de las fresas, sin embargo en cuanto al sabor, tanto en las fresas con recubrimiento a temperatura ambiente y a refrigeración, presentaron un sabor residual amargo frente a los blancos o patrones.

Tabla 6 Fresas con recubrimiento al ambiente primer día

FRESAS AL AMBIENTE (PRIMER DÍA)					
MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR	OBSERVACIONES
Fresas al 0.1%	Rojo intenso	Fresa	Dura	Dulce al principio, fresa característica con un sabor residual amargo	El sabor residual es aceptable, esto se debe al concentrado de guapala
Fresas al 0,5%	Rojo intenso	Fresa	Dura		
Fresas al 1%	Rojo intenso	Fresa	Dura		
Fresas sin recubrimiento	Rojo intenso	Fresa	Dura	Característico a fresa, dulce intenso	Ninguna

Fuente: Autora**Elaborado por:** Autora**Tabla 7** Fresas con recubrimiento primer día en refrigeración

FRESAS EN REFRIGERACIÓN (PRIMER DÍA)					
MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR	OBSERVACIONES
Fresas al 0.1%	Rojo intenso	Fresa	Dura	Dulce al principio, fresa característica con un sabor residual amargo	El sabor residual es aceptable, esto se debe al concentrado de guapala
Fresas al 0,5%	Rojo intenso	Fresa	Dura		
Fresas al 1%	Rojo intenso	Fresa	Dura		
Fresas sin recubrimiento	Rojo intenso	Fresa	Dura	Característico a fresa, dulce intenso	Ninguna

Fuente: Autora**Elaborado por:** Autora

Transcurridos los 5 días se volvió a realizar la evaluación sensorial de las fresas, como se puede observar en las Tablas 8 y 9 las características sensoriales se vieron afectadas tanto por el tiempo y la temperatura de almacenamiento, algunos cambios más relevantes que se originaron fueron los cambios de color (presencia de manchas, mohos, etc.) principalmente en los ensayos de temperatura ambiente, el olor después del tiempo transcurrido fue a fresas fermentadas, así mismo los cambios de textura fueron evidentes ya que las muestras se presentaron mucho más blandas al 5to día con respecto al 1er día, en cuanto al sabor de las muestras que se pudieron catar, presentaron un sabor dulce característico a fresa sin embargo, el sabor residual era amargo. Bibek y Bhunia (2010), mencionan que algunos cambios que se presentan durante la descomposición de los alimentos, son de olor, color, sabor y textura, los cambios de olor se debe a la elaboración de productos finales volátiles producidos por los azúcares o carbohidratos presentes en las frutas, los cambios de color se deben a la presencia de pigmentos u oxidación de los compuestos de color natural, en el caso de las frutas son las antocianinas, los cambios que se presentan en la textura en los alimentos como las frutas y vegetales (se vuelven blandas con el tiempo) se debe al desdoblamiento de la pectina en pectinasas, los cambios en el sabor dependerá del estado de maduración de la fruta, en el trabajo realizado las muestras presentaron un sabor dulce, con un sabor residual amargo, esto se puede deber a la adición de extracto de gauapala, ya que según Rondón et al., (2017) menciona en su estudio que dentro de la composición de la guapala o Simira ecuatoriana, presenta ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, cumarinas y quinonas, por lo que se le puede atribuir el sabor amargo a los taninos ya que este tipo de compuestos son una subdivisión de los polifenoles los cuales se los considera como sustancias químicas que se encuentran en plantas, semillas, cortezas, madera, hojas y pieles de frutas, presentándose en un 50% del peso de hojas secas de cualquier planta, son de sabor amargo y astringente dependiendo del producto final obtenido.

Tabla 8 Fresas con recubrimiento quinto día al ambiente

FRESAS AL AMBIENTE (QUINTO DÍA)					
MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR	OBSERVACIONES
Fresas al 0.1%	Rojo oscuro, con presencia de moho	Fresa en estado de descomposición	Blanda	-	
Fresas al 0,5%	Rojo oscuro, con manchas negras y presencia de moho	Fresa en estado de descomposición	Blanda	-	No se hizo la caracterización del sabor debido a la presencia de microorganismos
Fresas al 1%	Rojo oscuro, con manchas negras	Fresa en estado de descomposición	Blanda	-	
Fresas al ambiente	Rojo característico	Fresa muy madura o fermentada	Demasiado blanda	-	

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

Tabla 9 Fresas con recubrimiento quinto día en refrigeración

FRESAS A REFRIGERACIÓN (QUINTO DÍA)					
MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR	OBSERVACIONES
Fresas al 0.1%	Rojo oscuro	Mezcla de olor entre fresa y almidón de yuca	Medianamente blanda	-	
Fresas al 0,5%	Rojo oscuro	Mezcla de olor entre fresa y almidón de yuca	Medianamente blanda	-	No se hizo la caracterización del sabor debido a la presencia de microorganismos
Fresas al 1%	Rojo intenso	Mezcla de olor entre fresa y almidón de yuca	Dura	Dulce, con un sabor residual amargo	
Fresas sin recubrimiento	Rojo característico	Fresa	Demasiado blanda	-	

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye lo siguiente:

- Se elaboraron películas comestibles con propiedades antimicrobianas mediante la aplicación de extracto de Guapala al (0,1 – 0,5 y 1%) de concentración a temperatura ambiente y de refrigeración cada una con su respectivo control
- Se determinó la formulación más óptima con efecto antimicrobiano la cual es del 1% de extracto de Guapala liofilizado por cada 100 gramos de película comestible.
- Se determinó el efecto antimicrobiano mediante el análisis microbiológico de mohos y levaduras en placa petrifilm de los recubrimientos comestibles sobre la conservación de fresas, dicha prueba permitió finalmente comparar entre las tres concentraciones (0,1-0,5 y 1%) la más óptima.
- Con la evaluación sensorial aplicada, se pudo determinar que las tres concentraciones aplicadas, producen un efecto negativo en el sabor de las fresas presentando un sabor residual amargo.
- Se pudo determinar que el recubrimiento comestible tiene mayor efecto de conservación sobre la vida útil de las fresas, si es combinado con la refrigeración.
- Las fresas con recubrimiento comestible a temperatura ambiente presentaron características de descomposición (manchas negras, presencia de mohos, etc.) principalmente con 0,1 y 0,5% de extracto.

RECOMENDACIONES

En base a la investigación se recomienda lo siguiente:

- Para futuras investigaciones se realicen investigaciones como determinación microbiológica por inoculación, para con esto determinar la cantidad mínima inhibitoria del extracto de Guapala sobre el crecimiento de mohos en frutas de consumo directo.
- Se siga empleando este tipo de recubrimientos comestibles sobre otro tipo de alimentos altamente perecederos, ya que se comprobó que el extracto de la hoja *Simira Ecuadorensis*, si presenta efecto antimicrobiano.
- Se sigan estudiando los extractos naturales como conservantes alimentarios, para de esta manera reducir el uso o aplicación de aditivos sintéticos lo cuales generan efectos secundarios negativos tanto en los alimentos como en los consumidores

BIBLIOGRAFÍA

- Altenhofen, M., Krause, A. C., Guenter, T. (2009). Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the plasticizer concentration. *Carbohydrate polymers*, 77, 736 - 742..
- Ancos, B. (Ed). (2015). Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de diversa gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 8-17.
- Atencia, E. J. E. (2017). Evaluación de la vida útil de los alimentos (Shelf Life): efecto de la temperatura. *Ciencia & Desarrollo*, (4)
- Bibek, R., & Bhunia, A. (2010). Fundamentos de microbiología de los alimentos. *Editorial Mc Graw Hill*.
- Borbolla, M. E. (Ed). (2004). Contaminación de los alimentos por *Vibrio cholerae*, coliformes fecales, *Salmonella*, hongos, levaduras y *Staphylococcus aureus* en Tabasco durante 2003. *Salud en Tabasco*, 10(2), 221-232.
- Castillo, M. P. (2017). Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias).
- Castillo, M., & Hualpa, D. (2000). Inocuidad en los alimentos.". *Consumo de lácteos sin procesar, un riesgo latente*.
- Ceron, J. P. Q. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 1(5).
- Corrales, A. (2018). *Microorganismos asociados a daños en frutas y vegetales frescos en una planta de procesamiento* (Doctoral dissertation, Universidad de Panamá).
- Dubey, D. (Ed). (2011). Evaluation of antibacterial and antioxidant activity of methanolic and hydromethanolic extract of sweet orange peels. *Recent Research in Science and Technology*, 3(11).
- Enciso, N. A. A., & Hortua, N. S. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *Nova*, 8(14), 171-182.
- Enfermedades transmitidas por los alimentos: Análisis del riesgo microbiológico. *Revista chilena de infectología*, 27(6), 513-524.

- Enríquez, C. (Ed). (2012). Composición y procesamiento de películas biodegradables basadas en almidón. *Biotecnología en el Sector agropecuario y agroindustrial*, 10(1).
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). (2003). Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas
- Fernández, D. (Ed). (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(3), 52-57.
- Flores, T. G., & Herrera, R. A. R. (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública de México*, 47, 388-390.
- González, L. J. (Ed). (2010). Enfermedades transmitidas por los alimentos: Análisis del riesgo microbiológico. *Revista chilena de infectología*, 27(6), 513-524
- Jumbo, E. (2019). Uso de extracto de *Simira ecuadorensis* (standl) como conservante de queso fresco (Bachelor's thesis).
- López, D. (Ed). (2018). Propiedades fisicoquímicas de siete variedades destacadas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) cultivadas en Cundinamarca (Colombia), durante su maduración. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 19(1).
- Magalhaes, O. M. C., & de Queiroz, L. A. (2019). Levaduras aisladas de diversos tipos de alimentos. *Boletín Micológico*, 6(1-2).
- Rodríguez, M. (Ed). (2018). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *Journal of King Saud University-Science*, 30(4), 500-505.
- Morales, H. (2011). Mohos productores de micotoxinas.
- Moreiras, O. (Ed). 2016). *Tablas de composición de alimentos: guía de prácticas* (Vol. 16). Madrid: Pirámide.
- OMS, G. D. (2015). Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria.
- Orberá, T. (Ed). (2004). Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos. *Revista Cubana de Salud Pública*, 30(3), 0-0.

- Rojas, M. (Ed). (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to freshcut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology*. 20, 438 – 447
- Sagdic, O. (Ed). (2011). Efecto de los extractos de orujo de uva obtenidos de diferentes variedades de uva sobre la calidad microbiana de la empanada de carne. *Journal of food science* , 76 (7), M515-M521.
- Sáiz, M., & López, N. (2010). Obtención y aplicación de extractos naturales. *Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria*, 11, 1-44.
- Saltos, J. (Ed). (2018). La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), 371-382.
- Solís, M. (Ed). (2018). riego para cultivo de fresa. *Caribeña de Ciencias Sociales*, (marzo).
- Torrens, H. (Ed). (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 1-27.
- Trejo, A. (Ed). (2007). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*Fragaria Vesca L.*) almacenada en refrigeración. In *V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones. Cartagena, España: Grupo Postrecolección y Refrigeración UPCT* (pp. 978-984).
- Urzúa, S., (2016), *Microbiología de los Alimentos. Fundamentos y Aplicaciones en Ciencias de la Salud*, México DF, México: Editorial Médica Panamericana, S.A.
- Vergara, G. (Ed). (2016). Evaluación del extracto de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) con aceite de oliva (*Olea europea L.*) como conservante natural en una mortadela especial. *Revista de Investigación Talentos*, 3(2), 10-21.

ANEXOS

ANEXO 1 ELABORACIÓN DE EXTRACTO



Figura 15 Deshidratación de hojas de Guapala

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

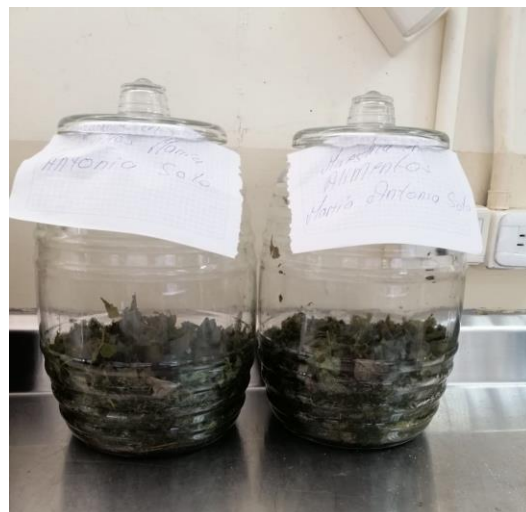


Figura 16 Maceración de Hojas de Guapala

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora



Figura 17 Filtrado de extracto
Fuente: Autora
Elaborado por: Autora



Figura 18 Rotavaporación de Etanol
Fuente: Autora
Elaborado por: Autora

ANEXO 2 PROTOCOLO DE SIEMBRA MICROBIOLÓGICA

Para los análisis microbiológicos se planteó el siguiente protocolo:

- Se pesó asépticamente 10 g de muestra en 90 ml de agua buferada estéril (dilución 10-1), agitamos adecuadamente para homogenizar la muestra
- Con la ayuda de una micropipeta se tomó 1ml de la dilución y se lo colocó en el centro de la placa petrifilm
- Inmediatamente se deja caer el film superior de la placa con cuidado evitando formar burbujas de aire
- Colocamos el aplicador caro lisa hacia arriba
- Ejercemos ligera presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área de la placa
- Esperar 1 min a que se solidifique el gel
- Colocamos en la incubadora a 25°C durante 5 días

ANEXO 3 FICHA PARA ANÁLISIS SENSORIAL



CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE FRESAS CON RECUBRIMIENTO COMESTIBLE

FECHA:

Frente a usted se le presentan 8 muestras de fresas. Por favor describa los siguientes aspectos de cada una de las muestras presentadas, en el orden que se le presenta en la siguiente tabla. **¡¡IMPORTANTE!! (Enjuagar su boca con un poco de agua, entre cada muestra)**

MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR
A1A				
A2A				
A3A				
BA				

MUESTRA	COLOR	OLOR	TEXTURA	SABOR
A1R				
A2R				
A3R				
BR				

OBSERVACIONES

.....
.....

¡¡MUCHAS GRACIAS!!

ANEXO 4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

Coeficientes codificados

Término	Efecto	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante		250002	0	4417291,30	0,000	
TEMPERATURA	499999	250000	0	4417252,65	0,000	1,00
CONCENTRACIÓN	-499999	-250000	0	-4417252,65	0,000	1,00
TEMPERATURA*CONCENTRACIÓN	-499998	-249999	0	-4417247,57	0,000	1,00

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,160078	100,00%	100,00%	100,00%

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	3	1,49999E+12	4,99998E+11	1,95121E+13	0,000
Lineal	2	9,99996E+11	4,99998E+11	1,95121E+13	0,000
TEMPERATURA	1	4,99998E+11	4,99998E+11	1,95121E+13	0,000
CONCENTRACIÓN	1	4,99998E+11	4,99998E+11	1,95121E+13	0,000
Interacciones de 2 términos	1	4,99997E+11	4,99997E+11	1,95121E+13	0,000
TEMPERATURA*CONCENTRACIÓN	1	4,99997E+11	4,99997E+11	1,95121E+13	0,000
Error	4	0	0		
Total	7	1,49999E+12			

Ecuación de regresión en unidades no codificadas

$$\begin{aligned} \text{Log } 10 \text{ Ufc/g} = & -624995 + 125000 \text{ TEMPERATURA} \\ & + 624997 \text{ CONCENTRACIÓN} \\ & - 125000 \text{ TEMPERATURA*CONCENTRACIÓN} \end{aligned}$$

Estructura de alias

Factor	Nombre
A	TEMPERATURA
B	CONCENTRACIÓN
Alias	
I	
A	
B	
AB	

Parámetros

Respuesta	Meta	Inferior	Objetivo	Superior	Ponderación	Importancia
Log 10 Ufc/g	Mínimo		1,7	1000000	1	1

Solución

Solución	TEMPERATURA	CONCENTRACIÓN	Log 10 Ufc/g Ajuste	Deseabilidad compuesta
1	5	1	1,90000	1,00000

Predicción de respuesta múltiple

Variable	Valor de configuración
TEMPERATURA	5
CONCENTRACIÓN	1

Respuesta	Ajuste	EE de ajuste	IC de 95%	IP de 95%
Log 10 Ufc/g	1,900	0,113	(1,586; 2,214)	(1,356; 2,444)

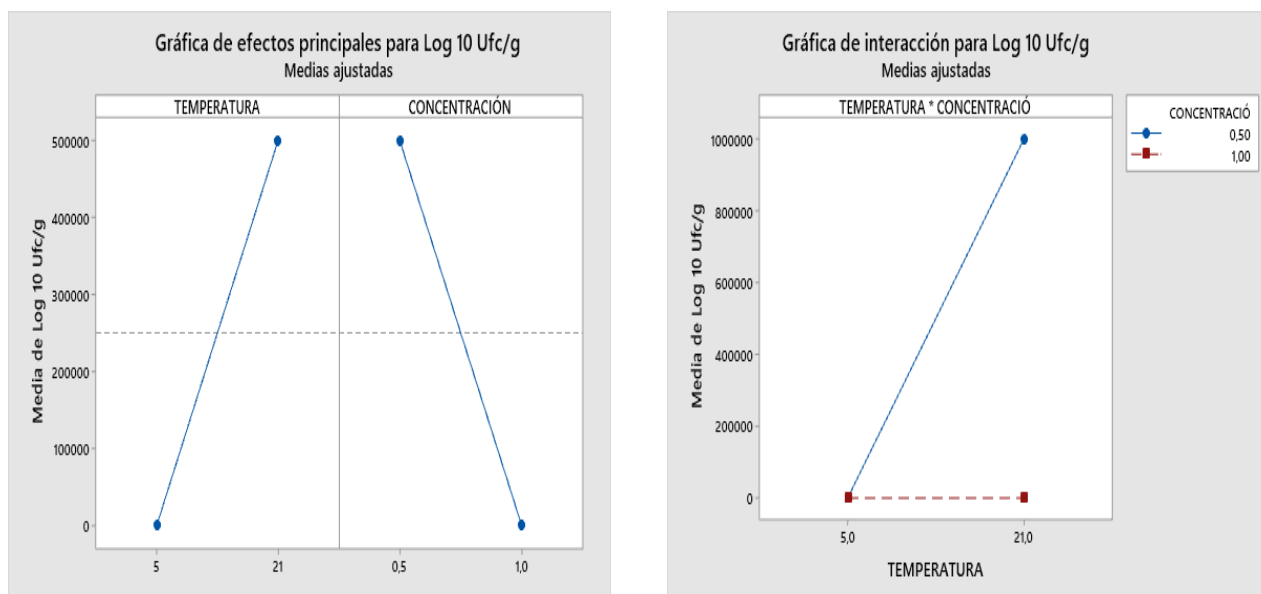


Figura 19 Optimización de respuesta (Tratamiento óptimo)

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

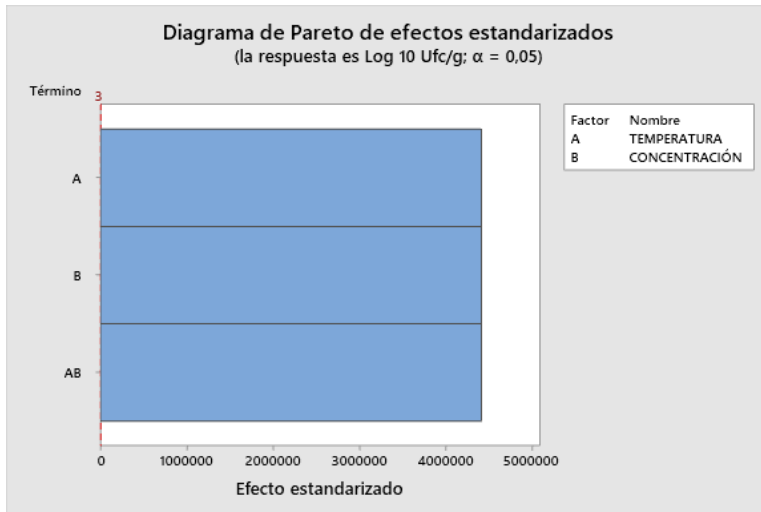


Figura 20 Diagrama de Pareto

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

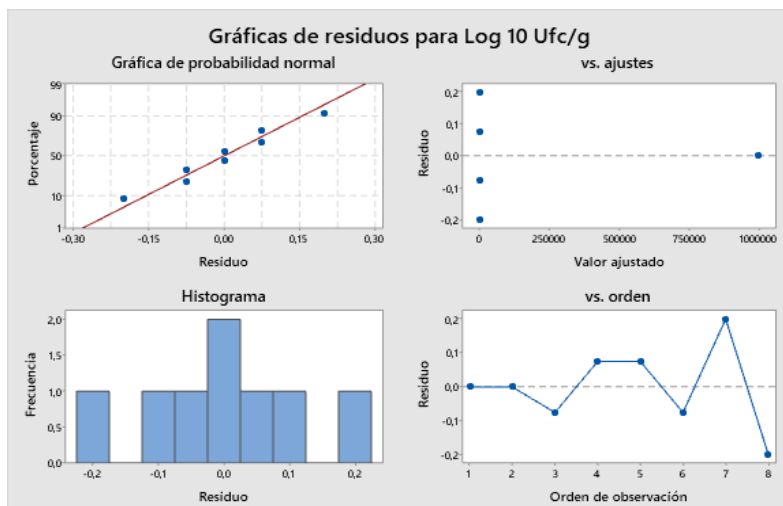


Figura 21 Gráficas de probabilidades

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora