ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

"Uso y Evaluación de dos Aceites Esenciales (Canela y Clavo de Olor) para Control de las Pudriciones Fungosas y Determinación de la Vida Útil mediante Películas Protectoras Comestibles en Papaya (Carica Papaya Cv. Hawaiana)"

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

INGENIERAS DE ALIMENTOS

Presentada por:

Leovina Ingrid Martínez Martínez.

Meily Ponce Lay

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año*:* 2012

AGRADECIMIENTO

A mis padres Leovina Martínez Castro y Salvador Martínez Sánchez, a quienes quiero y admiro inmensamente y por sobre todas las cosas. Gracias por apoyarme siempre, por su confianza y amor incondicionales.

Leovina

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por la fortaleza y luz que me ha dado para cumplir esta meta. A mis padres, mi esposo y mis suegros por su incondicional apoyo y amor en todo momento. A mis hijos por ser la mejor motivación para concluir mis metas. A mi Directora de Tesis por ser una guía en este paso de mi vida.

Meily

DEDICATORIA

Con todo mi amor, cariño y admiración:

A mis padres: Leovina Martínez Castro y Salvador Martínez Sánchez

A mi pequeña y adorada hijita: Ericka Lino Martínez

A mí querido esposo: Pedro Lino Plaza.

Leovina

DEDICATORIA

A mi padre, Nicolás Clemente Ponce Herrmann (+), mi madre, Mercedes Ángela Lay Azaña, con inmenso amor y agradecimiento. Al amor de mi vida, Omar Grijalva, a mis hijos: Nicole A. Grijalva Ponce y Bruno O. Grijalva Ponce. Y a toda mi familia biológica y política.

Meily

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Gustavo Guerrero M.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. Priscila Castillo S.
DIRECTORA

Ing. Haydeé Torres C.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

Leovina Ingrid Martínez Martínez

Meily Ponce Lay

RESUMEN

Los objetivos generales de esta tesis fueron: evaluar el potencial de los aceites esenciales de canela y clavo de olor, como conservadores antimicrobianos naturales incorporados en películas comestibles de formulación conocida, y un estudio de los mismos en la conservación de la calidad de la papaya (Carica papaya cv. hawaiana).

El proyecto consistió primeramente en trabajar con papayas infecciosamente lesionadas, provenientes de los mercados para la obtención de cepas puras de hongos, después se hizo un reconocimiento, estos fueron Thanatephorus donk, Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger.

Se incorporaron los aceites esenciales de clavo de olor y canela en concentraciones de 0.04 ,0.06, y 0.08% para una formulación de película comestible, estas películas se adhirieron a las papayas inoculadas con los hongos encontrados, se determinó la concentración adecuada de los aceites esenciales (clavo de olor y canela) que mostraran menos síntomas de deterioro en las frutas, mediante la evaluación de la incidencia y severidad de las pudriciones causadas por hongos fitopatógenos, después las muestras de frutas se sometieron a refrigeración. A parte de las películas con aceites

esenciales se evaluaron también 2 tratamientos más que son: blanco y cera comercial.

Se evaluó el estudio de vida útil de las papayas con tres tipos de tratamientos, película comestible sin aceites esenciales, la película con la concentración seleccionada de aceites esenciales (0.04 % de clavo y 0.06% de canela) y blanco (papayas sin ningún tratamiento).

Se utilizó el diseño experimental de análisis de varianza funcional para la evaluación de vida útil, en el arreglo se trabajaron con 90 papayas, cada tratamiento utilizo 30 papayas. El tiempo de evaluación fue de 10 días, se seleccionaron tres papayas aleatoriamente cada día, para medir el pH, sólidos solubles, dureza, color y peso.

En el análisis de varianza funcional, el valor p, determinó si existe diferencia significativa para los diferentes grupos de tratamientos. También se aplicó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales que ayudó a comprobar si las películas con aceites esenciales es mejor que la no tiene aceites esenciales. En síntesis de acuerdo con los resultados estadísticos se puede decir que las papayas con películas comestibles sin aceites esenciales fueron los que presentaron menos cambios en grados brix, pH, color, peso en el transcurso

del experimento, las papayas sin tratamientos fueron los que ofrecieron más dureza.

Para finalizar, en la caracterización de las películas comestibles se procedió a una evaluación de las propiedades físicas de las películas comestibles con aceites esenciales (0.04% de clavo de olor y 0.06% de canela) y películas sin aceites esenciales, con el objetivo de ver diferencias entre ellas. Se examinaron los resultados donde se mostró que: en las películas sin aceites esenciales se dispuso de una mayor viscosidad, la humedad es mayor en la películas sin aceites esenciales, el mayor trabajo de dureza terminado lo requirieron las películas comestibles sin aceites esenciales haciéndose más resistentes a la ruptura, los espesores más uniformes se obtuvieron con las películas comestibles con aceites esenciales.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN…… II

ÍNDICE GENERAL……..... V

ABREVIATURAS……..……..... IX

SIMBOLOGÍA……..…… X

ÍNDICE DE FIGURAS…… XI

ÍNDICE DE TABLAS…….. XII

INTRODUCCIÓN……...1

1. MARCO TEÓRICO……..…… 4

1.1. Descripción de la Materia Prima……..…… 4

1.1.1. Origen…….……..... 4

1.1.2. Clasificación……..…… 5

1.1.3. Descripción Botánica……...….. 5

1.1.4. Variedades……..... 6

1.1.5. Propiedades Nutritivas…….….. 8

1.1.6. Zonificación y Comercialización…….…..... 9

1.2. Daños Post Cosecha……..……..… 11

1.2.1. Desordenes Físicos……..……..... 11

1.2.2. Desordenes Patológicos……..……. 12

1.3. Operaciones Post Cosecha…… 14

1.4. Películas Comestibles…… 17

1.4.1. Definición…… 17

1.4.2. Características…… 17

1.4.3. Ventajas…… 18

1.4.4. Componentes…… 19

1.4.5. Conservantes Naturales…… 20

1.4.6. Formación de las Películas…… 21

1.5. Aceites Esenciales…… 23

1.5.1. Extracción y Aislamiento…… 23

1.5.2. Principales Componentes…… 25

1.5.3. Toxicidad de los Aceites Esenciales…… 27

2. MATERIALES Y MÉTODOS…… 28

2.1. Obtención de las Cepas de Hongos…… 28

2.1.1. Desinfección de las muestras infectadas…… 28

2.1.2. Aislamiento de los hongos…… 29

2.1.3. Purificación del aislamiento…… 30

2.1.4. Identificación de los hongos…… 32

2.2. Preparación de la Película y Adición de los Aceites Esénciales (clavo de olor y canela)…… 32

2.3. Evaluación del Índice de Severidad y Porcentaje de Infección de la Película Comestible con los Aceites Esenciales (clavo de olor y canela) en Papaya…….. 34

2.3.1. Obtención de los frutos……..……..... 34

2.3.2. Desinfección y acondicionamiento de la fruta……..……. 35

2.3.3. Preparación de suspensión de esporas de los hongos…… 35

2.3.4. Aplicación de tratamientos y método de inoculación…… 37

2.3.5. Parámetros de evaluación……..... 38

2.3.5.1. Identificación de los síntomas……..... 38

2.3.5.2. Porcentaje de infección…….....40

2.3.5.3. Índice de severidad……..……40

2.4. Caracterización de la Película……..…… 41

2.4.1. Determinación de la humedad…….…… 41

2.4.2. Determinación de la viscosidad……..……..42

2.4.3. Comprobación del espesor…….…..…... 43

2.4.4. Establecer la resistencia a la punción……..... 44

2.5. Evaluación de Vida Útil de las Papayas con Película Comestible. 44

2.5.1. Diseño experimental……..…… 45

2.5.2. Obtención de sólidos solubles (°BRIX)…….. 47

2.5.3. Determinación de pH…… 48

2.5.4. Comprobación de firmeza…… 49

2.5.5. Valoración del color…… 50

2.5.6. Demostración fisiológica de la pérdida de peso…… 51

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS……..…… 52

3.1. Caracterización de los Hongos Obtenidos……..…..……52

3.2. Evaluación y Selección de los Tratamientos……..……57

3.2.1. Porcentaje de infección……..……59

3.2.2. Índice de severidad…….....……. 60

3.3. Valoración de los Métodos Analíticos que Caracterizan a los Recubrimientos Comestibles…….64

3.4. Análisis de la Vida Útil de la Papaya con Película Comestible Seleccionada en Refrigeración.....69

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES……..... 99

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

°Brix.	Grados Brix
cm.	Centímetro
cm^2	Centímetro cuadrado
gr.	Gramos
H_o.	Hipótesis nula
In	Pulgadas
LV3.	Spindle
mcg	Microgramos
Mg	Miligramos
min.	Minutos.
mJ.	Mili julio
ml.	Mililitros
mm.	Milímetros
mPas.	Mili pascales
N.	Total de fruta por unidad experimental.
PDA.	Papa dextrosa agar
Ph.	Potencial de hidrogeno
RBD	Refinada Blanqueada Desodorizada
RC	Recubrimiento Comestible
rpm	Revoluciones por minuto
Xi.	Numero de frutas enfermas por cada daño de grado

SIMBOLOGÍA

%	Porcentaje
ºC	Grados centígrados
º	Grados
“	Minutos
Hg	Mercurio
Q	Calor

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.1. Manejo Postcosecha……..……...……..14
Figura 2.1. Papayas con Síntomas…….....29
Figura 2.2. Preparación de la Película Comestible…….....33
Figura 2.3. Recepción de las Papayas…….....35
Figura 2.4. Hongos en Matraces Volumétricos con PDA…….. 36
Figura 2.5. Medición de la Humedad……..... 42
Figura 2.6. Viscosímetro con la Muestra de Película……43
Figura 2.7. Muestras de Papayas con Tratamientos……..... 45
Figura 2.8. Medición de Grados Brix..……..... 48
Figura 2.9. Medición del pH……...……..... 49
Figura 2.10. Medición de la Textura…….…….. 49
Figura 2.11. Catálogo Pantone y Colores Base……...…….. 51
Figura 3.1. Síntomas de los Hongos en Estudio……58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características de las Variedades de Papaya……..... 7
Tabla 2. Composición de la Papaya por 100 Gramos de Porción Comestible…….. 9
Tabla 3. Rotulación de los Tejidos Infecciosos en PDA……..……..…….. 31
Tabla 4. Concentración Utilizada para cada Hongo…… …….....37
Tabla 5. Tratamientos y Repeticiones para el cálculo del índice de severidad……38
Tabla 6. Identificación de las Muestras con colonias…….…….... 53
Tabla 7. Identificación Macroscópica de los Hongos…….…… 54
Tabla 8. Identificación Microscópica de los Hongos……..... 55
Tabla 9. Resultados del Porcentaje de Infección……..…..... 60
Tabla 10. Resultados del Índice de Severidad……..…….. 63
Tabla 11. Porcentaje de desprendimiento de las películas comestibles…...64
Tabla 12. Resultados del porcentaje de Humedad……..……65
Tabla 13. Resultados de Viscosidad de la Película con Aceites Esenciales…… 66
Tabla 14. Resultados de Viscosidad de la Película sin Aceites Esenciales……..... 66
Tabla 15. Resultados de la Evaluación del Espesor en las Muestras de Películas sin Aceites Esenciales y con Aceites Esenciales…….. 67
Tabla 16. Resultados de la Evaluación en el Texturómetro para las Muestras de Películas sin Aceites Esenciales…….....68
Tabla 17. Resultados de la Evaluación en el Texturómetro para las Muestras de Películas con Aceites Esenciales…… 69
Tabla 18. Arreglo Experimental…….....69

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el consumidor demanda productos de alta calidad y de consumo inmediato, que contengan sólo ingredientes naturales. El éxito de estos productos se debe a sus buenas características sensoriales y nutricionales. Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas tecnologías de conservación que retrasen los procesos de deterioro y mantengan la calidad e inocuidad microbiológica, durante la comercialización de estos productos.

La susceptibilidad de las frutas al deterioro por enfermedades aumenta con el tiempo de almacenamiento. Esto está relacionado con el proceso de senescencia durante el cual se incrementa la permeabilidad de las membranas celulares y se produce una eventual desorganización total de la estructura del producto. Con la edad del producto también disminuye la capacidad de síntesis de sustancias fungistáticas naturales (fitoalexinas) que protegen a las frutas.

El uso de películas comestibles parece ser una opción conveniente en este caso, ya que su propósito es darle al fruto una protección extra, es decir, mantener en mayor medida la integridad del alimento.

Las películas comestibles se utilizan como una cubierta sobre los alimentos en forma de envoltura. El mecanismo por el cual estas películas conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera a los gases, produciendo una atmósfera modificada alrededor del producto. Esta atmósfera reduce la disponibilidad de O_2 e incrementa la concentración de CO_2. De tal forma, se reduce la tasa de respiración y la pérdida de agua, aumentando así, la vida de anaquel.

Los aditivos también son usados en las películas comestibles, los cuales pueden proporcionar al producto vegetal funciones más específicas como una actividad antimicrobiana, para evitar o reducir el crecimiento de microorganismos en su superficie. Sin embargo, se ha observado que se requiere de aplicaciones pequeñas para que sus atributos de calidad no se vean afectados. Dentro de los agentes antimicrobianos incorporados a los recubrimientos vegetales pueden considerarse a los aceites esenciales.

Las propiedades antimicrobianas de aceites esenciales que las plantas contienen como productos de su metabolismo secundario han sido reconocidas empíricamente durante siglos, pero sólo recientemente fueron confirmadas científicamente. Varios grupos de investigadores han estudiado la actividad biológica de plantas medicinales originarias de diversas regiones del mundo, guiados por el uso popular de las especies nativas.

Los aceites esenciales de plantas se han mostrado eficaces en el control del crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, incluyendo hongos filamentosos, levaduras y bacterias. Se han sugerido usos prácticos de estas actividades en humanos y animales, así como en la industria de alimentos.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

Su origen se halla en las tierras bajas de América tropical, específicamente la región que incluye el sureste de México hasta Costa Rica.

El historiador Fernández de Oviedo fue quien la describió por primera vez en el año 1526 D. C. y en su descripción indicó que los colonizadores españoles la llaman higos de mastuerzo o papaya de los pájaros (1).

1.2.2. Clasificación botánica

Reino:	Vegetal
Subreino:	Embrobyonta
Clase:	Magnoliophyta
Subclase:	Dillenidae
Orden:	Violales
Familia:	Caricaceae
Género:	Carica
Especie:	Carica Papaya (2)

1.2.3. Descripción botánica

- ### Tallo

  La planta es perenne, de vida corta y crece hasta nueve metros. Su tronco es herbáceo, hueco y normalmente sin ramas.

- ### Hojas

  Las hojas tienen lóbulos profundos, son palmeadas y se sostienen por medio de peciolos.

- Las flores producen una fragancia y poseen cinco pétalos de color blanco – crema y amarillo – anaranjado de 1 a 2.5 cm de largo.

- La fruta tiene una forma ovalada - redonda, ligeramente alongada. Su piel es lisa, cerácea, fina y varía de color entre amarillo pálido y naranja – rojo, según la variedad y nivel de maduración. La pulpa, es de color amarillo – naranja a rojo.

- En el centro de la fruta se acumulan docenas de semillas redondas de color negro, de aproximadamente 5 mm. de largo, envueltas de un material transparente y gelatinoso, pegadas a la pulpa por un tejido blanco y fibroso (1).

A continuación se presenta una descripción de papayas “tipo solo” de la siguiente manera:

TABLA 1.

CARACTERÍSTICAS DE LAS VARIEDADES DE PAPAYA

Variedad	Característica de la planta.	Característica de la fruta.
Sunrise	• Crece vigorosamente, alcanzando 1.8m de altura. • Altura de producción de fruta baja. • Su floración aparece a los tres meses de plantada en el campo a nivel de la costa.	• Las frutas tienen forma ovalada • Con un peso promedio de 620g. • El rango de longitudes de 15-20cm. y el diámetro es de 18-12 cm.
Waimanalo	• Crece vigorosamente, su tamaño semi-enano. • Altura de producción de fruta baja. • Produce las primeras flores tres meses después de plantar las semillas • La distancia entre nudos es corta pero no presenta aglutinación de frutos.	• La fruta Waimanalo es redonda con un cuello corto. • Con un promedio de peso de 609g. • El mayor tamaño de la Waimanalo la hace menos deseable para la exportación.
Kapoho	• Crece vigorosamente • Altura intermedia de producción de fruta. • La iniciación floral la presenta a los cuatro meses de plantada en el campo. • Es de entrenudos cortos y según su manejo y las condiciones ambientales la fruta presenta aglutinamiento. • La esterilidad puede llegar a ser un serio problema en clima seco y caliente.	• La forma característica de la fruta Kapoho de plantas hermafroditas es la piriforme con un pequeño cuello. • Con un peso promedio de 500g, el largo oscila entre 10-15cm. y el diámetro 8-10 cm.
Sunset	• Planta de tamaño intermedio con follaje abundante y crece vigorosamente. • Las primeras flores inician tres	• Es periforme pero ligeramente más redonda que la Kapoho. • El tamaño varía

	meses después de plantada en el campo. • Los entrenudos desarrollan aglutinados y en consecuencia se produce deformación, lo que se hace necesario la eliminación del fruto en crecimiento.	ampliamente con un peso promedio de 560g.

Fuente: (3).

Su principal componente es el agua, seguido por los hidratos de carbono, la mayoría simples, aunque en pequeñas cantidades, obteniendo así un valor calórico bajo.

Destaca su aporte de potasio que es un mineral necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso, sirve para la actividad muscular normal, interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula, y en lo que a vitaminas se refiere, es una fuente muy importante de vitamina C que interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, favorece la absorción del hierro en los alimentos y la resistencia a las infecciones. También contiene vitamina A que es esencial para la visión, el buen estado de la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para el buen funcionamiento del sistema inmunológico. Además ambas

vitaminas cumplen la función de antioxidante. La papaya es una buena fuente de fibra, que mejora el tránsito intestinal (1).

TABLA 2.
COMPOSICIÓN DE LA PAPAYA POR 100 GRAMOS DE PORCIÓN COMESTIBLE

Calorías	26,5
Hidratos de carbono (g)	6,3
Fibra (g)	1,9
Potasio (mg)	211
Magnesio (mg)	8
Vitamina A (mcg)	97,5
Vitamina C (mg)	82
Acido fólico (mcg)	1

mcg=microgramos

Fuente**:** Low y Maretzki

- La papaya es una fruta destinada normalmente a satisfacer la demanda interna y una parte de la producción se envía a los mercados internacionales.

En el 2008 la Provincia del Guayas tenía una producción 320 has mayor a la de Provincia de Santa Elena que fue de

120 has, de las cuales el 70% fueron destinadas para la exportación y el otro 30% fueron destinadas para el consumo local.

Actualmente, la producción de las Provincia del Guayas es de 450 has. y en la Provincia de Santa Elena es de 300 has, muy poco diferencia de producción entre las dos provincias, comparando con año 2008 (4).

- Las exportaciones actuales de las papayas se hacen hacia Canadá y Europa representan alrededor de 3’5 millones de dólares al año, que comparados con lo que importa EE.UU. que son unos 85 millones de dólares significa que las ventas del país solo cubrirían el 4% del mercado. Nuestro país tiene la oportunidad de abastecer un nuevo que es E.E.U.U., por ello es necesario poder aumentar las hectáreas de producción para distribuir las papayas a nuestro nuevo mercado (www1, 2011).

- . . . . . y . . . . . .

  En lo referente a las exportaciones por destino (país), las ventas de papaya del Ecuador se destinan (4):

  Alemania 31%

  España 27%

  Holanda 23%

  Canadá 16%

. . . . . .

. . . . . .

- . . . . . Algunas veces, cuando la cáscara de la fruta está completamente amarilla y su calidad interior también ha llegado a su estado óptimo de desarrollo, se presentan zonas verdes como islas en la cáscara, causadas por desórdenes.
- . . . . . Los daños incluyen: magulladuras en la cáscara, parches amarillos y verdes, maduración heterogénea, zonas duras alrededor de la inserción del pedúnculo o puntos duros en la pulpa, zonas en la pulpa muy blandas y aguadas, un incremento en la susceptibilidad a los daños.

- Los almacenamientos a altas temperaturas de las papayas, causan cambios en la coloración de la cascara, reblandecimiento anormal, baja intensidad de la coloración como consecuencia de un desarrollo anormal (5).

Los hongos que se desarrollan durante la post cosecha son: pudrición por Aspergillus niger, pudrición Thanatephorus donk, pudrición por Phomopsis destructum y pudrición por Rhizopus stolonifer (Snowdon, 1990 y Agrios, 1999*).*

De los mencionados, se consideraron como los principales hongos de interés en este proyecto a Thanatephorus donk, Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger, en virtud al muestreo realizado en el estudio.

- Se caracteriza por que no produce conidias, las hifas son de color marrón oscuro, las células son multinucleadas y la base de las células da origen a una ramificación que tiene una constricción (6).
- Hongo filamentoso que presenta un micelio que carece de septos y produce esporangióforos,

estos son largos, aéreos y sin ramificar, de color pardo oscuro que nacen de un nudo de rizoides bien desarrollados hasta formar en la punta los esporangios, que son esferas pequeñas con columnela y contiene en su interior a las esporangiosporas (7).

- Está formada por Hifas bien desarrolladas, profusamente ramificadas, hialinas y septadas. Como regla general las células son multinucleadas.

El micelio joven produce conidióforos en abundancia que surgen solitarios a partir de las hifas somáticas. Los conidióforos hialinos o pigmentados, son largos, cada uno terminando en una cabeza bulbosa llamada vesícula multinucleada, donde se producen un gran número de células conidiogénicas que son típicas fiálides a medida que alcanza la madurez, estas comienzan a producir conidios, uno tras otro, en cadena. Como los conidióforos y los conidios se producen abundantemente, su color es predominante en la pigmentación de la colonia, apareciendo de color negro o marrón (www2, 2011).

Fuente: 5

FIGURA 1.1. MANEJO POSCOSECHA.

- La cosecha empieza a los 9 meses de hecho el semillero o 7 meses después del trasplante.

  Los trabajos de cosecha son un factor concluyente en el tiempo de vida de las frutas. Estos son retiradas por torsión y colocados en una carretilla con protección de espuma o papel, luego en un

ambiente fresco, se procede a limpiar, desinfectar y reducir la temperatura interna, después se establece el tratamiento post cosecha más adecuado según el destino.

-

  Se refiere a la separación de los frutos completamente sanos, sin daños por microorganismos, insectos, roedores o maltrato físico, óptimos para la comercialización (5).

-

  La fruta es apartada si presenta muestras de daño mecánico reciente, enfermedades, exceso de madurez, “cara de gato”, tamaño excesivo o insuficiente, etc. De acuerdo a los requerimientos del mercado, la fruta también se rechaza por presencia de raspaduras, daño por insectos o forma irregular.

-

  La fruta se debe sumergir en un tanque de lavado con agua para remover el latex y suciedad. Se debe usar agua con cloro, en una concentración de 100 a 150 ppm (8).

-

  El desarrollo y aplicación de películas comestibles en la superficie de los frutos puede regular la permeabilidad al oxígeno, CO_2 y vapor de agua, retardando el proceso natural de madurez fisiológica. La aplicación directa de la solución formadora de

película sobre la fruta, se puede llevar a cabo por métodos de: inmersión que requiere de una capa uniforme en una superficie irregular y este proceso se realiza en tanques que contengan la solución formadora de película, aspersión debido a la utilización de alta presión hay un menor gasto de solución formadora de película que es requerido para obtener superficies uniformes, frotación utiliza aire comprimido que es aplicado en las líneas de empaque que poseen rodillos en movimiento para lograr una dispersión uniforme (9).

- Las canastillas para transportar las frutas deben llenarse con una capa de fruta cuyo pedúnculo debe colocarse hacia abajo. La fruta se asegura en la canastilla con material inerte para evitar golpes y las papayas pequeñas se colocan en cajas de cartón.

- La papaya es susceptible al daño por enfriamiento por lo cual no debe almacenarse a menos de 7°C por períodos breves. La fruta puede conservarse de 7°-13°C y 85-90% de humedad relativa dependiendo del grado de maduración. La fruta 100 % madura es más resistente al frío que la parcialmente madura. La temperatura para maduración organoléptica es de 21-27°C (5).

1.4.1. Películas comestibles

La película comestible se define como una capa delgada de material comestible formada sobre un alimento como un recubrimiento, o colocada (lo que implica que debe ser preformada) sobre o entre los componentes de los alimentos. Estos métodos de elaboración permiten ofrecer una barrera selectiva a la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, etc.; al mismo tiempo pueden servir como agentes acarreadores de otros ingredientes o aditivos (antioxidantes, saborizantes, antimicrobianos y colorantes) para mejorar el potencial de conservación y las características de manejo del alimento.

Las películas comestibles con buenas propiedades mecánicas pueden llegar a sustituir las películas de empaque sintéticas (10).

1.4.2. Características

La aplicación de la película comestible sobre la superficie del alimento conserva o mejora la calidad y estabilidad del producto, puesto que las películas comestibles pueden

proceder de distintas maneras: retrasa el crecimiento de microorganismos aportando una acción antimicrobiana, retrasa la pérdida de humedad de las hortalizas cortadas en porciones porque proporciona una barrera física a la migración de agua, retrasa el paso del oxígeno a la materia vegetal, frenando así las reacciones oxidativas que inducen a los cambios. También pueden proveer alguna protección física para productos alimenticios que son susceptibles a la lesión durante el transporte, como las frutas y verduras frescas (11).

Las principales ventajas que presentan estos recubrimientos son: Pueden consumirse con el alimento, controlar el movimiento del agua entre los componentes, retardar las pérdidas de humedad, controlar la respiración y prolongar la vida de almacenamiento, además influyen en la permeabilidad del vapor de agua, oxígeno, lípidos y componentes del sabor en muchos sistemas de alimentos multicomponentes, pueden utilizarse como soporte para determinados agentes antioxidantes y acidulantes, así como también de fungicidas y bactericidas que pueden ayudar en

la prevención del pardiamiento y del crecimiento microbiano respectivamente (12).

Los empaques comestibles se pueden elaborar a partir de lípidos, polisacáridos, proteínas o mezclas de estos. A continuación, se describen las características más importantes de cada uno de ellos:

- Debido a su naturaleza hidrofílica, las películas fabricadas a partir de polisacáridos presentan buenas propiedades de barrera frente al CO2 y O2 dentro de ciertas condiciones, pero escasas barreras frente al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986; Gennadios et al., 1997).
- Debido a su hidrofobicidad, los lípidos son utilizados para fortalecer la barrera al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986; Gennadios et al., 1997).
- Las películas y recubrimientos elaborados a partir de proteínas presentan buenas propiedades de barrera frente al O2 y CO2, pero no frente al agua (13).

- [illegible]

  Ayudan a conservar la integridad de los films porque disminuye su fragilidad, desarrollando la resistencia a la rotura y la flexibilidad.

  El plastificante se asocia fisicoquímicamente con la estructura del polímero, reduce la cohesión e interfiere con la asociación de las cadenas poliméricas facilitando su deslizamiento por lo que aumenta la flexibilidad de los films (glicerol, sorbitol etc.)(14)

[illegible]

Algunos compuestos naturales con actividad antimicrobiana son:

- [illegible]

  Es un polisacárido, conseguido de la quitina originaria de los crustáceos presenta una ligera resistencia al vapor de agua, permeabilidad selectiva frente a los gases y propiedades anti fúngicas y antibacterianas.

- [illegible]

  El propóleo es una sustancia que se obtiene de las abejas, estos insectos utilizan las yemas de los árboles y luego la

procesan en la colmena, convirtiéndola en un potente antibiótico con el cual cubren las paredes de la colmena. El propóleo tiene colorantes, los flavonoides, que son las más activas en la función antiséptica (15).

- Los aceites esenciales se definen como la mezcla de sustancias volátiles insolubles en agua, destiladas o extraídas a partir de material vegetal (flores, brotes, semillas, hojas, ramas, cortezas, hierbas, madera, frutas y raíces de vegetales).

  Los principales componentes de los Aceites esenciales son sustancias fenólicas, que además son las responsables de conferir actividad antimicrobiana (16).

Para la formación de las películas se han desarrollado cuatro técnicas:

1. Eliminación del disolvente: La elaboración de una película comestible solida se consigue gracias a la evaporación del solvente en el que se aplica. Ajustar correctamente la temperatura y velocidad de secado es

imprescindible para conseguir una película con propiedades mecánicas adecuadas.

2. Solidificación de la mezcla: Empleados en películas de naturaleza lipídica.

   Consiste en el calentamiento de la sustancia empleada por encima de su punto de fusión y su posterior enfriamiento (17).

3. Gelificación o coagulación térmica: Son utilizadas para las películas fabricadas a partir de proteínas, se provoca un calentamiento de la solución hasta que se desnaturaliza la proteína, lo cual provoca una estructura tridimensional o estado gel. Luego el solvente se elimina por evaporación.

   También sucede así en algunas películas basadas en polisacáridos, como las de almidón. (Osés, 2006).

4. Extrusión: se emplean altas temperaturas, presión y agitación mecánica vigorosa que facilita la integración de los aditivos (18).

-

Un alambique corriente, está formado por un tanque con volumen máximo de unos 1600 litros, con una tapadera que cierra herméticamente. A unos treinta centímetros de distancia del fondo del tanque, una parrilla sostiene la carga de hojas y permite que pase el vapor a través de ellas. Cuando el vapor se genera en el mismo alambique (ya que en algunas ocasiones esto puede suceder en una caldera aparte) se conserva constante el nivel del agua por debajo de la parrilla, así como la intensidad del fuego encendido bajo la panza, una espita, ubicada en la parte superior del alambique, permite pasar la mezcla de vapores de agua y aceite hasta un refrigerador, donde se condensan.

Al no ser solubles en agua, los aceites se separan y flotan sobre ella, de donde son recuperados sin dificultad (www3, 2011).

- . . . . . .

  El material previamente puede ser molido, macerado o picado, para permitir mayor área de contacto entre el sólido y el solvente. El proceso se realiza en movimiento continuo (agitación) para el sólido, o el líquido, o ambos logren una mejor eficiencia en la operación. Se realiza preferiblemente a temperatura y presión ambiente.

  Los solventes más utilizados son: Etanol, metanol, isopropanol, hexano, etc.; no se usan clorados, ni benceno por su peligrosidad a la salud. Los solventes se recuperan por destilación y pueden ser utilizados nuevamente. En la etapa de recuperación de los solventes (atmosférica o al vacío), después de los condensadores, ha de disponerse de una unidad de enfriamiento, para la menor pérdida del solvente. El material residual en la marmita de destilación, contiene concentrados las materias odoríficas y se le conoce como “concrete”.

- . . . . . .

  Conocido también con el nombre de “expresión”. El material vegetal es expuesto a presión, bien sea en prensas discontinuas (tipo batch) o en forma continua. Dentro de

éstos se tienen los equipos: Tornillo sin fin de alta o de baja presión, extractor expeller, extractor centrífugo, extractor decanter y rodillos de prensa (www4, 2011).

- El solvente es comprimido hasta la presión operación y calentado hasta la temperatura de operación. La columna de extracción es cargada con el aceite esencial crudo y llevada a las condiciones de presión y temperatura de operación.

  El solvente entra a la columna por la parte inferior arrastrando los Mono terpenos presentes en el aceite. La corriente de encima de la columna de extracción, es expandida por medio de una válvula de expansión a presión atmosférica, el extracto es separado del solvente a bajas temperaturas por medio de un separador gas – líquido. El aceite concentrado se obtiene por el fondo de la columna (19).

Los principales componentes pueden constituir hasta el 85% del aceite y el resto de los compuestos se encuentran en pequeñas cantidades o trazas. Existen evidencias de que los componentes menores desempeñan un papel relevante en la

función antimicrobiana, probablemente generando un efecto sinérgico con los otros constituyentes de las mezclas.

La actividad antimicrobiana del clavo, la pimienta y la canela se atribuye al eugenol (2-metoxi-4 etil fenol) y al aldehído cinámico que son sus principales constituyentes volátiles.

Debido al carácter hidrofóbico que presentan los aceites les ayuda a incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales, alterando así su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo. Los aceites también podrían actuar sobre las proteínas embebidas en la membrana citoplásmica deformando la interacción lípido-proteína. Y afectando la actividad de enzimas como la ATPasa, disminuyendo la producción de energía requerida para el funcionamiento celular, otra posible acción será la interacción directa de los componentes lipofílicos con las partes hidrofóbicas de la molécula de proteína (www5, 2011).

Por regla general, los aceites esenciales por vía oral poseen una toxicidad débil o muy débil, la mayoría de los que se utilizan frecuentemente tienen una DL50 comprendida entre 2 y 5 g/kg (anís, eucalipto, clavo, canela, etc.), o lo que es más frecuente, superior a 5g/kg (manzanilla, lavanda, etc.) (20).

CAPÍTULO 2.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Obtención de las Cepas de Hongos

2.1.1 Desinfección de las Muestras Infectadas.

Los frutos que fueron seleccionados con presencia de alguna lesión infecciosa, se lavaron con agua corriente, luego se desinfectaron por dos minutos con hipo clorito de sodio al 2.5% y se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada estéril.

Mancha Negra	Mancha Blanca	Mancha Rosada	Ablandamiento

FIGURA 2.1.- PAPAYAS CON SÍNTOMAS

En la cámara de flujo laminar se tomó del borde de la lesión porciones de 2 mm^2. de tejido vegetal. Estas porciones se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo PDA (Apéndice A), se ajustó el pH a 5.6 con ácido láctico al 0.2%.

Se realizaron 3 repeticiones por sintomatología presente (cuatro síntomas); se hicieron tres fragmentos de la misma lesión y luego cada fragmento se colocó en una caja petri con agar. Las cajas se rotularon y se colocaron en una incubadora bajo condiciones asépticas a 17°C (21).

Una vez desarrollados los hongos, a los 7 días se procedió a separar 1 cm^2. de la cepa con un sacabocado, y se transfirió con la ayuda de pinzas a otra caja petri que contiene PDA.

Las colonias fungosas, se incubaron a una temperatura de 28-28.5ºC. Posteriormente se las empleó para su reconocimiento y obtención del inoculo (22).

TABLA 3.

ROTULACIÓN DE LOS TEJIDOS INFECCIOSOS EN PDA

Síntoma	Procedimiento	Aislamiento	Rotulación
Mancha negra (MN)	Se corta 3 pequeñas porciones del tejido infectado y se coloca en agar PDA (1, 2,3)	Se espera que se desarrolle completamente el Hongo y se procede a cortar dos secciones pequeñas (A, B).	MN1A MN1B MN2A MN2B MN3A MN3B
Mancha blanca (MB)			MB1A MB1B MB2A MB2B MB3A MB3B
Mancha Rosada (MR)			MR1A MR1B MR2A MR2B MR3A MR3B
Ablandamiento (AB)			AB1A AB1B AB2A AB2B AB3A AB3B

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012)

Se colocó una pequeña porción de la colonia sobre el portaobjeto y se cubrió con una laminilla para ser observado en el microscopio óptico con un objetivo de 40X.

En las características macroscópicas, se determinaron las diferencias en coloración, desarrollo y crecimiento aéreo del hongo para cada día (23).

Se usó almidón de maíz, con una relación de 20 g. de almidón en 500 ml. de agua destilada. Se homogenizó el almidón en 100 ml. de agua fría y luego se agregó esta mezcla a 400 ml. de agua hirviendo, bajo agitación por 5 minutos. Después se incorporó 11.3 ml. de glicerol al 90% (grado técnico) y a los 5 minutos se añadió 1.25 g. de ácido esteárico, en 10 minutos el ácido se disolvió y se procedió con la adición de los aceites esenciales de clavo de olor y canela en tres diferentes concentraciones cada uno (0.04%,0.06%, 0.08%), se finalizó el proceso agitando por 5 min. Más.

Agua destilada

Agua destilada con almidón

Mezcla 1 de compuestos

Glicerol

Se añadió glicerol

Mezcla 2 de compuestos

Ácido esteárico

Se incorporó ácido

Mezcla 3 de compuestos

Aceites esenciales

adición de los aceites

Mezcla 4 de compuestos

FIGURA 2.2. PREPARACIÓN DE LA PELÍCULA COMESTIBLE.

2.3. Evaluación del Índice de Severidad y Porcentaje de Infección de la Película Comestible con los Aceites Esenciales (clavo de olor y canela) en Papaya.

En esta etapa de la investigación se evaluó el efecto de los aceites esenciales dentro de las películas, sobre los hongos encontrados e identificados.

Las papayas se analizaron con diferentes tratamientos que fueron: de película con aceites esenciales, cera y blanco. Todas las muestras fueron a refrigeración (13^0 C).

2.3.1 Obtención de los Frutos.

Dentro del experimento se obtuvieron los frutos a través de: New Earth S.A., este estuvo libre de tratamiento, y las papayas con cera se consiguieron en el súper mercado.

FIGURA 2.3. RECEPCIÓN DE LAS PAPAYAS

Las muestras de fruta seleccionadas tuvieron un 60% de maduración (Apéndice B), se lavaron con agua corriente, luego se desinfectaron por un minuto con hipo clorito de sodio al 2.5% y se enjuagaron tres veces con agua destilada (21).

Con los cultivos de 10-15 días de edad, se preparó una suspensión de $7x10^7$ esporas de Thanatephorus donk/ml. de solución, $4.6x10^8$ esporas de Rhizopus stolonifer /ml. de solución, $8.5x10^7$ esporas de Aspergillus niger/ml. de solución. Se obtuvo la concentración de cada cultivo, incorporando en una matraz volumétrico 100ml. de agua

destilada estéril, y enseguida se realizó el raspado del micelio con una varilla de vidrio estéril para remover las esporas. Después esta suspensión de esporas se filtró en una tela de gasa esterilizada. El conteo de esporas se ejecutó en una cámara de Neubauer para ajustar la concentración correspondiente (Apéndice C). Una vez que se obtuvo la concentración se hizo la inoculación (24).

Matraz con hongo Aspergillus niger.

Proceso de agitación del matraz con el hongo Aspergillus niger y agua destilada para proceder a la determinación de la concentración.

FIGURA 2.4. HONGOS EN MATRACES VOLUMÉTRICOS CON PDA.

TABLA 4.

CONCENTRACIÓN UTILIZADA PARA CADA HONGO

Hongo	Thanatephorus	Rhizopus	Aspergillus
Concentraciones	$7x10^7$ esporas/ml. de solución	$4.6x10^8$ esporas/ml. de solución	$8.5x10^7$ esporas/ml. de solución
Suspensión(para los 24 tratamientos de cada hongo)	100ml.	100ml.	100ml.
Volumen utilizado para la inoculación de cada papaya	4ml.	4ml.	4ml.

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012)

Una vez elaborada la película con los aceites esenciales, se utilizó una técnica de aplicación que consistió en el uso de brochas para adherir la película, esta operación se repitió en dos ocasiones. Posteriormente se secaron con aire.

Cuando se conocieron las concentraciones de las suspensiones que fueron: $7x10^7$ esporas de Thanatephorus donk/ml. de solución, $4.6x10^8$ esporas de Rhizopus stolonifer/ml. de solución, $8.5x10^7$ esporas de Aspergillus niger/ml. de solución, estas se aplicaron en las papayas (inoculación) y después se colocaron los diferentes tipos de tratamientos (papayas con película y aceites esenciales, cera y blanco) por medio del método de la aspersión, se utilizó

4ml. de suspensión por cada papaya con diferentes tratamientos (22).

TABLA 5.

TRATAMIENTOS Y REPETICIONES PARA EL CALCULO DEL INDICE DE SEVERIDAD

Thanatephorus, Rhizopus, Aspergillus				
Tratamientos				
Canela	Concentraciones	0.04	0.06	0.08
	Repeticiones	3	3	3
Clavo	Concentraciones	0.04	0.06	0.08
	Repeticiones	3	3	3
Blanco	Repeticiones	3		
Cera	Repeticiones	3		
Tratamientos 8, con 3 repeticiones para tener un total de 3X8=24. Son 24 tratamientos para cada hongo. Este esquema del cuadro se aplica a cada hongo (24 de Aspergillus x 24 de Rhizopus x 24 de Thanatephorus que da como resultado 72 tratamientos.)				

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

A continuación se reunió las características de los síntomas principales de cada hongo en estudio.

Thanatephorus cucumeris (Frank) Donk estado perfecto de Rhizoctonia solani Kuhn Los síntomas iniciales se manifiestan con pequeñas manchas de consistencia acuosa en cualquier parte de la superficie de la fruta. Las manchas son más claras que el tejido circundante sano, después estas se tornaron de color café con un borde oscuro y aumentó en tamaño. Luego se esparce hasta cubrir la superficie del fruto (25).

- Los síntomas iniciales se manifiestan en la zona infectada de la fruta, en la superficie aparece una ampolla embebida en agua y esta es muy blanda.

En el periodo que la cáscara de los tejidos se mantiene infectada, esta se conserva intacta, el órgano carnoso se ablanda y pierde humedad gradualmente hasta que al final se observa arrugada y momifica (26).

- Forman colonias pulverulentas de color negro en la superficie de los órganos

afectados y abolladuras que son lesiones necróticas hundidas o cóncavas (27).

Al término del periodo de almacenamiento se examinaron los frutos de cada tratamiento, se dividió el número de frutos infectadas entre el total, para obtener el porcentaje de infección.

Para facilitar la evaluación de este parámetro, se consideró la superficie total del fruto como el 100% (Apéndice D), y se dividió longitudinalmente en cuatro partes iguales. Para el daño visual se estableció una escala arbitraria con cuatro categorías, en función del porcentaje de la superficie infectada exhibida por el fruto, esto fue: 0=sin daño; 1=1-5% daño ligero; 2=6-15% daño moderado; 3=16% daño severo (26).

Se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Severidad} = \frac{(X(1)+X(2)+X(3)+X(4)+X(5))}{N}$$

Donde:

i Número de frutos enfermos por cada grado de daño.

Grados de daño en la escala utilizada.

Total de frutas por unidad experimental

En esta etapa del estudio se trabajó con: la película comestible sin aceites esenciales y la película con aceites esenciales que se escogió después de tener los resultados en las pruebas de porcentaje de infección, índice de severidad y otras consideraciones en cuanto a su aspecto. Se realizaron pruebas físicas a las películas y estos resultados fueron comparados entre sí.

Se utilizó un determinador de humedad Kern modelo MLB, siguiendo el método MLB-BA-s-0411.

Para medir la humedad se tomó una muestra de 0.5gr. de película con aceites esenciales y sin ellos, se enceró el equipo y se presionó el botón start dos veces. Luego se esperaron los resultados en la pantalla del equipo.

Se colocó la muestra | Se presionó dos veces el botón start. | Equipo procesando

FIGURA 2.5. MEDICIÓN DE LA HUMEDAD.

El principio de medida de la viscosidad se basa en aplicar una velocidad de giro constante y medir la resistencia que ofrece la muestra al giro del rotor.

Las películas se ajustaron a una temperatura entre 32.8-32.4 y se midió con un viscosímetro Brookfield (Brookfield

Engineering Labs, Inc., modelo DV-II), el método utilizado fue M/98-350D0902.

Para el proceso de medición, se colocó un eje LV3 en el viscosímetro y se procedió a medir la resistencia al giro del rotor con la ayuda de un software Wingather V3.0., que facilitó la obtención de los datos en forma más precisa.

Muestra de película Medición de película

FIGURA 2.6.VISCOSÍMETRO CON LA MUESTRA DE PELÍCULA.

Se procedió a verter 10 y 15 ml. de cada muestra sobre cajas petri de 8.8 cm. de diámetro y se obtuvo una fina capa de película.

El espesor de las muestras de películas con aceites esenciales y sin ellos se midió con un micrómetro DIN 863 I (28).

Las pruebas se realizaron con un texturómetro marca Brookfield modelo CT31500115, basándose en el método AST-882-95a. Posteriormente se procedió a encender el equipo y se escogió Remote operation para efectuar la medición, se empleó un software TexturePro Ct V1.1 Build 7;

En este proceso de evaluación de la vida útil se experimentó con tres tratamientos: papayas con películas dentro de las cuales tuvieron aceites esenciales, papayas con películas pero sin aceites esenciales, y papayas sin nada (blanco).

Las papayas con tratamientos se refrigeraron a 13°C y fueron puestas en recipientes de plástico para tener resultados óptimos.

Papayas sin Películas (psp)

Papayas con Películas (pcp)

Papayas con Películas y Aceites Esenciales (pcpa)

FIGURA 2.7. MUESTRAS DE PAPAYAS CON TRATAMIENTO

Se ajustó a las pruebas de vida útil un software R y un diseño de análisis de varianza funcional, que a través del valor p permitió conocer si existen diferencias significativas para los distintos grupos de tratamientos. También se aplicó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias suponiendo que las varianzas son desiguales, esta prueba ayudó a saber si las películas con aceites esenciales son mejores que aquellas que no tienen aceites.

El modelo utilizado fue:

$Y_p(t) = \mu(t) + \alpha_p(t) + \epsilon_p(t)$

$Y_p(t)$ = función promedio para una papaya con el tipo de película p en el instante de tiempo t.

$\mu(t)$ = función promedio para una papaya sin película.

$\alpha_p(t)$ = función de efecto de la aplicación de la película p en el instante t.

$\epsilon_p(t)$ = error teórico.

Si la papaya no tiene película alguna, $\alpha_p(t) = 0$.

La hipótesis nula del Análisis de Varianza Funcional fue:

$H_O = \alpha_1 = \alpha_2 = 0$

Vs

H_1 = Al menos un alpha $\neq 0$

Fue de interés medir, si el uso de los aceites esenciales tuvo un efecto positivo sobre los parámetros medición de vida útil, por lo que se postuló:

$H_O = \mu_1(t) - \mu_2(t) \leq 0$

Vs.

$H_1 = = \mu_1(t) - \mu_2(t) > 0$

Dónde: $\mu_1(t)$ representa a la función promedia para papayas con películas comestibles sin aceites esenciales y $\mu_2(t)$ para las que tienen aceites. Se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias suponiendo que las varianzas son desiguales (29).

$$\overline{T}\,(t) = \frac{\overline{X}_1\,(t) - X_2(t)}{S_p\,(t)\,\sqrt{1/n_1 + 1/\,n_2}}$$

El equipo que se usó fue un refractómetro de mano (ABBE Refractómetro desktop) y el método utilizado fue NMX-F-103-1982.

A las muestras de papayas se les extrajo el jugo, se colocó dos a tres gotas del jugo sobre el prisma de medición. Los resultados se obtuvieron por lectura directa en grados °Brix, que representan la concentración de sólidos solubles totales presentes en la muestra.

Extracción del jugo

Muestra de jugo de papaya

Se colocó unas gotas para hacer la medición.

Esta es la escala de grados Brix.

FIGURA 2.8. MEDICIÓN DE GRADOS BRIX.

Para medir el pH de las muestras se utilizó un potenciómetro Thermo Scientific orion 5 y se usó el método AOAC 33.007

Se procedió a extraer el jugo de las muestras de papayas, se hizo una dilución de 1/1 y se midió el pH a temperatura ambiente.

Proceso de medición del pH

FIGURA 2.9. MEDICIÓN DEL PH

Se empleó un texturómetro marca Brookfield modelo CT3, basándose en el método AST-882-95a. Posteriormente se procedió a encender el equipo, este se reseteó, seguidamente se seleccionó Remote operation para que el equipo siga procesando el análisis.

FIGURA 2.10. MEDICIÓN DE LA TEXTURA

Las mediciones de color se realizaron comparando un segmento de papaya con una cartilla del catálogo PANTONE Color Specifier (Apéndice E), de tal manera que se determinó la coloración exacta que tuvo la papaya en ese instante. Luego se utilizó una paleta digital de PANTONE para descomponer los colores en coordenadas RGB (red, green, blue) y se obtuvo una cuantía de la cantidad de color.

En las coordenadas RGB, cada uno de sus componentes puede tomar valores entre 0 y 255, lo que da lugar a 256^3 posibles colores. Los colores base se puede apreciar en la figura 2.12.

Para el análisis de color se utilizó el módulo del vector RGB como medida de cantidad de color, se manejó la siguiente ecuación:

$$Color=\sqrt{r^2+g^2+b^2}$$

Catalogó para hacer medida directa

Color	[R, G, B]	Muestra de Color
Blanco	[0 , 0 , 0]	
Rojo	[255, 0 , 0]	
Verde	[0 ,255, 0]	
Azul	[0 , 0 ,255]	
Negro	[255,255,255]	

Colores bases

FIGURA 2.11. CATÁLOGO PANTONE Y COLORES BASE.

Se pesaron los frutos con tratamientos (película con aceite esenciales, película sin aceite y blanco) en una balanza de marca GHAUS modelo Scout-Pro, se usó el método ISO 9001:2000.

Para comenzar se obtuvo un peso inicial y después se continuó pesando los frutos cada día, hasta terminar el experimento.

CAPÍTULO 3

3. ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Las muestras de papayas que fueron rotuladas, se verificaron la existencia del crecimiento de los hongos. En la tabla 6, se puede ver dicho acontecimiento.

TABLA 6.

IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS CON COLONIAS

Rotulación de la Muestra	Crecimiento del hongo	Concepto
MN1A	+	crecimiento de hongo
MN1B	+	crecimiento de hongo
MN2A	+	crecimiento de hongo
MN2B	+	crecimiento de hongo
MN3A	+	crecimiento de hongo
MN3B	+	crecimiento de hongo
MB1A	-	No-crecimiento de hongo
MB1B	-	No-crecimiento de hongo
MB2A	+	crecimiento de hongo
MB2B	+	crecimiento de hongo
MB3A	+	crecimiento de hongo
MB3B	-	No-crecimiento de hongo
MR1A	+	crecimiento de hongo
MR1B	+	crecimiento de hongo
MR2A	-	No-crecimiento de hongo
MR2B	+	crecimiento de hongo
MR3A	-	No-crecimiento de hongo
MR3B	+	crecimiento de hongo
AB1A	+	crecimiento de hongo
AB1B	+	crecimiento de hongo
AB2A	+	crecimiento de hongo
AB2B	+	crecimiento de hongo
AB3A	-	No-crecimiento de hongo
AB3B	-	No-crecimiento de hongo

Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

Una vez que se visualizó el crecimiento de los hongos, se pudo identificar tres: Thanatephorus donk, Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger.

En la tabla 7, se puede apreciar las características macroscópicas que muestran las diferencias en coloración, desarrollo y crecimiento aéreo de las colonias y en la tabla 8, se distinguen algunas similitudes en forma entre el Aspergillus niger y Rhizopus stolonifer, pero haciendo un análisis visual más detallado cada uno tiene diferentes características.

TABLA 7.

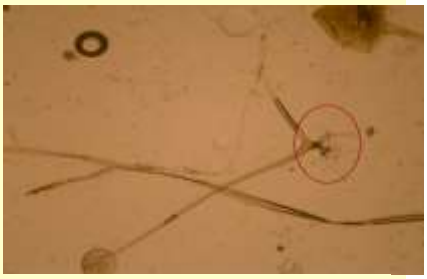
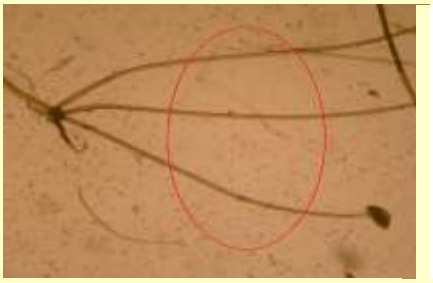
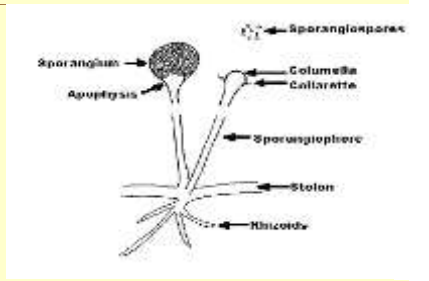
IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICA DE LOS HONGOS.

Muestrás	MN1A, MN2A, MN2B, MR1A, MR1B, AB2A, AB2B.	MN1B, MN3A, MN3B, MR3B, MR2B, MB2A.	MB3A, MB2B, AB1A, AB1B.
Colonias			
Hongo	Thanatephorus Donk: El hongo de color marrón oscuro a negro, incrustaciones (esclerocios) en la superficie.	Rhizopus stolonifer: Aspecto granuloso a algodonoso, blanco y luego parduzco (color canela). Reverso inicialmente de color crema y luego parduzco.	Aspergillus Níger: Lanoso, color blanco amarillento que cambia negro. Reverso blanco-amarillento.

Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

TABLA 8

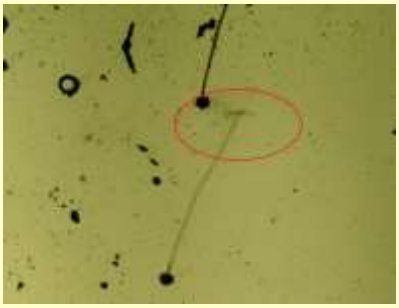
IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA DE LOS HONGOS

Hongo	**Thanatephorus donk**	
Imágenes		
	Hifas muestran el ángulo recto.	Sus células hifales son multinucleadas.
	Rhizopus stolonifer	
		
	El esporangio es redondo con base aplanada y se encuentran en la punta de los esporancióforos, es soportado por una gran columela apofisada.	Rizoides que no surgen frente a los esporangióforos.
		

Esporangióforos son por lo general no ramificados, de color marrón, aparecen solitarios o en grupos.

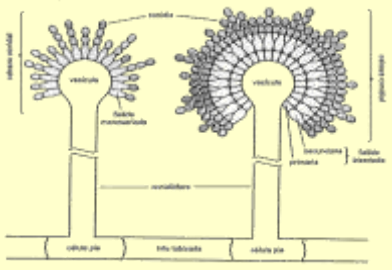
Modelo para ilustración

Aspergillus niger



Estructura completa

Célula pie presente al final del conidióforo.



Conidióforos cuya cabeza está localizada en el extremo de una hifa, compuesta por una vesícula rodeada por una corona de fiálides en forma de botella directamente insertadas sobre la vesícula. De las fiálides se desprenden las esporas (conidios).

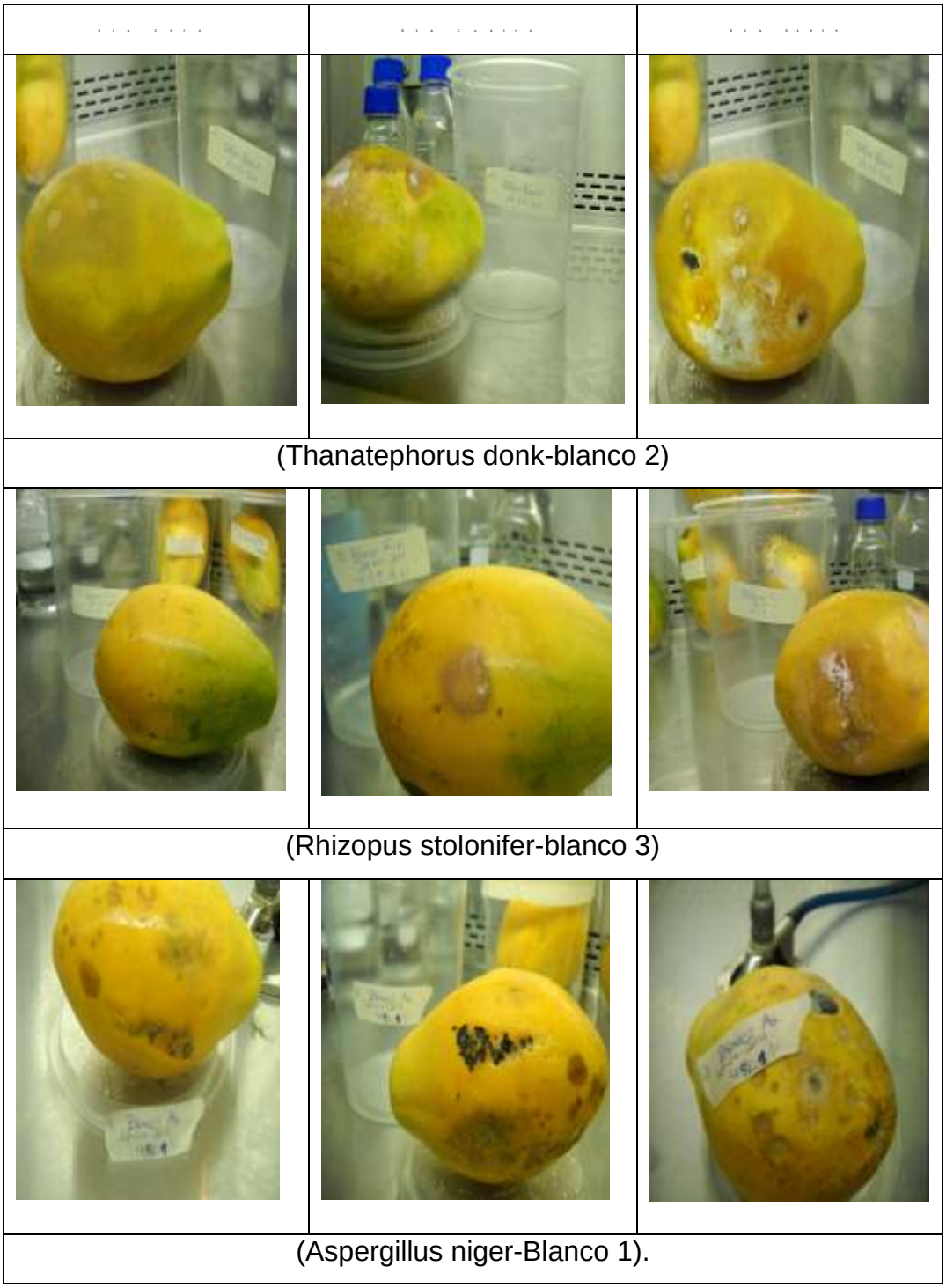
Modelo ilustrativo

Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

En esta parte del estudio, se presentan los resultados referentes al aspecto físico que mostraron los frutos, después de haberse aplicado los diferentes tratamientos con aceites esenciales, donde se determinó el porcentaje de infección e índice de severidad.

Como se puede apreciar en la figura 3.1, las papayas inoculadas con Thanatephorus donk manifestaron los síntomas con pequeñas manchas de consistencia acuosa, luego éstas fueron más claras que el tejido circundante sano, después se tornó de color café con un borde oscuro y aumentó en tamaño (25), en Rhizopus stolonifer el tejido de la fruta mostró como si estuviera embebida en agua y de consistencia muy blanda, esta cáscara del tejido infectado se conservó intacta, entonces el órgano carnoso se ablandó y perdió humedad gradualmente hasta que al final se observó arrugada y momifica (26), y en Aspergillus niger presento moho y abolladuras que son lesiones necróticas hundidas o cóncavas(27).

Estos síntomas son bases para trabajar en el cálculo del índice de severidad para cada hongo.



(Thanatephorus donk-blanco 2)

(Rhizopus stolonifer-blanco 3)

(Aspergillus niger-Blanco 1).

FIGURA 3.1. SÍNTOMAS DE LOS HONGOS EN ESTUDIO.

Como se puede apreciar en la tabla 9 (Tabla de resultados más detallada, Apéndice F) se encuentra el efecto de los diferentes tratamientos aplicados en las papayas, en donde se puede observar los promedios que se obtienen sumando el porcentaje de infección de cada hongo con una misma concentración de aceite esencial.

Analizando el cuadro de resultados, el tratamiento de 0.08% de clavo de olor con película comestible muestra una disminución en el porcentaje de infección del 88.9% respecto al control y en el tratamiento de 0.08% de canela se logra una disminución del 78%. Por lo tanto, esto indica que a mayor concentración de aceites esenciales se tendrá mejores resultados en este parámetro.

TABLA 9

RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE INFECCIÓN.

Tratamiento	% infección (Than)	% infección (Rhiz)	% infección (Asp)	Promedio
Blanco	100	100	100	100
Cera	100	66.7	100	88.9
Película con 0.04% Clavo de olor	33.3	33.3	66.7	44.43
Película con 0.06% Clavo de olor	33.3	0	66.7	33.33
Película con 0.08% Clavo de olor	0	0	33.3	11.1
Película con 0.04% Canela	0	66.7	100	55.56
Película con 0.06% Canela	0	66.7	66.7	44.46
Película con 0.08% Canela	0	33.3	33.3	22.2

Than= Thanatephorus, **Rhiz=** Rhizopus, **Asp=** Aspergillus
Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

3.2.2.

Para la presentación de los resultados del promedio de índice de severidad, se aplicó el mismo método de análisis del porcentaje de infección.

En la tabla 10, se muestra el efecto de los diferentes tratamientos aplicados en las papayas, en donde se puede observar que con la concentración de 0.08% de clavo de olor y 0.08% de canela, se obtienen los resultados más bajos de índice de severidad (0.22 y 0.44). Bosques-Molina et al., (2010) reportó que a medida que aumentaba la concentración del aceite esencial (en este caso de tomillo) arriba de 0.06%, disminuía el índice de severidad del hongo.

En la evaluación de las papayas con las concentraciones de 0.08% de clavo de olor y 0.08% de canela, presentaron menos papayas contaminadas y el área contaminada en cada papaya fue insignificante, lo que nos da como consecuencia un índice de severidad bajo. Con esto se puede decir que a mayor cantidad de papayas infectadas y mayor área contaminada, más alto es el índice de severidad. Por otro lado las concentraciones de 0.08% de clavo de olor y 0.08% de canela en las películas comestibles presentaron desprendimiento durante la evaluación del índice de severidad, esto se muestra en la tabla 11, donde se puede observar desprendimiento desde la concentración de 0.06% para el caso de clavo de olor (6%) y en 0.08% de canela

(6%), esta reacción es consecuencia de la disminución de la integridad física de las películas comestibles a medida que aumentaba el contenido de aceites esenciales, se puede atribuir este comportamiento a las discontinuidades que el lípido produce en la matriz estructural, proporcionando puntos de fractura que reduce la resistencia de la película a tracción mecánica (30). Por los motivos antes mencionados, se decidió que la mejor opción son las concentraciones de 0.04% de clavo de olor y 0.06 % de canela para usarlas en la películas comestibles y evaluar la vida útil de las papayas.

Una buena integridad física de las películas comestibles es indispensable porque contribuye con una barrera física que puede regular al $O_{2,}$ CO_2 y vapor de agua, retardando el proceso natural de madurez fisiológica (31).

TABLA 10

RESULTADOS DEL ÍNDICE DE SEVERIDAD

Tratamiento	Índc. severd (Than)	Índc. severd (Rhiz)	Índc. severd (Asp)	Promedio
Blanco	1.67	1.67	3	3
Cera	1	1.33	1	1,67
Película con 0.04% Clavo de olor	0.33	0.33	1	0.55
Película con 0.06% Clavo de olor	0.33	0	1	0.44
Película con 0.08% Clavo de olor	0	0	0.67	0.22
Película con 0.04% Canela	0	1	1.33	0.77
Película con 0.06% Canela	0	1	1	0.66
Película con 0.08% Canela	0	0.67	0.67	0.44

Índc.Severd = Índice de severidad, **Than=** Thanatephorus, **Rhiz=** Rhizopus, **Asp=** Aspergillus.

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

TABLA 11.
PORCENTAJE DE DESPRENDIMIENTO DE LAS PELICULAS COMESTIBLES

Tratamiento	Porcentaje de desprendimiento
Película con 0.06 de clavo de olor	6%
Película con 0.08 de clavo de olor	8%
Película con 0.08 de canela	6%

Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce L. (2012)

Las evaluaciones físicas se establecieron para la película seleccionada con aceites esenciales (0.04% de clavo de olor y 0.06% de canela), y la película sin aceites.

Los resultados expuestos a continuación son similares a los estudios reportados por Alfonso-Arce, C (2011) en películas a base de quitosano y aceites esenciales de tomillo y romero.

En la determinación de la humedad, se puede apreciar en la tabla 11 que en general el contenido de humedad es menor en las

películas comestibles con aceites esenciales. La presencia de los aceites esenciales causa la formación de enlaces covalentes entre los grupos funcionales del almidón, dando lugar a una disminución en la disponibilidad de los grupos hidroxilo, por lo tanto limita las interacciones del agua por enlaces de hidrógeno, lo cual resulta en una disminución del valor de contenido de humedad de las películas comestibles (32).

TABLA 12

RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD.

	Película comestible con aceite	Película comestible sin aceite	Temperatura
Humedad (%)	54.15	70.54	135
	35.4	67.54	136

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

Se midió la viscosidad de las películas con un rango de temperatura de 32.8-32.4, por su fácil aplicación en los frutos.

Según los datos observados en la tabla 12 y 13, se puede notar valores más bajos de viscosidad en las películas con aceites esenciales, este comportamiento se atribuye a la adsorción de las gotas de los aceites esenciales en la superficie del polímero lo que provoca una disminución de la concentración de la fase acuosa en la solución (33).

TABLA 13

RESULTADOS DE VISCOSIDAD DE LA PELÍCULA CON ACEITES ESENCIALES

Expediente:	**C:\PRUEBA 2A.DB**				
Fecha del Test :	29/11/2011	**Hora del Test :**	13:31:05	**eje:**	LV3
Nombre del ejemplo:					
#	**Viscosidad**	**velocidad**	**Torque**	**Temperatura**	**Intervalo de tiempo**
	(mPas)	(RPM)	(%)	(°C)	(mm:ss.t)
1	434.91	80	29	32.8	00:30,1
2	403.41	80	26.9	32.7	00:30,4
3	373.42	80	24.9	32.6	00:30,0
4	398.91	80	26.6	32.6	00:30,4
5	350.93	80	23.4	32.6	00:30,0

mPas= mili pascal RPM= revoluciones por minuto
Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

TABLA 14

RESULTADOS DE VISCOSIDAD DE LA PELÍCULA SIN ACEITES ESENCIALES

Expediente:	**C:\papayasss \prueba 3.2.DB**				
Fecha del Test :	29/11/2011	**Hora del Test :**	13:06:50	**eje:**	LV3
Nombre del ejemplo:					
#	**Viscosidad**	**velocidad**	**Torque**	**Temperatura**	**Intervalo de tiempo**
	(mPas)	(RPM)	(%)	(°C)	(mm:ss.t)
1	467.9	80	31.2	32.7	00:30,0
2	446.9	80	29.8	32.6	00:30,4
3	467.9	80	31.2	32.6	00:30,0
4	463.4	80	30.9	32.5	00:30,4
5	385.42	80	25.7	32.4	00:30,0

mPas= mili pascal RPM= revoluciones por minuto

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

En el espesor de las películas comestibles (sin y con aceites esenciales) se utilizó un micrómetro para medir 8 puntos distintos de cada película. En la tabla 14, se observa los distintos espesores de acuerdo a los ml. de películas (10 y 15) vertidos en las cajas petri de 8.8 cm. de diámetro, entre los dos valores de espesores de las muestras de películas sin y con aceites esenciales se halla muy poca diferencia entre ellos (28).

En el momento en que las películas fueron vertidas en las cajas petri, se vio una mejor distribución y una superficie más uniforme en las películas con aceites esenciales, dando como consecuencia unos espesores ligeramente más delgados que las otras muestras de películas (sin aceites esenciales).

TABLA 15

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL ESPESOR EN LAS MUESTRAS DE PELÍCULAS SIN ACEITES ESENCIALES Y CON ACEITES ESENCIALES

Cantidad de película en ml colocada en una caja petri de 8.8 cm. de diámetro.	Espesor de las películas sin aceites	Espesor de las películas con aceites.
10ml	26.3µm	25.4µm
15ml	39.6µm	38.1µm

µm= un micrómetro
Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

La resistencia a la punción se realizó con un texturómetro, sometiendo las muestras de películas (cada película con dos diferentes espesores) a la penetración por medio de una celda en forma de aguja.

Los resultados de trabajo de dureza terminado (mJ), se puede apreciar en las tablas 15 y 16, las películas sin aceites esenciales fueron los que requirieron mayor trabajo de dureza terminado y esto implica mayor resistencia a la ruptura. Por otro lado las películas con aceites esenciales presentaron menos resistencia a la ruptura**,** este comportamiento se consideró como consecuencia de una fuerte interacción entre el polímero y los aceites esenciales que produjo un efecto de reticulación, lo que disminuyó el volumen libre y la movilidad molecular del polímero (32).

TABLA 16.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN EN EL TEXTURÓMETRO PARA LAS MUESTRAS DE PELÍCULAS SIN ACEITES ESENCIALES

Cantidad de película colocada en una caja petri.	Trabajo de dureza terminado
25.4µm	0.608 mJ
38.1µm	0.2245 mJ

mJ= mili Joule; donde mili= 10^{-3} µm= un micrómetro
Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

TABLA 17

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN EN EL TEXTURÓMETRO PARA LAS MUESTRAS DE PELÍCULAS CON ACEITES ESENCIALES

Cantidad de película colocada en una caja petri.	Trabajo de dureza terminado
26.3µm	0.0885 mJ
39.6µm	0.2185 mJ.

mJ= mili Joule; donde mili= 10^{-3} µm= un micrómetro
Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

En el estudio de análisis de la vida útil, se puede ver en la tabla 17, el arreglo experimental para un tiempo predeterminado de 10 días, con tres repeticiones de papayas tratadas para cada día, dando como respuesta treinta papayas para un tratamiento, pero son 2 tratamientos más, se tendría noventa papayas tratadas en total.

TABLA 18

ARREGLO EXPERIMENTAL

Días de evaluación.	10
Repeticiones de cada tratamiento por cada día	3
Papayas con películas y aceites esenciales (0.04% de clavo de olor y 0.06% de canela)	**30**
Papayas con película sin aceites esenciales	**30**
Papayas sin tratamiento	**30**
TOTAL (Papayas tratadas)	**90**

Elaborado por: Leovina Martínez M. y Meily Ponce L. (2012).

Para el estudio, las papayas tratadas debían ser cortadas aleatoriamente tres papayas para cada día y medir el pH, sólidos solubles y dureza, existían papayas con mediciones faltantes por lo que fue necesario utilizar un método de imputación de datos para poder estimar estos valores. Se utilizó un método basado en mínimos cuadrados de tal forma que usaba una proyección de la función promedio para estimar las observaciones faltantes.

Para todas las características se enceraron las variables de manera que se mida el cambio de estas características con respecto al tiempo, eliminando así la incertidumbre de tener papayas con diferentes características antes de iniciar el experimento.

La hipótesis nula del Análisis de Varianza Funcional es:

$H_o = \alpha_1 = \alpha_2 = 0$

H_o = los efectos de usar algún tipo de tratamiento son nulos.

Vs

H_1 = Al menos un alpha ≠ 0

La hipótesis nula del estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias suponiendo que las varianzas son iguales es:

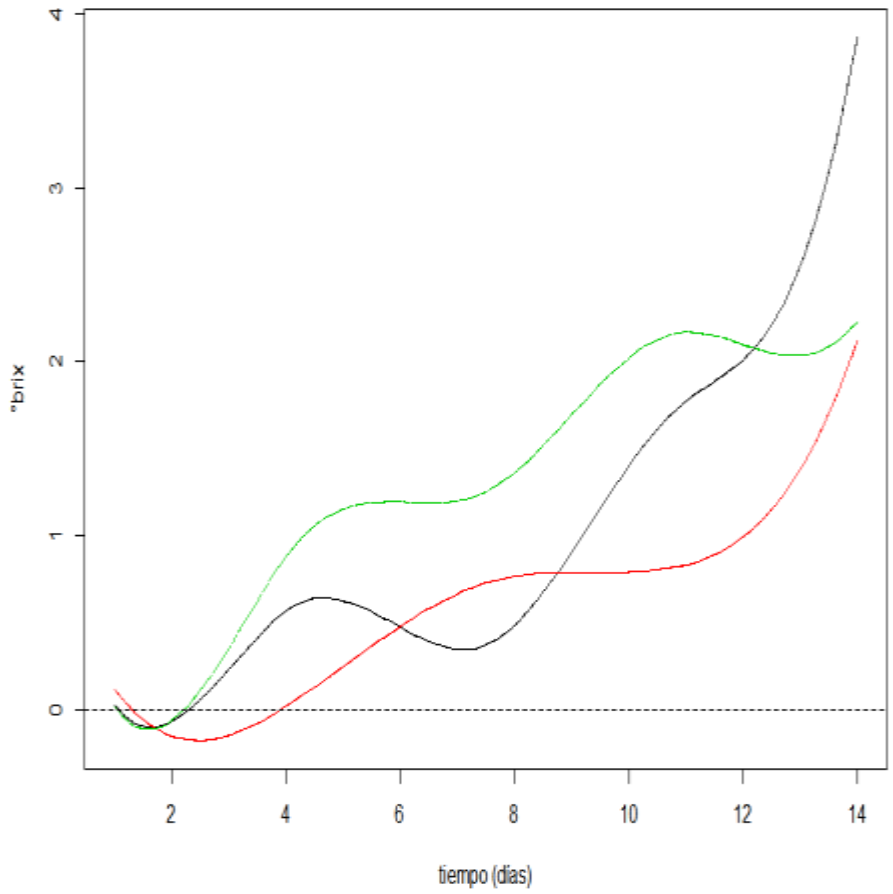
$H_o = \mu_1(t) - \mu_2(t) \leq 0$

H_o = el uso de los aceites esenciales en la película no resulta mejor en el momento de conservar el nivel °Brix, pH, Dureza, color, peso de las papayas.

Vs

$H_1 = \mu_1(t) - \mu_2(t) > 0$

Donde $\mu_1(t)$ representa a la función promedio de pérdida de peso para papayas con películas comestibles sin aceites esenciales y $\mu_2(t)$ para las que tienen aceites.



El color negro representa las papayas sin película, rojo para papayas con película sin aceites esenciales y verde para papayas con película y aceites esenciales.

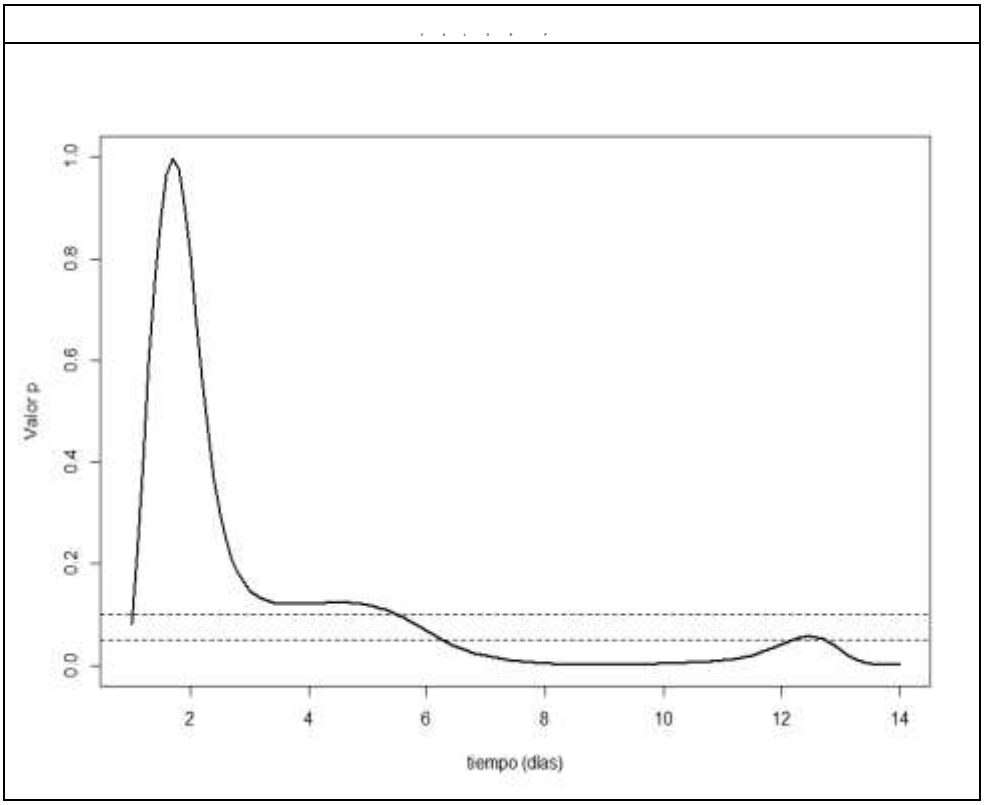
Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

GRÁFICO 3.1.COMPORTAMIENTO DE LA GANANCIA DE GRADOS BRIX DE LAS PAPAYAS CON LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (GRADOS BRIX VS TIEMPO).

En el gráfico 3.1, se observa que en las funciones medias o promedios de todos los tipos de tratamientos (películas comestibles

con y sin aceites esenciales, y blancos), que el uso de las películas comestibles con aceites esenciales hace que las papayas siempre tenga más grados Brix, donde finalmente en el día doce del experimento se ve superado por las papayas sin aplicación de las películas. En general, de no usarse las películas, se mantendrá baja la cantidad de grados Brix en las papayas hasta aproximadamente el día ocho, donde después de esto se acelera, y en el día catorce ganó cuatro grados Brix. A partir del día catorce el uso de aceites esenciales en las películas es indiferente, ya que se tienen iguales resultados.

El incremento de los grados Brix de las papayas con películas comestibles y aceites esenciales, se debe a la degradación hidrolítica de los carbohidratos de cadena larga; en donde es frecuente casi toda la conversión de almidón en azúcar (fructuosa, glucosa y sacarosa), haciendo que el fruto sea más dulce (34).

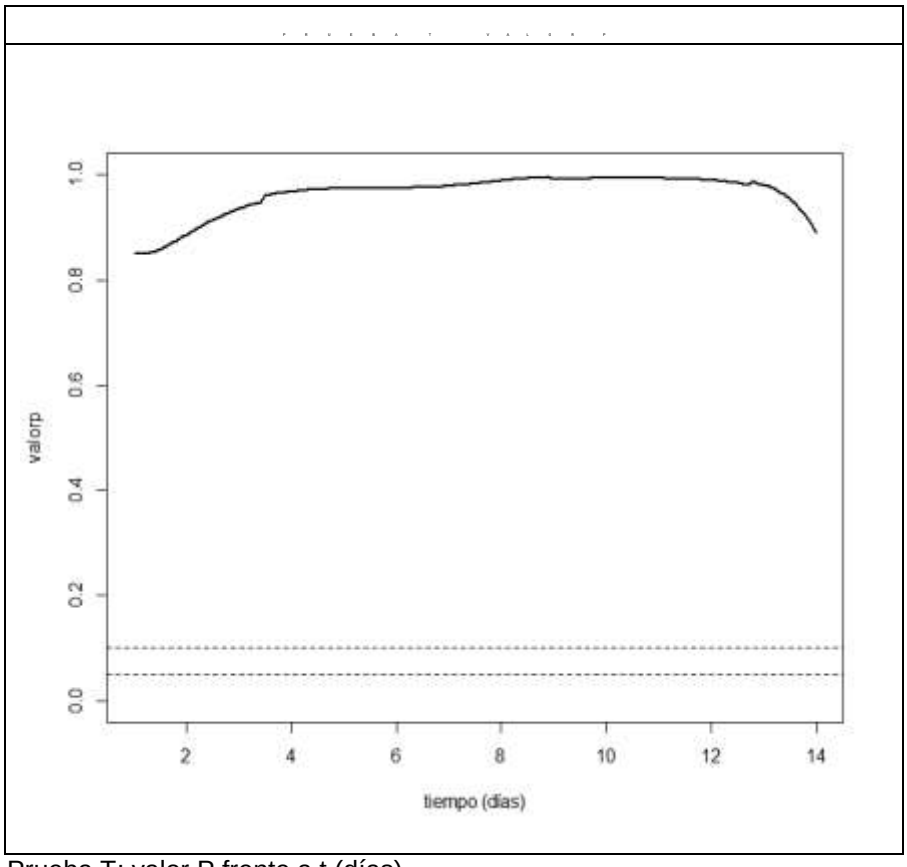


Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

GRÁFICO 3.2. PRUEBA F PARA LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES, BLANCOS)- VALOR P PARA GRADOS BRIX

La prueba F accede a evaluar si existe diferencia significativa en el aumento de los grados Brix para las papayas con los tres tipos de tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos), en el gráfico 3.2 el valor p muestra que a partir del día seis, se detecta diferencias significativas en el nivel de grados Brix para los diferentes grupos de tratamientos. Por lo tanto, algunos de los efectos es diferente de cero.

Estos resultados indican que a partir del día seis del experimento, los efectos de usar las películas comestibles con aceites esenciales incrementa considerablemente los grados Brix, en relación con los otros tratamientos (película comestible sin aceites esenciales y blancos) que mantienen más bajos los grados Brix por causa de la lenta degradación del almidón.



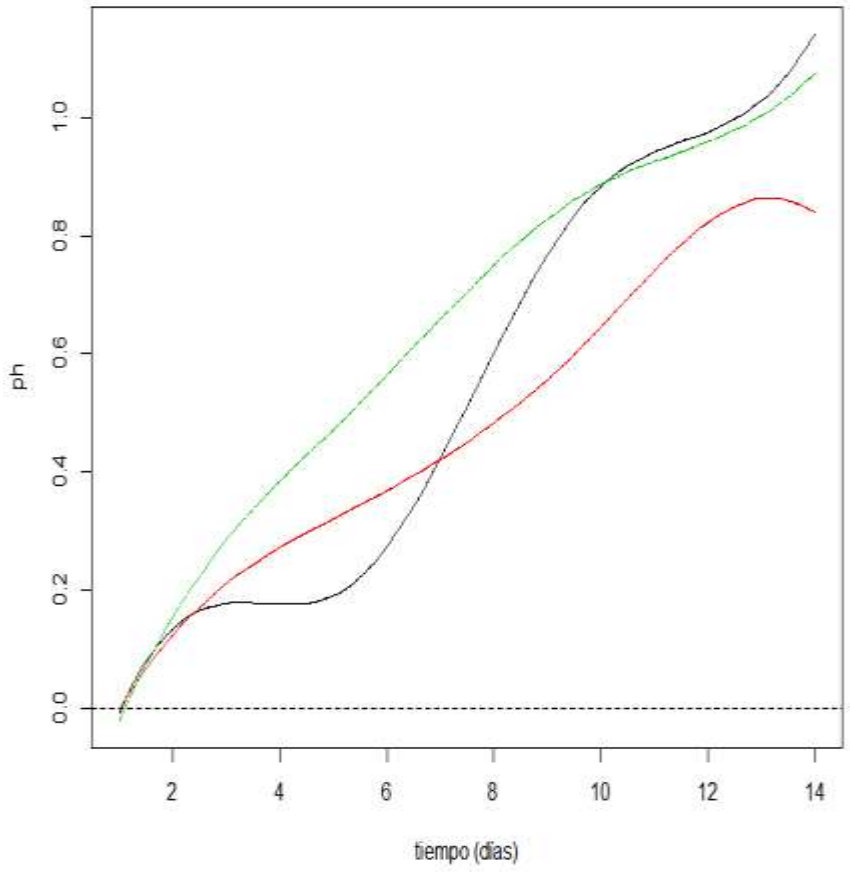
Prueba T: valor P frente a t (días)
Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.3. PRUEBA T PARA LOS DOS TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES)-VALOR P PARA GRADOS BRIX.

Para evaluar si existe diferencia significativa en el aumento de grados Brix en las papayas con los dos tipos de películas (películas comestibles con y sin aceites esenciales), se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales.

En el gráfico 3.3 se revela que el valor p es casi uno para todo el período del experimento, por lo tanto en ningún momento se rechaza la hipótesis nula, que postula que con la aplicación de aceites esenciales en las películas comestibles no se retrasa los niveles de grados Brix en las papayas. Esto indica que las películas comestibles con aceites esenciales no cumplió con la función de mantener los grados Brix por falta de una buena permeabilidad que redujera la respiración. Según un estudio sobre las propiedades físicas de las películas comestibles a base de puré de manzana y aceites esenciales realizado por Rojas-Grau, M. (2005) reportó que la permeabilidad al oxigeno de las películas comestibles aumentó a medida que se incrementaba la concentración de aceites esenciales en la formulación. Ella atribuyo este fenómeno a que la transmisión de O2 tenía lugar a través de los canales hidrofóbicos de las películas comestibles como son los aceites esenciales, dado que

las moléculas de O2 son solubles en lípidos, formando canales de difusión del O_2.



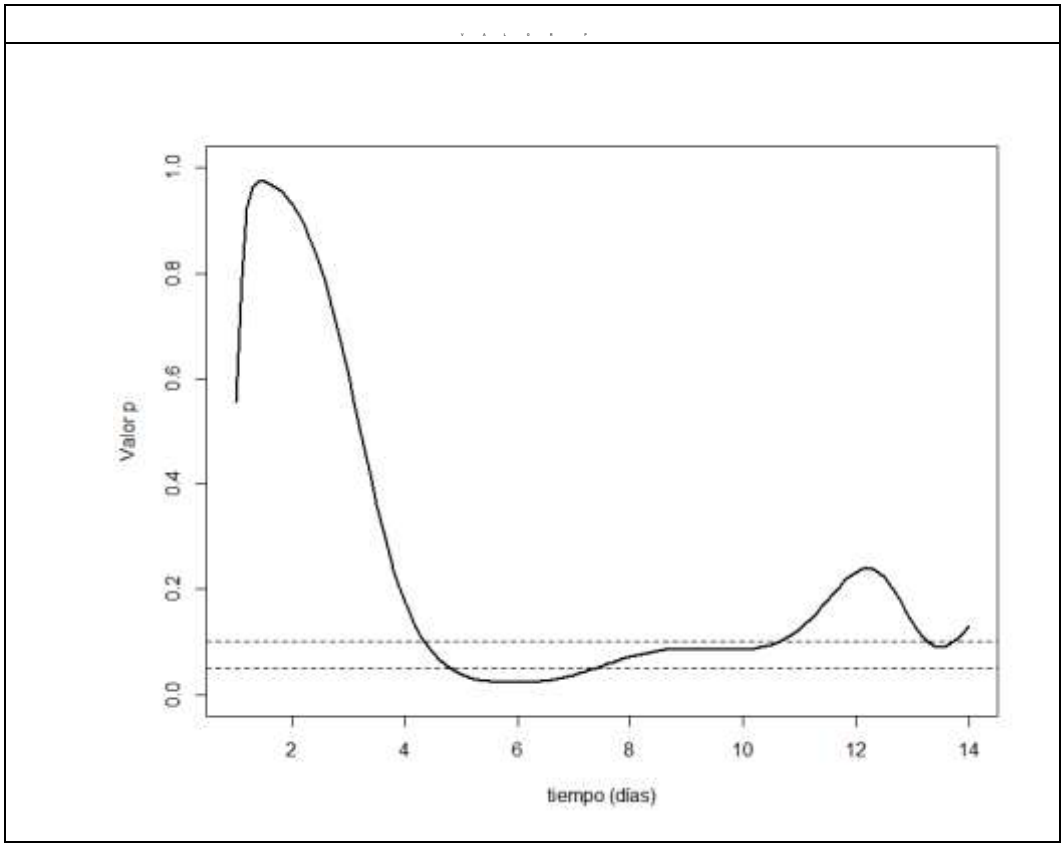
El color negro representa las papayas sin película, rojo para papayas con película sin aceites esenciales y verde para papayas con película y aceites esenciales.

Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.4. COMPORTAMIENTO DE LA GANANCIA DE PH (ALCALINO) DE LAS PAPAYAS CON LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PH VS TIEMPO).

Las funciones medias o promedios para los tres tipos de tratamientos, se muestra en el gráfico 3.4 que el uso de las películas comestibles con aceites esenciales hace que las papayas siempre sean más alcalina, donde finalmente en el día diez del experimento se ve superada por las papayas sin aplicación de películas. En general, de no usarse películas, las papayas se mantendrán más ácida hasta aproximadamente el día seis donde después de esto la ganancia de potencial hidrógeno se acelera hasta que en el día catorce haya ganado una unidad de pH. Al igual que las papayas con películas y aceites esenciales, la ganancia de pH de las papayas con películas sin aceites esenciales casi es constante y se mantiene hasta el día catorce ganando solo 0.8 unidades.

Por lo tanto se podría decir que las papayas con películas comestibles y aceites esenciales presentaron pH más alcalino, debido a que los principales ácidos orgánicos disminuyen por actividad de las hidrogenasas; ácidos que se utilizan en el proceso respiratorio y se emplean en el metabolismo del fruto (35).



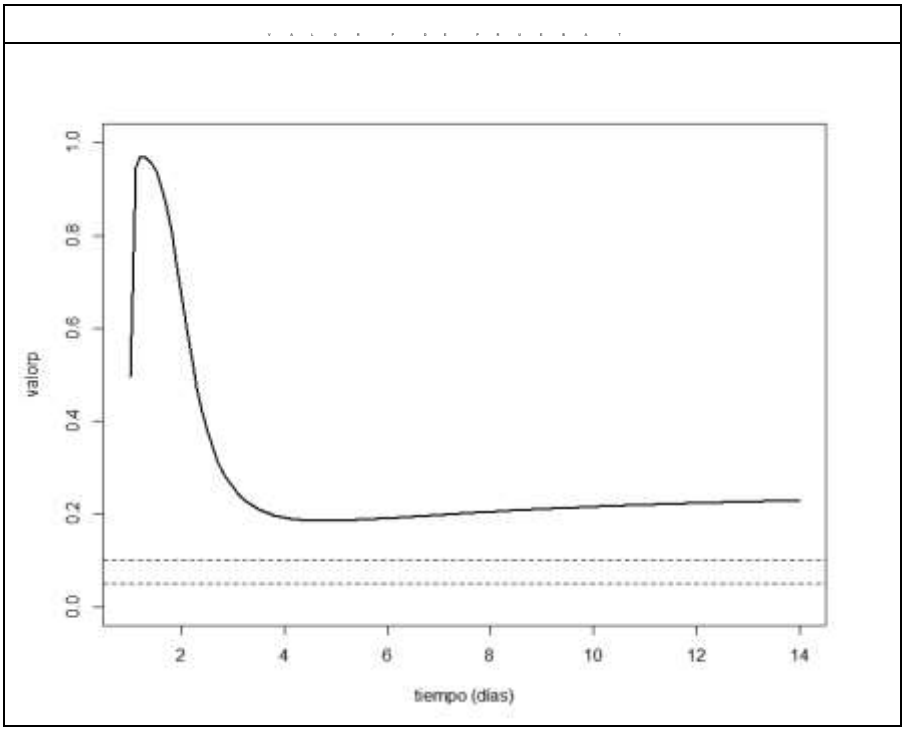
Elaborado por: Leovina Martinez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.5. PRUEBA F PARA LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES, BLANCOS)- VALOR P PARA PH

La prueba F permite conocer si existe diferencia significativa en el aumento de pH (alcalino) para las papayas con tres tipos de tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos), en el gráfico 3.5 el valor p se encuentra en zona de rechazo entre los días cinco y ocho aproximadamente, es decir, al

menos durante ese período de tiempo la aplicación de algún tipo de película es significativo.

Esto indica que entre los días donde se rechaza la hipótesis, existen valores bajos de pH (ácidos) en las papayas que tienen películas comestibles sin aceites esenciales y las papayas que no tienen tratamientos, en relación a las papayas tratadas con películas comestibles y aceites esenciales que tienen valores altos, esta alcalinidad es consecuencia de la disminución de los ácidos orgánicos durante la maduración debido a la respiración o su conversión en azúcar.



Prueba T: valor P frente a t (días)

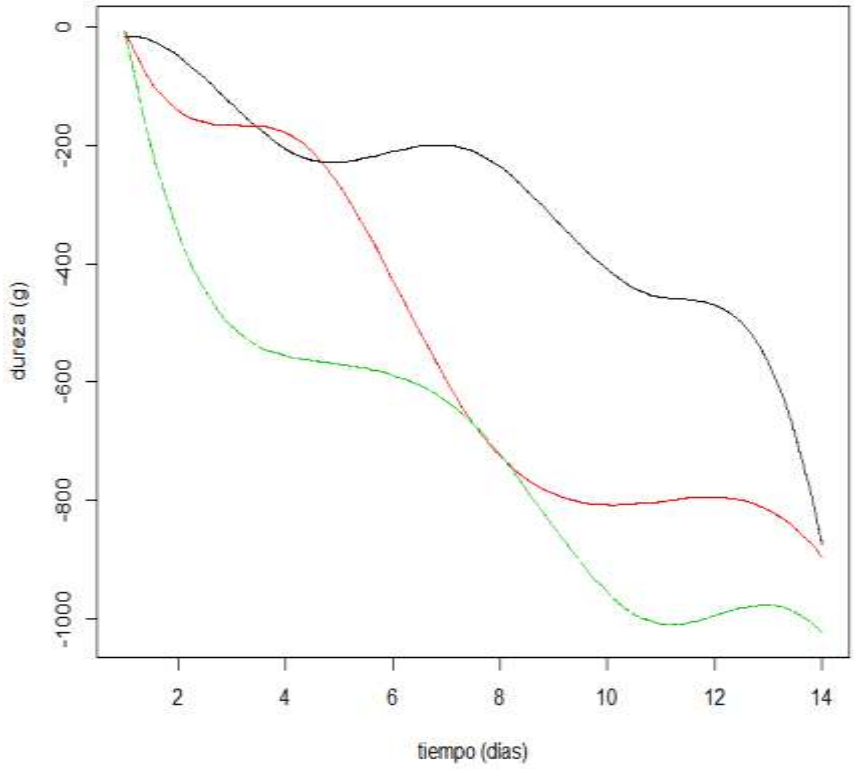
Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.6. PRUEBA T PARA LOS DOS TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES)-VALOR P PARA PH.

Con el propósito de medir si existe diferencia significativa en el aumento de pH de las papayas con los dos tipos de películas comestibles (películas comestibles con y sin aceites esenciales), se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales.

En el gráfico 3.6, el valor p siempre es mayor a 0.10 por lo que en ningún instante de tiempo se rechaza H_O, es decir el uso de los

aceites esenciales en las películas no da mejores resultados en el momento de conservar el nivel de pH en las papayas; Siendo mejor usar películas sin aceites esenciales porque demuestran valores más ácidos de pH, creando en las frutas una atmósfera interna más controlada en cuanto a conversión de ácidos orgánicos.



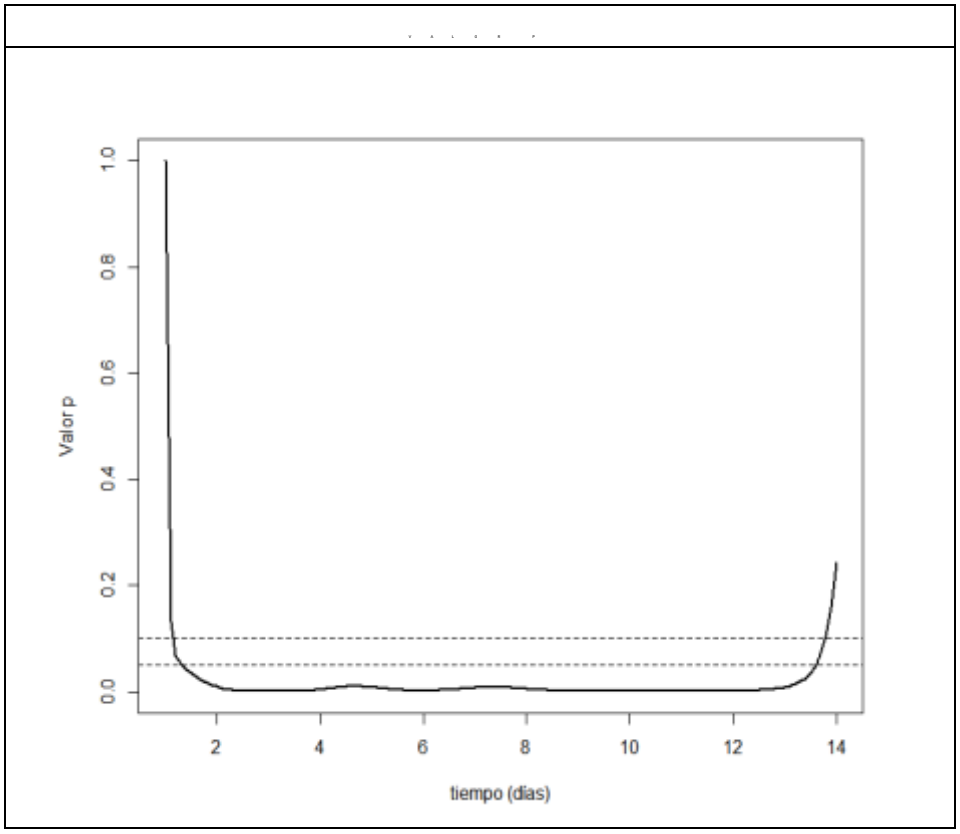
El color negro representa las papayas sin película, rojo para papayas con película sin aceites esenciales y verde para papayas con película y aceites esenciales.

Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.7. COMPORTAMIENTO DE LA PÉRDIDA DE DUREZA DE LAS PAPAYAS CON LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (DUREZA VS TIEMPO).

Por medio de las funciones promedios de los tres tipos de tratamientos es evidente en el gráfico 3.7 que al no usar películas comestibles la dureza de las papayas se mantienen aproximadamente hasta el día doce, donde después cae de tal manera que llega a tener igual efecto final que las papayas con películas sin aceites esenciales. Durante todo el período de tiempo las papayas con películas y aceites esenciales mostraron menos niveles de dureza.

El ablandamiento y pérdida de dureza que presentaron las películas comestibles con aceites esenciales en relación con los otros tratamientos, se debe a la degradación de los componentes de la pared celular, principalmente de sustancias celulósicas pecticas y ácidos poligalacturónicos, debido a la acción de enzimas específicas (36).



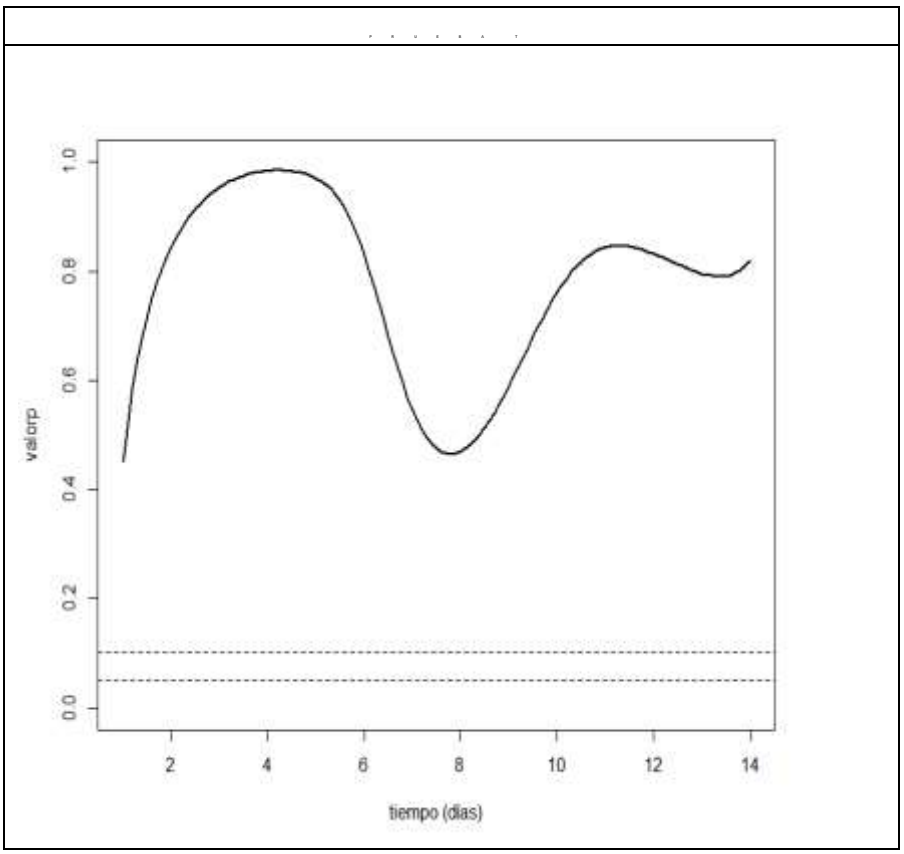
Elaborado por : Leovina Martinez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.8. PRUEBA F PARA LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES, BLANCOS)- VALOR P PARA DUREZA

La prueba F permite evaluar si existe diferencia significativa en la disminución de la dureza para las papayas con tres tipos de tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos), en el gráfico 3.8 da evidencia que para casi todo el experimento existe diferencias significativas entre tratamientos, desde el día dos hasta el día trece.

Los valores bajos de dureza obtenidos por los frutos con películas comestibles con y sin aceites esenciales en relación con los blancos, se debe al aumento de la actividad enzimática que degradan la pared celular.

Las papayas sin tratamientos presentaron valores más altos de dureza que las papayas con películas comestibles, lo cual pudo haber sido generado en cierta medida por el menor tiempo de manipulación de las papayas. Por otro lado las papayas con películas comestibles tuvieron más tiempo de manipulación, pasaron por la desinfección inicial que elimina la carga microbiana inicial, aplicación de las películas y secado después de aplicar las películas.



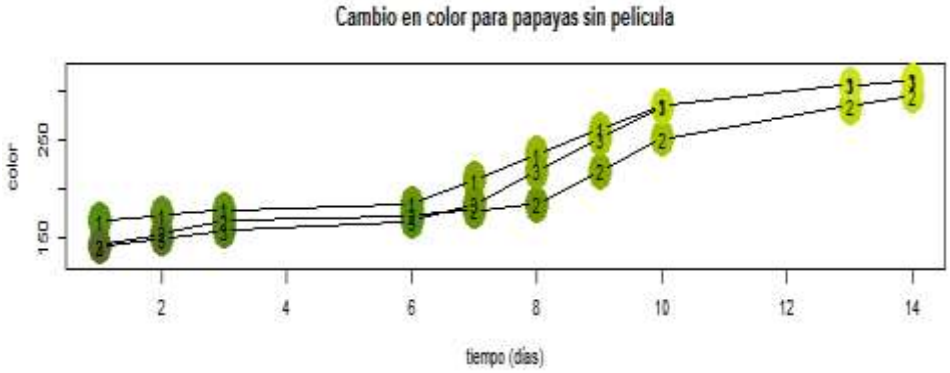
Prueba T: valor P frente a t (días)

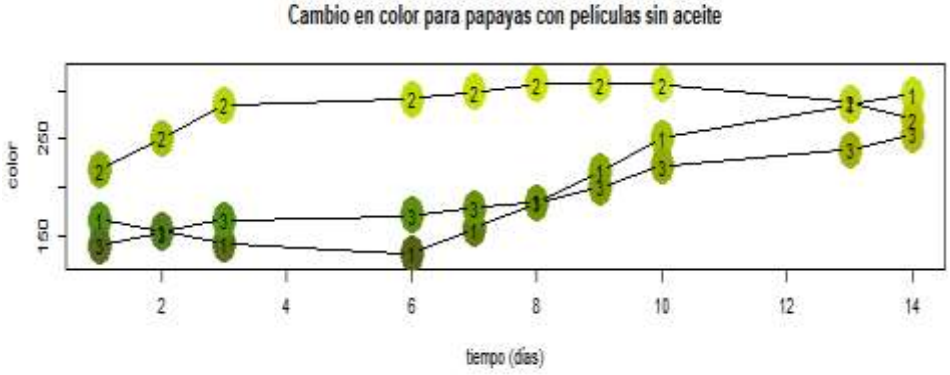
Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

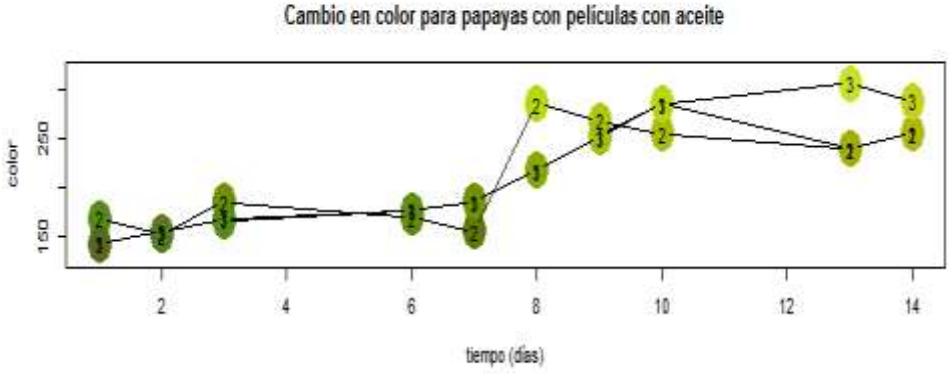
GRÁFICO 3.9. PRUEBA T PARA LOS DOS TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES)-VALOR P PARA DUREZA.

Con el fin de evaluar si existe una diferencia significativa en la disminución de dureza en las papayas con los dos tipos de películas comestibles (películas comestibles con y sin aceites esenciales), se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales.

En el gráfico 3.9 se muestra que el valor p es mayor a 0.4 para todo el período del experimento por lo que en ningún momento se rechaza la hipótesis nula, que postula que la aplicación de aceites esenciales en las películas comestibles no mejora los niveles de dureza en las papayas, motivo por el cual se puede decir que es mejor usar películas sin aceites esenciales porque genera menos cambios en la estructura y composición de las paredes celulares que involucra el ablandamiento de las frutas.





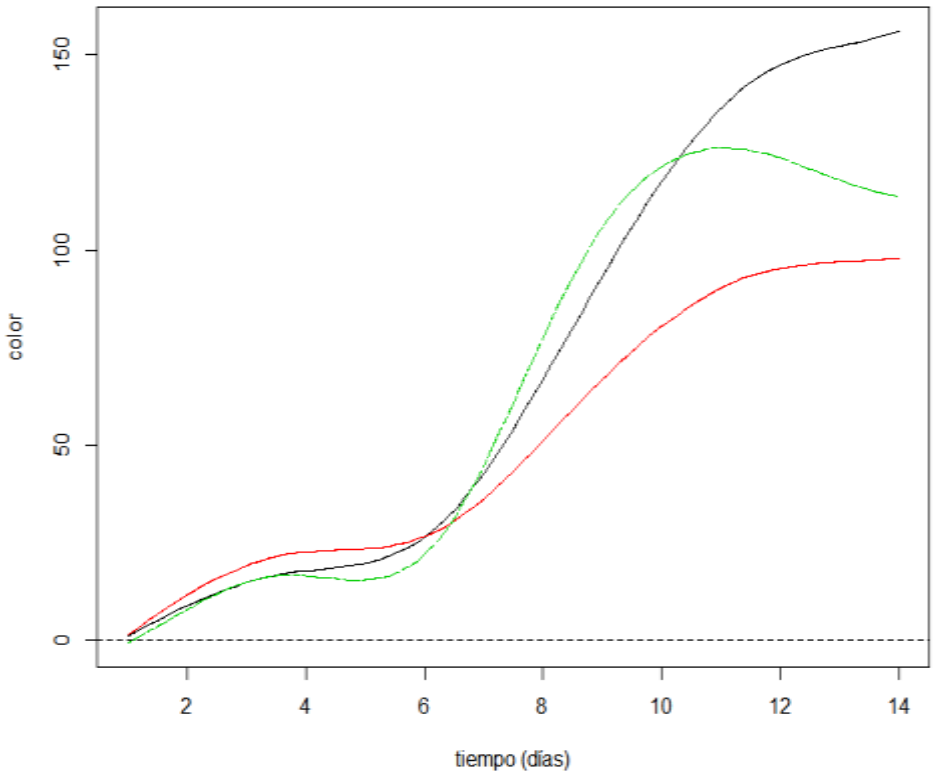


Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.10. REPRESENTACIÓN DE LA CANTIDAD DE COLOR

En el gráfico 3.10 se puede apreciar los cambios de color que se produce en las papayas con los diferentes tipos de tratamiento. En

síntesis, se podría decir que los tratamientos de películas sin aceites esenciales y los que no tienen películas son los que han sufrido menos cambios en la coloración de los frutos, retardando así un elemento de la maduración como es color.



El color negro representa las papayas sin película, rojo para papayas con película sin aceites esenciales y verde para papayas con película y aceites esenciales.

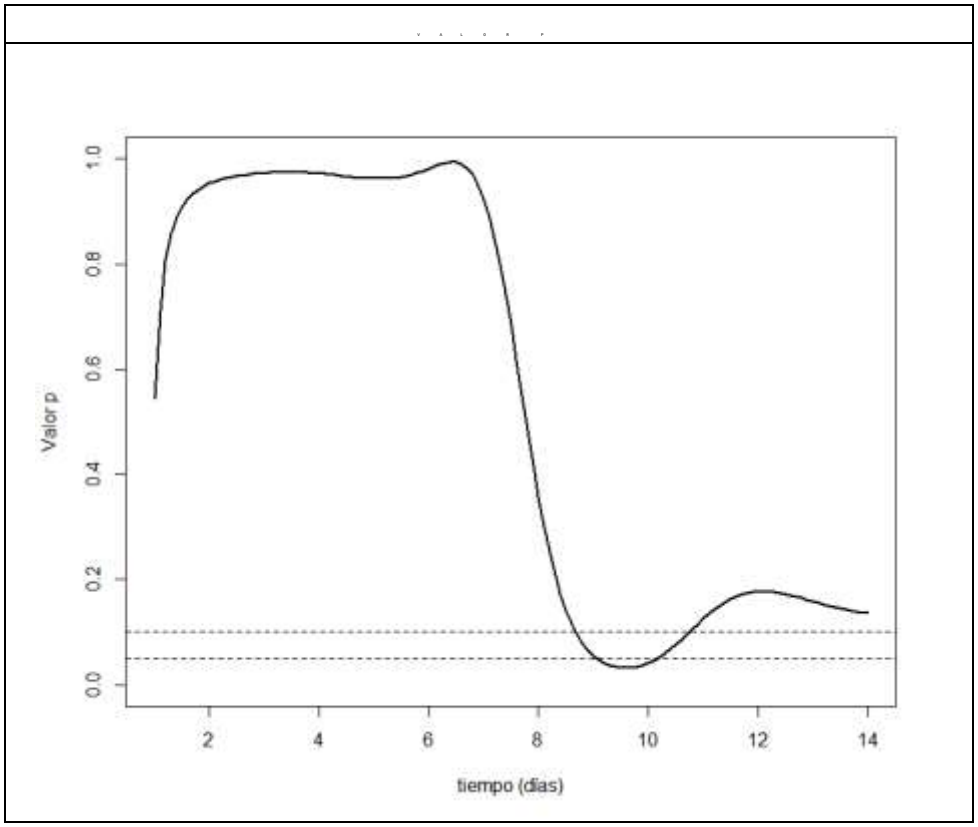
Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.11. COMPORTAMIENTO DE LA GANANCIA DE COLOR DE LAS PAPAYAS CON LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (COLOR VS TIEMPO).

En el gráfico 3.11, se puede notar que el color promedio de las papayas para los tres diferentes tratamientos no difieren en gran manera su valor, sino desde el séptimo día del experimento. A partir de esto la aplicación de las películas sin aceites esenciales produce menos cambio en el color de las papayas.

Transcurrido el séptimo día todas las papayas ganan color amarillo, pero a medida que transcurre el tiempo existe un aumento de color considerable solo en los tratamientos de papayas con películas comestibles y aceites esenciales y papayas sin tratamiento.

La manifestación del color amarillo durante la maduración del fruto de papaya, está relacionada con cambios en el contenido de pigmentos, principalmente por la degradación de la clorofila, como consecuencia de procesos oxidativos, así como por la síntesis, desenmascaramiento y predominancia de otros pigmentos como los rojos y amarillos (37).



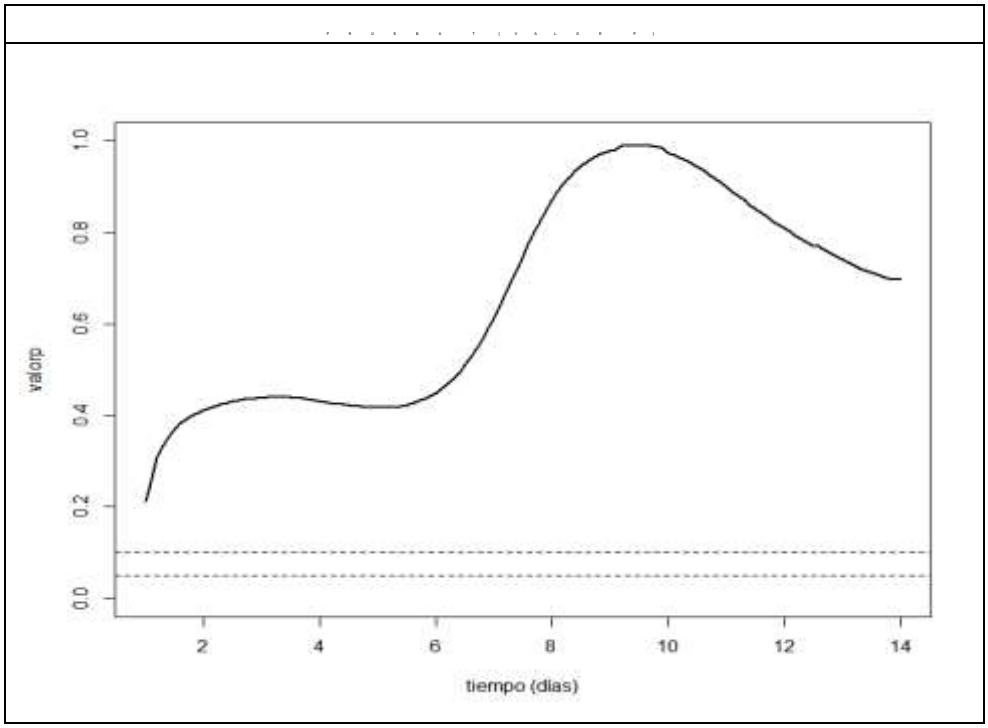
Elaborado por : Leovina Martinez y Meily Ponce (2012)

GRÁFICO 3.12. PRUEBA F PARA LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES, BLANCOS)- VALOR P PARA COLOR

La prueba F nos permite saber si existe diferencia significativa en el aumento del color para las papayas con tres tipos de tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos), en el gráfico 3.12, se observa que únicamente entre los días nueve y diez del experimento, la diferencia de color en las papayas de todos los tratamientos se puede considerar significativa.

Por lo anterior se puede decir que en el transcurso de esos días del experimento hubo un aumento en la coloración (amarillo) en las papayas tratadas con películas comestibles y aceites esenciales, y las papayas sin tratamientos. Este comportamiento nos indica la descomposición de la clorofila, de modo que quedan al descubierto otros colorantes.

Por otro lado las papayas con películas comestibles sin aceites esenciales no sufrieron mucho cambio de coloración.

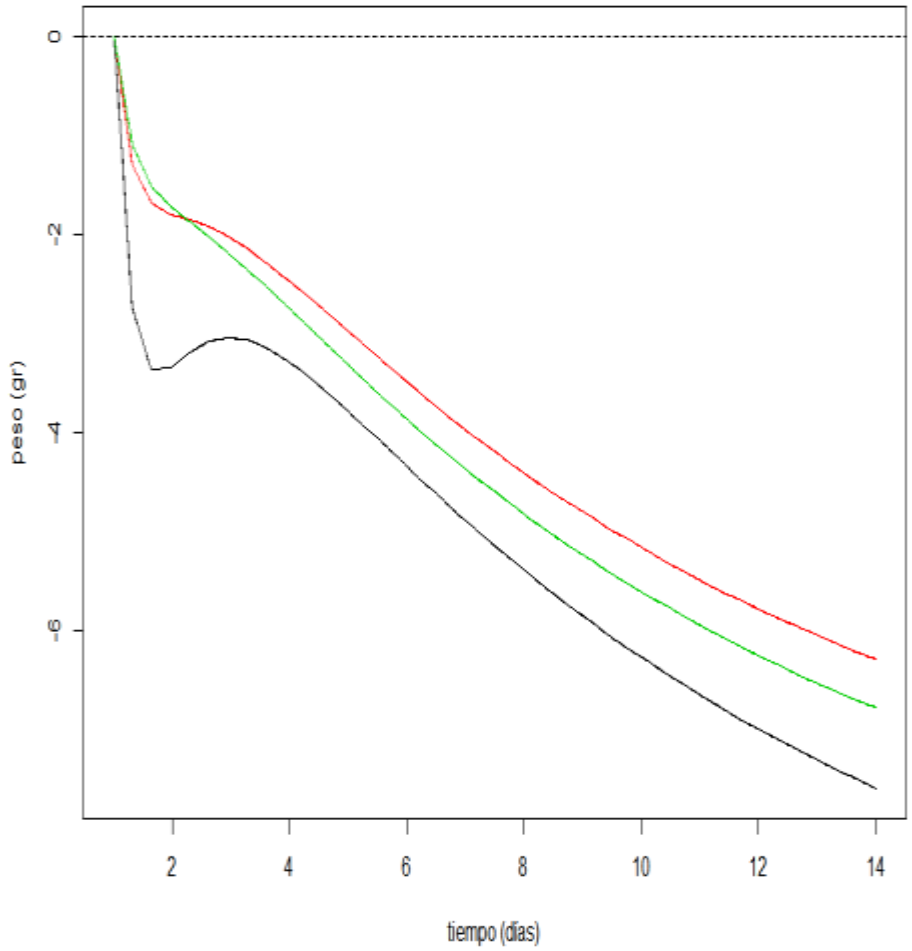


Prueba T: valor P frente a t (días)
Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.13. PRUEBA T PARA LOS DOS TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES)-VALOR P PARA COLOR

Con la intención de evaluar si existe diferencia significativa en el aumento de color en las papayas con los dos tipos de películas comestibles (películas comestibles con y sin aceites esenciales), se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales.

En el gráfico 3.13, muestra que valor p es mayor a 0.1 para todo el experimento, por lo que se puede concluir que en ningún período del ensayo la aplicación de los aceites esenciales en las películas tiene un efecto positivo significativo sobre el color de la papaya, motivo por el cual se indica que usar películas con aceites esenciales no favorece el mantenimiento del color en las papayas debido a la falta de una atmosfera modificada alrededor del producto.

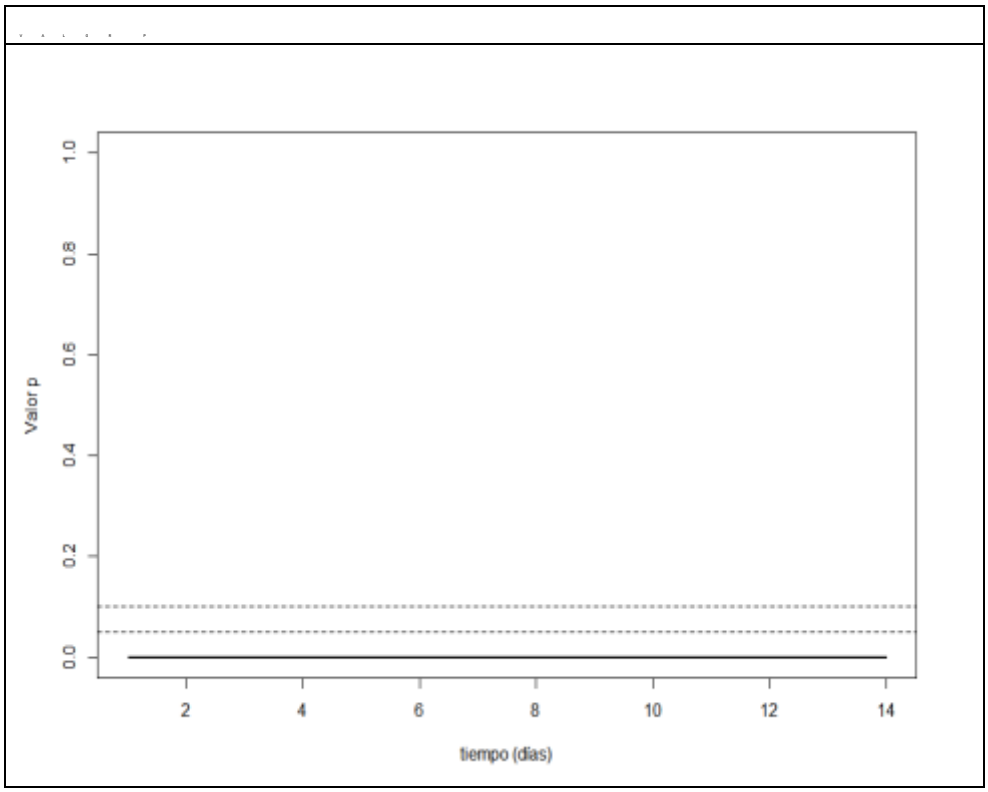


El color negro representa las papayas sin película, rojo para papayas con película sin aceites esenciales y verde para papayas con película y aceites esenciales.

Elaborado por Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

GRÁFICO 3.14. COMPORTAMIENTO DE LA PÉRDIDA DE PESO DE LAS PAPAYAS CON LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PESO VS TIEMPO).

En las funciones de pérdidas de peso promedio para los tres diferentes tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos) en el gráfico 3.14, se observan que en promedio durante el primer día, el uso de aceites esenciales en la película no impresiona, mientras que transcurre el tiempo la diferencia comienza a crecer, en el día dos se puede ver una gran diferencia de pérdida de peso entre las muestras de las papayas con tratamientos y las que no llevan tratamientos. La pérdida de peso para las papayas sin tratamientos es consecuencia del estrés que sufre las papayas durante la manipulación y cambio de temperatura al comenzar el experimento. En el lapso de todo el experimento también se puede notar que la pérdida de peso en las papayas sin tratamientos, fue siempre mayor.



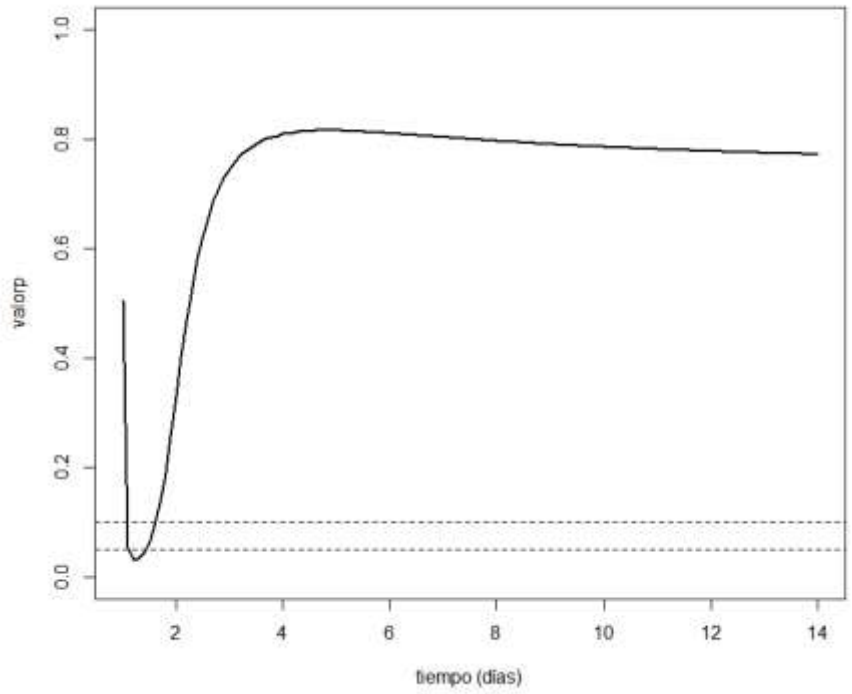
Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012)

GRÁFICO 3.15. PRUEBA F PARA LOS TRES TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES, BLANCOS)- VALOR P PARA PESO

La prueba F permite evaluar si existe diferencia significativa en la disminución del peso para las papayas con tres tipos de tratamientos (películas comestibles con y sin aceites esenciales, y blancos), en el gráfico 3.15 muestra que valor p es siempre cero por lo que en todo momento al menos uno de los tratamientos es significativamente diferente al resto. Esto es igual a decir que se

rechaza la hipótesis nula, que postula que los efectos de usar algún tipo de tratamiento son nulos.

La mayor pérdida de peso exponen las papayas sin tratamientos con respectos a los otros (película con o sin aceites esenciales) durante el experimento. Las pérdidas de peso en las frutas y vegetales frescos se debe principalmente a la pérdida de agua, resultado de sus procesos de transpiración y respiración (38).



Prueba T: valor P frente a t (días)
Elaborado por: Leovina Martínez y Meily Ponce (2012).

GRÁFICO 3.16. PRUEBA T PARA LOS DOS TIPOS DE TRATAMIENTOS (PELÍCULAS COMESTIBLES CON Y SIN ACEITES ESENCIALES)-VALOR P PARA PESO.

Con el fin de evaluar si existe diferencia significativa en la disminución del peso en las papayas con los dos tipos de películas comestibles (películas comestibles con y sin aceites esenciales), se utilizó el estadístico de prueba T de student funcional para diferencia de medias, suponiendo que las varianzas son desiguales.

En el gráfico 3.16 muestra que el valor p es menor a 0.05 entre el primer y segundo día del experimento, por lo que solamente ahí se podría considerar que las películas con aceites esenciales es mejor que la que no tiene aceites. Esto es evidencia de que las películas comestibles sin aceites esenciales es la que minimiza la pérdida de peso en las papayas durante ese ciclo de tiempo.

El comportamiento mencionado en el párrafo anterior, se debió a que en ese periodo de tiempo las papayas presentaron cambios de temperatura interna que generó un incremento en la transpiración que permitió el paso del vapor de agua, siendo menos afectadas las papayas con películas comestibles y aceites esenciales, debido que ofreció una buena barrera a la transferencia de vapor de agua.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

1. Los factores postcosecha que más influencia tienen en el deterioro de productos vegetales son la temperatura, la humedad relativa, la composición de la atmósfera que los rodea (sobre todo las concentraciones de CO2, O2 y etileno), la luz y los microorganismos oportunistas que penetran en tejidos debilitados por daños mecánicos.

2. Como uno de los factores de postcosecha que más influencia tiene sobre el deterioró son los microorganismos, causantes de enfermedades en frutas, los hongos son los que más presentan variación morfológica, patogénica y amplia adaptación ambiental; por

lo cual tienen la capacidad de atacar a los cultivos en sus diferentes etapas de desarrollo.

3. La toma de las muestras de papayas infectadas, se realizó dentro de uno de los mercados de la ciudad de Guayaquil, para obtener los hongos más comunes que producen enfermedades postcosecha en los cultivos.

4. Durante la obtención de los hongos, se notó que los más comunes en las muestras de papayas infectadas fueron: Thanatephorus donk, Rhizopus stolonifer y Aspergillus niger. La mayor cantidad de cajas petri contenían los hongos Thanatephorus donk, seguido por Rhizopus stolonifer y al final Aspergillus niger.

5. Las características macroscópicas son diferentes para los tres hongos; en cuanto al color de la colonia para Thanatephorus donk va de marrón oscuro a negro, Rhizopus de blanco a canela y Aspergillus niger de blanco amarillento a negro, y en textura los hongos Thanatephorus es lanoso, Rhizopus es de aspecto granuloso a algodonoso y Aspergillus niger polvoriento y lanoso.

6. En las características microscópicas en los hongos Aspergillus niger y Rhizopus stolonifer se puede distinguir alguna similitud a simple

vista, pero en realidad son diferentes; Aspergillus niger presenta en la cabeza conidial una vesícula rodeada por una corona de fiálides que contienen las esporas, en cambio las esporas del Rhizopus stolonifer están dentro del esporangio, otra diferencia entre estos hongos es que el Aspergillus niger presenta célula pie al final del conidióforo y el otro hongo tiene rizoides.

7. En los resultados de índice de severidad y porcentaje de infección las mejores opciones fueron 0.08% de clavo de olor y canela, pero se seleccionó las concentraciones de 0.04% de clavo de olor y 0.06% de canela para la película comestible, ya que no presentaron problemas de desprendimiento como las otras concentraciones mencionadas.

8. Para la diferenciación de las propiedades físicas, en las películas comestibles con aceites esenciales se obtuvieron valores bajos de viscosidad, este comportamiento se atribuye a la adsorción de las gotas de los aceites esenciales en la superficie del polímero lo que provoca una disminución de la concentración de la fase acuosa de la solución, el contenido de humedad es menor en las películas comestibles con aceites esenciales, la presencia de los aceites esenciales causa la formación de enlaces covalentes entre los

grupos funcionales del almidón, dando lugar a una disminución en la disponibilidad de los grupos hidroxilo, por lo tanto limita las interacciones del agua por enlaces de hidrógeno, lo cual resulta en una disminución del valor de contenido de humedad, el menor trabajo de dureza terminado lo obtuvieron las películas con aceites esenciales**,** este comportamiento se consideró como consecuencia de una fuerte interacción entre el polímero y los aceites esenciales que produjo un efecto de reticulación, lo que disminuyó el volumen libre y la movilidad molecular del polímero .

9. Se puede decir que las películas comestibles con aceites esenciales fueron las que mostraron más cambios en grados Brix, pH, color en el transcurso del experimento, este comportamiento tiene que ver con la falta de una barrera para el oxígeno, ya que gracias a la respiración de los frutos (consumo el oxígeno) se producen todos procesos metabólicos que conllevan a los cambios de los parámetros antes mencionados. Se asumió que la transmisión de O2 tenía lugar a través de los canales hidrofóbicos de las películas comestibles como son los aceites esenciales, dado que las moléculas de O2 son solubles en lípidos, formando canales de difusión del O_2.

10. Las papayas con películas comestibles sin aceites esenciales fueron las que presentaron menos cambio en grados Brix, pH, color en el

transcurso del experimento. Este tratamiento ofreció una buena permeabilidad retardando los procesos metabólicos.

11. Las películas comestibles con y sin aceites esenciales no mantuvieron la dureza de las papayas, por otro lado las papayas sin tratamientos son las que más dureza ofrecieron. Esta situación es creada porque las papayas sin tratamientos sufrieron menos manipulación que las papayas tratadas (eliminación de la carga microbiana inicial, al aplicar las películas comestibles y secado de las mismas)

12. En cuanto a las pérdidas de peso se obtuvieron mejores resultados en las papayas con películas comestibles sin aceites esenciales, lo cual implica que ofreció una buena barrera a la humedad. Por otro lado, las papayas con películas comestibles y aceites esenciales ofrecieron menos pérdida de peso que los otros tratamientos en el día dos, debido que las papayas presentaron menos cambios de temperatura interna que generó una disminución en la transpiración, ofreciendo así una buena barrera a la transferencia de vapor de agua.

En futuras investigaciones sobre el tema se sugiere:

1. Probar otras concentraciones de clavo de olor y canela en la formulación de las películas comestibles y estudiar el efecto antimicrobiano de otros aceites esenciales.

2. Determinar la propiedad de barrera contra el oxígeno, en este tipo de materiales, ya que éste gas está involucrado en muchas reacciones degenerativas.

3. Estudiar las propiedades de barrera al vapor de agua (TVA), para esta formulación de películas comestibles.

4. Evaluar la aplicación de los recubrimientos estudiados, en algunos otros frutos.

APÉNDICES

APÉNDICE A

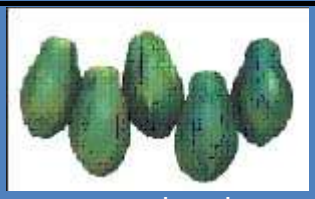
ELABORACIÓN DEL AGAR PDA

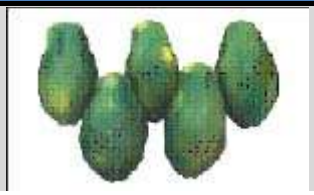
Se colocaron 39 gr. de PDA que se lo disolvió en 1 lt. de agua destilada se agitó manualmente y se tapó con algodón y papel aluminio para luego ser colocado en el autoclave para su respectiva esterilización a 15 libras de presión por un período de 20 minutos.

APENDICE B

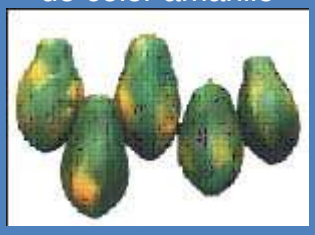
ÍNDICE DE MADURACIÓN DE LA PAPAYA

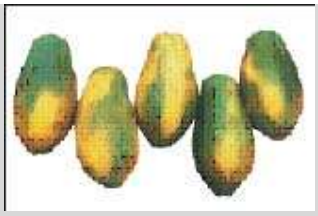
Papaya verde madura



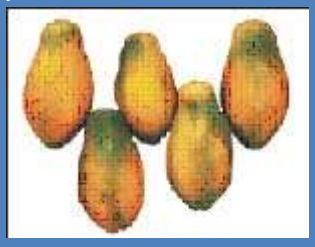


Papaya con aproximadamente 40% de color amarillo





Papaya con 90-100 % de color amarillo.



APÉNDICE C

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción
Carrera de Ingeniería Agropecuaria
R. Carlos Burbano V.

PRÁCTICA # 6
EMPLEO DEL HEMACITÓMETRO

INTRODUCCIÓN

El hemacitómetro se usa de forma ordinaria para determinar la concentración de esporas en una suspensión.

El hemacitómetro Neubauer (modelo mejorado) es una pieza de vidrio con forma de H en el centro que forma dos áreas de conteo. Tiene alto relieves que mantienen el cubreobjetos a la distancia adecuada arriba de estas áreas. El cubreobjetos y la plataforma de conteo están pulidos. El pulido del cubreobjetos asegura el contacto de sus superficies con los altos relieves de la porta objeto especial.

La cámara de conteo debe limpiarse con agua, alcohol o jabón suave y se seca con papel de seda o con un paño suave, seco y limpio.

El retículo consiste de 9 mm2. Las líneas tributarias del hemacitómetro son las líneas centrales de los grupos de tres. El mm2 del centro está dividido en 25 grupos de 16 cuadros pequeños, cada grupo separado de líneas triples, la central es tributaria. La superficie reticular se encuentra a 0,1mm debajo del cubreobjetos, así que el volumen del líquido sobre 1mm2 es 0.1mm3.

OBJETIVO.

Familiarizar al estudiante con los componentes del hemacitómetro y la determinación de concentraciones de esporas grandes y pequeñas en trabajos rutinarios de inoculaciones.

MATERIALES.

1. Coloque el cubreobjetos limpio sobre la cámara de conteo de forma tal que llegue a estar en contacto con los altos –relieves de la cámara.

2. Utilizando la pipeta deposite 1 gota de la suspensión de esporas en el margen del cubre objetos. (La gota se desplazara rápidamente entre el cubre objetos y el portaobjetos).
3. Mantenga en reposo durante 1 a 2 minutos. (Las esporas suspendidas se asentarán sobre la superficie reticulada del portaobjetos).
4. Monte el hemacitómetro en el microscopio.
5. Compruebe que las esporas se encuentran uniformemente distribuidas en todo el campo visual. (En caso de que la distribución de las esporas en el campo no sea uniforme se debe repetir el procedimiento utilizando Tween 80 (0.02%) o cualquier otro dispersante añadido a la suspensión de esporas).
6. Realice el conteo de esporas en el hemacitómetro considerando los siguientes puntos:

    a) Las esporas pequeñas se cuentan en el mm^2 central que está dividido en 25 grupos que contienen 16 cuadros pequeños cada uno. Se cuentan las esporas que se encuentran en los 4 grupos de las esquinas y del grupo central. (Total 5 grupos).

    b) Las esporas grandes se cuentan en los 4 cuadrantes principales de las esquinas. (Total 4 cuadrantes).

7. Calcule la concentración de la suspensión de esporas considerando las siguientes observaciones:

Para concentración de células pequeñas (esporas/ml):

Esporas/ ml solución = # de esporas en los 5 grupos /5 *50000*1/factor de dilución*ml de solución.

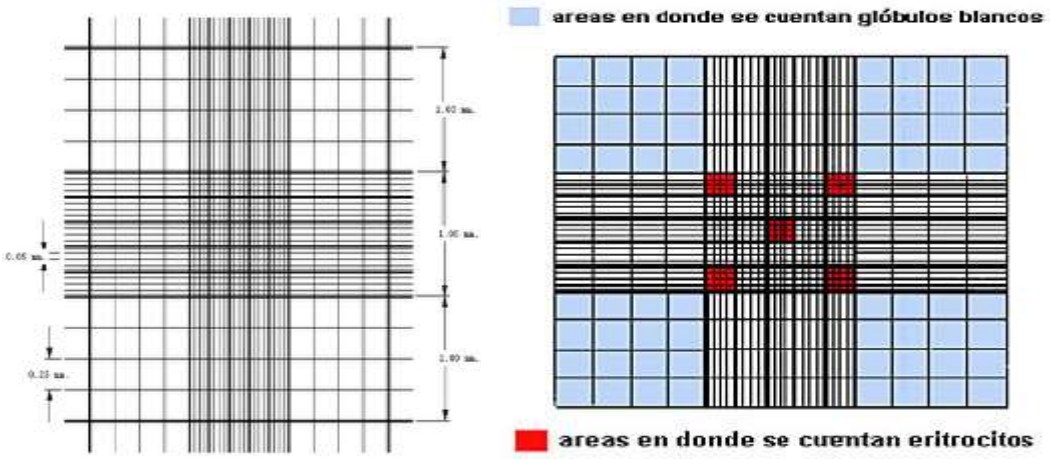
Para concentración de células grandes (esporas/ml):

Esporas/ ml solución = # de esporas en los 4 grupos /4 *10000*1/factor de dilución*ml de solución.

Explicación

La cámara de Neubauer es una cámara de contaje adaptada al microscopio de campo claro o al contraste de fases. Se trata de un porta objeto con una depresión en el centro, en el fondo de la cual se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadricula como

la que se ve en la imagen. Es un cuadrado de 3x3 mm con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25mm. Así pues el área sombreada y marcada L corresponde a 1 milímetro cuadrado. La depresión central del cubre objeto está hundida 0.1 mm respecto a la superficie, de forma que cuando se cubre con un cubre objeto éste dista de la superficie marcada 0.1 milímetro y el volumen comprendido entre la superficie L y el cubre objeto es de 0.1 milímetro cubico, es decir 0.1 micro litro.



Redacte su reporte.

ACTIVIDADES COMPLEMENTARIAS

Reduzca matemáticamente (de forma detallada y clara) las formulas empleadas para calculas la concentración de esporas en suspensiones de esporas grandes y pequeñas.

Indique que formula emplearía para calcular la concentración de una suspensión de esporas de:
Alternaria sp.
Aspergillus sp.
Penicillum sp.

Conteste:

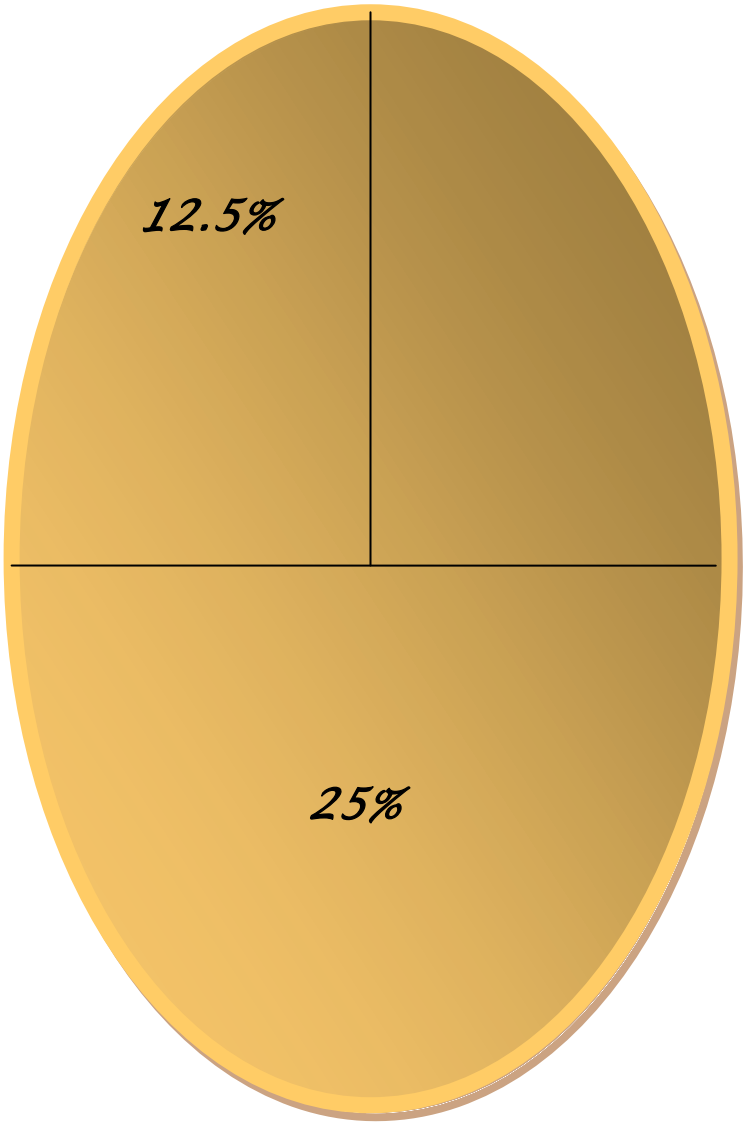
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL
Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción
Carrera de Ingeniería Agropecuaria
R. Carlos Burbano V.

¿Cuál es la importancia de conocer la concentración de una suspensión de esporas en la preparación de biofertilizantes o biopreparados para el control biológico de plagas y/o enfermedades?

Bibliografía.

-Agrios, G. 1995. Fitopatología. Segunda edición. Grupo noriega editores.
Castaño, Jairo. 1996. Prácticas de laboratorio de fitopatología. Dpto. de Protección vegetal –E.A.P. El Zamorano. 45p
-Ferrera R.; Gonzales, M. 1998. Manual de Agromicrobiologia. Editorial Trillas.
-Madigan, M.; Martinko, J y Parker, J. 2004. Biología de los Microorganismos. Decima Edición.
-Moeller, G. y Ferat, C. 1992. Microbiología Sanitaria (Manual de prácticas).
Facultad de Ingeniería. División de estudios de Postgrados. Universidad Nacional Autónoma de México.
-Rodríguez M. 1991. Manual de Identificación de Bacterias Fitopatologías.
Universidad Autónoma de Chapingo.
-Villee, C.; Martín, Ch., Berg, L. y Davis, P. 1992. Biología. Segunda edición.
Interamericano-McGraw Hill.

APÉNDICE D.



CARA FRONTAL DE LA PAPAYA

Mitad longitudinal de la papaya (cara frontal) 50%, la mitad de la cara representa el 25% y por último se parte en 12.5%.

APÉNDICE E

PANTONE® Color Specifier

PANTONE® 100 U | PANTONE® 100 U | PANTONE® 100 U | PANTONE® 100 U | PANTONE® 100 U | PANTONE® 100 U

PANTONE® 101 U | PANTONE® 101 U | PANTONE® 101 U | PANTONE® 101 U | PANTONE® 101 U | PANTONE® 101 U

PANTONE® 102 U | PANTONE® 102 U | PANTONE® 102 U | PANTONE® 102 U | PANTONE® 102 U | PANTONE® 102 U

PANTONE® Yellow U | PANTONE® Yellow U | PANTONE® Yellow U | PANTONE® Yellow U | PANTONE® Yellow U | PANTONE® Yellow U

PANTONE® 103 U | PANTONE® 103 U | PANTONE® 103 U | PANTONE® 103 U | PANTONE® 103 U | PANTONE® 103 U

PANTONE® 104 U | PANTONE® 104 U | PANTONE® 104 U | PANTONE® 104 U | PANTONE® 104 U | PANTONE® 104 U

PANTONE® 105 U | PANTONE® 105 U | PANTONE® 105 U | PANTONE® 105 U | PANTONE® 105 U | PANTONE® 105 U

2 U

PANTONE® Color Specifier

PANTONE® 358 U | PANTONE® 358 U | PANTONE® 358 U | PANTONE® 358 U | PANTONE® 358 U | PANTONE® 358 U

PANTONE® 359 U | PANTONE® 359 U | PANTONE® 359 U | PANTONE® 359 U | PANTONE® 359 U | PANTONE® 359 U

PANTONE® 360 U | PANTONE® 360 U | PANTONE® 360 U | PANTONE® 360 U | PANTONE® 360 U | PANTONE® 360 U

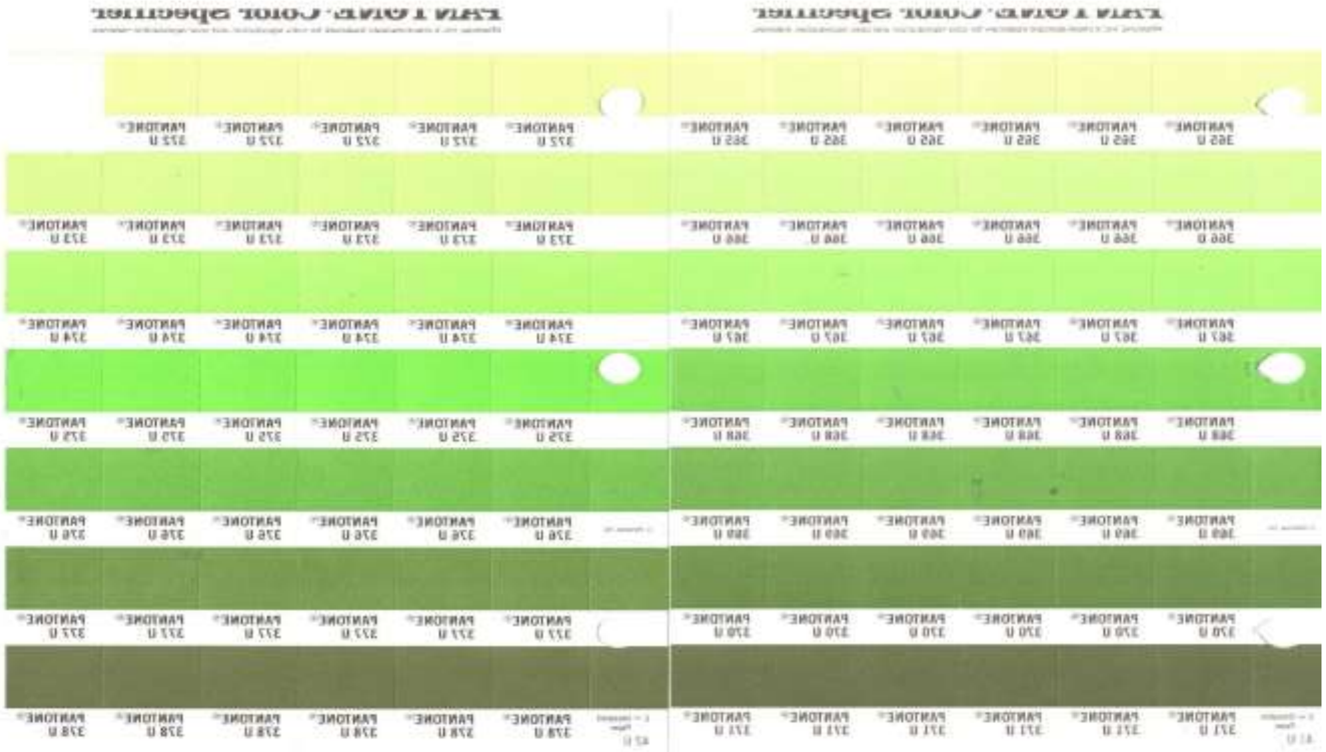
PANTONE® 361 U | PANTONE® 361 U | PANTONE® 361 U

PANTONE® 362 U | PANTONE® 362 U | PANTONE® 362 U | PANTONE® 362 U | PANTONE® 362 U | PANTONE® 362 U

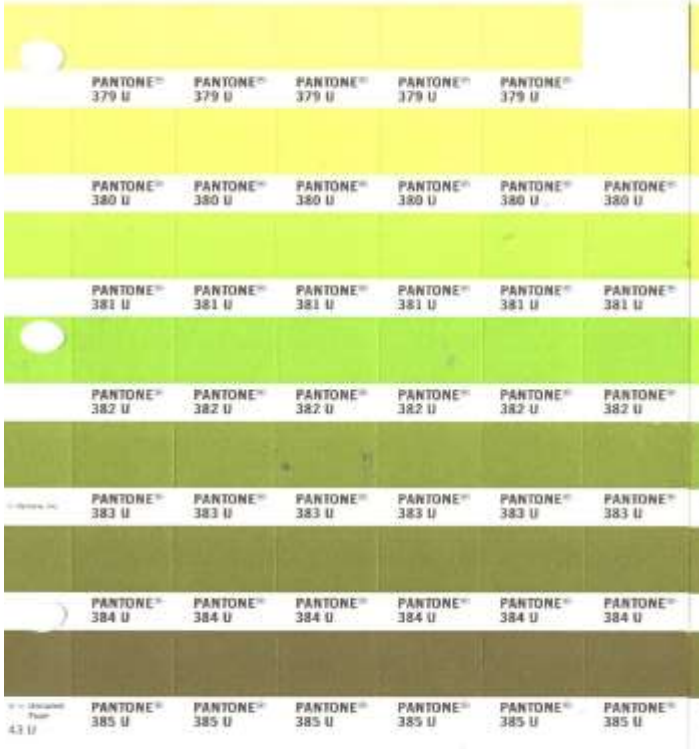
PANTONE® 363 U | PANTONE® 363 U | PANTONE® 363 U | PANTONE® 363 U | PANTONE® 363 U | PANTONE® 363 U

PANTONE® 364 U | PANTONE® 364 U | PANTONE® 364 U | PANTONE® 364 U | PANTONE® 364 U | PANTONE® 364 U

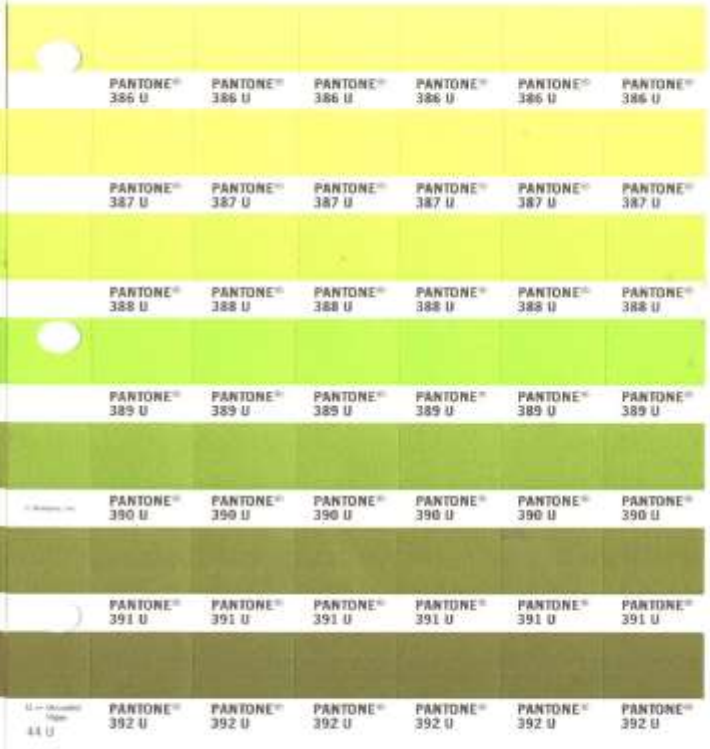
40 U


PANTONE Color Specifier
PANTONE 365 U
PANTONE 366 U
PANTONE 367 U
PANTONE 368 U
PANTONE 369 U
PANTONE 370 U
PANTONE 371 U
PANTONE Color Specifier
PANTONE 372 U
PANTONE 373 U
PANTONE 374 U
PANTONE 375 U
PANTONE 376 U
PANTONE 377 U
PANTONE 378 U

PANTONE® Color Specifier



PANTONE® Color Specifier



APÉNDICE F.

Obtención del Índice de Severidad y porcentaje.

INDICE DE SEVERIDAD PARA LAS PAPAYAS HAWAIANAS INFECTADAS CON THANATEPHORUS							
# de Tratamientos	Tratamientos	%	Rango	Papayas Infectadas/rango	Papayas Infectadas	% de Infección * Grupo	Índice de Severidad
1	Blanco-1-the	5	1	1	3	100,0	1,67
2	Blanco-2-the	25	3	1			
3	Blanco-3-the	5	1	1			
4	Cera-1-the	7	1	1	3	100,0	1
5	Cera-2-the	0	1	1			
6	Cera-3-the	4	1	1			
7	Clav-0,04-1-the	5	1	1	1	33.3	0.33
8	Clav-0,04-2-the	0	0	0			
9	Clav-0,04-3-the	0	0	0			
10	Clav-0,06-1-the	0	0	0	1	33,3	0,33
11	Clav-0,06-2-the	3	1	1			
12	Clav-0,06-3-the	0	0	0			
13	Clav-0,08-1-the	0	0	0	0	0	0
14	Clav-0,08-2-the	0	0	0			
15	Clav-0,08-3-the	0	0	0			
16	Can-0,04-1-the	0	0	0	0	0	0
17	Can-0,04-2-the	0	0	0			
18	Can-0,04-3-the	0	0	0			
19	Can-0,06-1-the	0	0	0	0	0	0
20	Can-0,06-2-the	0	0	0			
21	Can-0,06-3-the	0	0	0			
22	Can-0,08-1-the	0	0	0	0	0	0
23	Can-0,08-2-the	0	0	0			
24	Can-0,08-3-the	0	0	0			

INDICE DE SEVERIDAD PARA LAS PAPAYAS HAWAIANAS INFECTADAS CON RIZOPHUS							
# de Tratamientos	Tratamientos	%	Rango	Papayas Infectadas/rango	Papayas Infectadas	% de Infección * Grupo	Índice de Severidad
1	Blanco-1-riz	6	2	1	3	100,0	1,67
2	Blanco-2-riz	3	1	1			
3	Blanco-3-riz	7	2	1			
4	Cera-1-riz	0	0	0	2	66,7	1,33
5	Cera-2-riz	7	2	1			
6	Cera-3-riz	7	2	1			
7	Clav-0,04-1-riz	0	0	0	1	33.3	0.33
8	Clav-0,04-2-riz	5	1	1			
9	Clav-0,04-3-riz	0	0	0			
10	Clav-0,06-1-riz	0	0	0	0	0,0	0
11	Clav-0,06-2-riz	0	0	0			
12	Clav-0,06-3-riz	0	0	0			
13	Clav-0,08-1-riz	0	0	0	0	0	0
14	Clav-0,08-2-riz	0	0	0			
15	Clav-0,08-3-riz	0	0	0			
16	Can-0,04-1-riz	0	0	0	2	66,7	1
17	Can-0,04-2-riz	10	2	1			
18	Can-0,04-3-riz	5	1	1			
19	Can-0,06-1-riz	0	0	0	2	66.7	1
20	Can-0,06-2-riz	6	2	1			
21	Can-0,06-3-riz	4	1	1			
22	Can-0,08-1-riz	0	0	0	1	33.3	0.67
23	Can-0,08-2-riz	0	0	0			
24	Can-0,08-3-riz	12	2	1			

INDICE DE SEVERIDAD PARA LAS PAPAYAS HAWAIANAS INFECTADAS CON ASPERGILLUS							
# de Tratamientos	Tratamientos	%	Rango	Papayas Infectadas/rango	Papayas Infectadas	% de Infección * Grupo	Índice de Severidad
1	Blanco-1-as	35	3	1	3	100	3
2	Blanco-2-as	25	3	1			
3	Blanco-3-as	25	3	1			
4	Cera-1-as	13	2	1	3	100	1.67
5	Cera-2-as	3	1	1			
6	Cera-3-as	14	2	1			
7	Clav-0,04-1-as	13	2	1	2	66.7	1
8	Clav-0,04-2-as	3	1	1			
9	Clav-0,04-3-as	0	0	0			
10	Clav-0,06-1-as	0	0	0	2	66,7	1
11	Clav-0,06-2-as	5	1	1			
12	Clav-0,06-3-as	6	2	1			
13	Clav-0,08-1-as	6	2	1	1	33.3	0.67
14	Clav-0,08-2-as	0	0	0			
15	Clav-0,08-3-as	0	0	0			
16	Can-0,04-1-as	4	1	1	3	100,0	1,33
17	Can-0,04-2-as	15	2	1			
18	Can-0,04-3-as	3	1	1			
19	Can-0,06-1-as	0	0	0	2	66,7	1
20	Can-0,06-2-as	7	2	1			
21	Can-0,06-3-as	3	1	1			
22	Can-0,08-1-as	0	0	0	1	33.3	0.67
23	Can-0,08-2-as	0	0	0			
24	Can-0,08-3-as	6	2	1			

FÓRMULA PARA EL INDICE DE SEVERIDAD
IS=[Xi(r1)+Xi(r2)+Xi(r3)]/N
N= Total de frutos por unidad experimental=3
Xi= # de frutos enfermos por cada daño
Rangos:
1 = 1-5% Daño ligero
2 = 6-15% Daño Moderado
3 = 16% Daño Severo

APÉNDICE G

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 3.1. Comportamiento de la Ganancia de Grados Brix de las Papayas con los Tres Tipos de Tratamientos (Grados Brix vs Tiempo)……..…...72

Gráfico 3.2. Prueba F para los Tres Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales, Blancos)-Valor P para Grados Brix……..……..... .74

Gráfico 3.3. Prueba T para los Dos Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales)-Valor P para Grados Brix.……..…..……..... .75

Gráfico 3.4. Comportamiento de la Ganancia de PH (Alcalinidad) de las Papayas con los Tres Tipos de Tratamientos (PH vs Tiempo)……..……..……..…….....77

Gráfico 3.5. Prueba F para los Tres Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales, Blancos)-Valor P para PH……..……....79

Gráfico 3.6. Prueba T para los Dos Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales)-Valor P para PH……..……..... .81

Gráfico 3.7. Comportamiento de la Pérdida de Dureza de las Papayas con los Tres Tipos de Tratamientos (Dureza vs Tiempo)……..……..……82

Gráfico 3.8. Prueba F para los Tres Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales, Blancos)-Valor P para Dureza……..…84

Gráfico 3.9. Prueba T para los Dos Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales)-Valor P para Dureza……...86
Gráfico 3.10. Representación de la Cantidad de Color……..……...88
Gráfico 3.11. Comportamiento de la Ganancia de Color de las Papayas con los Tres Tipos de Tratamientos (Color vs Tiempo)…….....89
Gráfico 3.12. Prueba F para los Tres Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales, Blancos)-Valor P para Color……...……..……91
Gráfico 3.13. Prueba T para los Dos Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales)-Valor P para Color……..92
Grafico 3.14. Comportamiento de la Pérdida de Peso de las Papayas con los Tres Tipos de Tratamientos (Peso vs Tiempo)…….....…….....94
Gráfico 3.15. Prueba F para los Tres Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales, Blancos)-Valor P para Peso……..……..……..……..…..96
Gráfico 3.16. Prueba T para los Dos Tipos de Tratamientos (Películas Comestibles con y sin Aceites Esenciales)-Valor P para Peso……..……...97

BIBLIOGRAFÍA

. . . . . , Manual práctico para El Cultivo de la Papaya Hawaiana, Editorial EARTH, Guácimo, Limón, Costa Rica, 2002, 3-5p.

. . . . . , 1999, Diagnóstico de enfermedades fungosas y bacterianas en el cultivo de papaya hawaiana (Carica papaya L.) en la aldea Mojarritas, Monjas, Jalapa, Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala. 3p.

. . . . . , El Salvador, 2002, 7-10p.

. . . . . 2009, Cadena logística de exportación de la papaya, Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Comercial, Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnico del Litoral, 8-9p.

. . . . . Cultivo de la papaya en los llanos orientales de Colombia, Manual de asistencia técnica N_o 4, Villavicencio, Meta, Colombia, 86-89, 91p.

. . . . . Incidencia de las enfermedades de la piel en tubérculos de papa (Solanum tuberosum L.), cosechados a los 60 y 120 días posterior a su madurez fisiológica, Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Agronomía, Valdivia-Chile, Universidad Austral de Chile, 7p.

. . . . . 2009, Efecto anti fúngico in vitro e in situ del quitosano y aceites esenciales sobre Rhizopus stolonifer (Ehrenb.:Fr.) Vuil. Tesis previa a la obtención del título de Maestría en Ciencias en Manejo Agroecológico de Plagas y Enfermedades, Yautepec-Morelos, Instituto Politécnico Nacional, 13p.

. . . . . Cultivo de la papaya (Carica papaya), Proyecto de Desarrollo de la Cadena de Valor y Conglomerado Agrícola, 2009, 26p

. . . . . 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. Food Technology 51(2), 61-74.

. . . . . 2004, Caracterización reológica de emulsiones aceite-en-agua (o/w) estabilizadas con goma de mezquite y

quitosano y su efecto en la permeabilidad de películas comestibles, Tesis previo a la obtención del título de Maestro en Ciencias, México, Universidad Autónoma Metropolitana, 4p.

11. **PETERSEN, K., NIELSEN, P.V., LAWTHER, M., OLSEN, M.B., NILSSON, N.H., MORTENSEN, G.**, 1999. Potential of biobased materials for food packaging. Trends Food Sci and Techn. 10: 52–68.

12. **GUILBERT, S.** 1.986. Technology and application of edible protective films. In Food packaging and preservation: theory and practice (Ed M. Mathlouthi), 371-394. London, UK: El sevier Applied Science Publishing Co.

13. . . . . **BACILIZA** 2006, Incorporación de la pediocina producida por pediococcus parvulus mxvk133 en películas y recubrimientos comestibles, Tesis previa a la obtención del título de Doctora en Biotecnología, México, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, 18-20p.

14. **ZARITZKY NOEMÍ**, Películas biodegradables y recubrimientos comestibles a base de hidrocoloide: caracterización y aplicaciones,

Argentina, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). UNLP-CONICET, 3p.

15. . . . . . 2008, Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos, Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo, Universidad Politécnica de Valencia, 3,4p.

16. . . . . . , 2008, Evaluación sensorial de productos cárnicos frescos con recubrimientos comestibles antimicrobianos**,** Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Técnico Agrícola en Industrias Agrarias y Alimentarias, Universidad Pública de Navarra**,** 4p.

17. . . . . . 2005, Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate, Tesis previa a la obtención del título de Maestro en Tecnología Avanzada, México, Instituto Politécnico Nacional, 38, 39p.

. . . . . 2010, Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína, Tesis previa a la obtención del título de Ingeniero Técnico Agrícola en Industrias Agrarias y Alimentarias, España, Universidad Pública de Navarro, 20p.

19. . . . . . 2009, Separación de metabolitos de los aceites esenciales de eucalipto y cidrón por destilación molecular, Previa a la obtención del título de Magister en Ingeniería- Ingeniería Química, Manizales, Colombia, Universidad Nacional de Colombia, 23p.

20. . . . . . 2010, Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (Cinnamomum zeynalicum), Previa a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico, Riobamba, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, 90,91p.

21. . . . . . Caracterización del agente causante de la antracnosis en tomate de árbol, manzano y mora. Rev. Acad. Colomb. Cienc. 32(123):145-156, 2008. ISSN 0370-3908.

MIGUEL, Distribución y Patogenicidad de Especies de Fusarium Asociadas al Declinamiento del Espárrago (Asparagus officinalis L.) en Guanajuato, México. 2002.

, 1999, "Estudio de la interacción biológica de microorganismos, relacionados con Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Penz. Sacc., agente causante de la antracnosis en tomate de árbol (Solanum betacea (Cav.) Sendt.)". Informe Parcial de Tesis M.Sc., Manizales, Colombia, 38p.

, 2004, Evaluación del potencial anti fúngico de extractos vegetales crudos en la germinación de esporas de Colletotrichum gloeosporioides (Penz.) Sacc. Previa a la obtención del título de Maestro en Ciencias con Especialidad en Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Morelos, Instituto Politécnico Nacional, 34p.

Manejo de la mustia hilachosa (Thanatephorus cucumeris (FRANK)) en el cultivo del frijol común (Phaseolus vulgaris L.), Análisis y Comentarios, Agronomía Mesoamericana 10(1): 99-108. 1999.

. . . . . , Efecto antifúngico in vitro e in situ del quitosano y aceites esenciales sobre Rhizopus stolonifer (Ehrenb.:Fr) Vuill, Previa a la obtención del título de Maestría en Ciencias, Yautepec, Morelos, Instituto Politécnico Nacional, 15, 48p.

. . . . . Departamento Académico de Entomología y Fitopatología, Universidad Nacional Agraria La Molina, 38p.

. . . . . , Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos, Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA 2002, Universidad Nacional de Catamarca ARGENTINA, 2002, 4p.

. . . . . (2008). Functional Analysis of Variance. Applied Mathematical Sciences 2, 1115-1129

. . . . . Whey protein emulsion film performance as affected by lipid type and amount. J. Food Sci., 62(2):390-394.

2007, Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (fragaria vesca l.) almacenada en refrigeración, V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agro exportaciones, Universidad Nacional Autónoma de México, 231p.

2011, Caracterización de películas comestibles de Quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales, Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 21, 24p

1968. General Properties of Emulsions and Their Constituents. En P.Sherman (Ed.), Emulsion Science. Londres, Inglaterra: Academic Press. pp.168, 332-333.

1997. Postharvest physiology of perishable plant products. Exon Press. Athens, GA.

1989. Postharvest: An introduction to the physiology and

handling of fruit and vegetables. 3rd edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. 176 pp.

. . . . . 1979. Química Agrícola. III. Alimentos. Editorial Alhambra, S.A. España.

. . . . . 1998. Fisiología y bioquímica, pp. 29-51. In: Introducción a la fisiología y manipulación postcosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Acribia.

. . . . . (1986), Biochemical and Physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. Food Technology 40, 99-100.102-104.

. . . . . .

(www1, 2011) ECUADOR EXPORTARÁ PAPAYA FRESCA A EEUU

http://www.sisepuedeecuador.com/noticias/negocios/6154-ecuador-exportara-papaya-fresca-a-eeuu.html

(www2, 2011) ASPERGILLUS NIGER TIEGH (1867)

http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=546&method=displayAAT

(www3, 2011) EXTRACCIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES

http://www.macroestetica.com/articulos/extraccion-de-los-aceites-esenciales/

(www4, 2011). ACEITES ESENCIALES. MÉTODO DE EXTRACCIÓN.

http://foro.deperfumes.com/viewtopic.php?t=610

(www5, 2011) ACEITES ESENCIALES

http://www.slideshare.net/dicoello/aceites-esenciales