



**“Evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano (*M. paradisiaca L.*) y papaya hawaiana (*Carica papaya L.*)”.**

Baque Vega, Ariana Paola y Romero Marín, Katherine Elizabeth

Departamento de Ciencias de la vida y Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniería en Biotecnología

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

1 de septiembre del 2021

## Urkund Analysis Result

Analysed Document: Tesis. Srta.Baque-Srta. Romero. docx (D111729343)  
 Submitted: 8/27/2021 4:55:00 AM  
 Submitted by: neiramosquera@uteq.edu.ec  
 Significance: 6 %

### Sources included in the report:

tesis unido Gtv2 (3) (1).docx (D110487508)  
 TESIS MADELEN MERO REVISADA (1).docx (D105595062)  
 "Bioconservación de carnes para el consumo humano con la adición de mucilago de cacao (Theobroma cacao L.)".docx (D110828296)  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&tlng=esPinto,](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&tlng=esPinto)  
<https://doi.org/10.35691/JBM.8102.0085>  
<https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/103805/>  
 CONICET\_Digital\_Nro\_8cef83fa-2860-4649-a04a-afc9e5f8660b\_A.pdf?  
 sequence=2&isAllowed=ySab  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009000800012&lng=es&tlng=en.Shaikh,](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000800012&lng=es&tlng=en.Shaikh)  
[http://mcta.uas.edu.mx/pdf/repositorio/2014-2016/04\\_Cabanillas\\_Bojorquez\\_Luis\\_Angel.pdf](http://mcta.uas.edu.mx/pdf/repositorio/2014-2016/04_Cabanillas_Bojorquez_Luis_Angel.pdf)  
<https://www.redalyc.org/journal/6061/606163652005/html/>  
[https://www.sem microbiologia.org/wp-content/uploads/2021/04/CONGRESO-Valladolid\\_2010.pdf](https://www.sem microbiologia.org/wp-content/uploads/2021/04/CONGRESO-Valladolid_2010.pdf)  
<http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1367/1/TTAI21D.pdf>  
<http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/6077/1/27T0313.pdf>  
<https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/17606/EVALUACION%20DEL%20EFECTO%20INHIBITORIO.pdf?isAllowed=y&sequence=1>  
[https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/11259/1/RodriguezDiana\\_2019\\_ValidacionCuantificacionProbiotico.pdf](https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/11259/1/RodriguezDiana_2019_ValidacionCuantificacionProbiotico.pdf)  
[http://m.repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/205/Ram%C3%ADrez\\_FME\\_Troyes\\_NW.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://m.repositorio.unj.edu.pe/bitstream/handle/UNJ/205/Ram%C3%ADrez_FME_Troyes_NW.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

### Instances where selected sources appear:

32

Firma:



Estado electrónico: OK  
**SUNGEY NAYNEE**  
**SANCHEZ LLAGUNO**

**Sánchez Llaguno Sungey Naynee, Ph.D.**

C.C. 1205348673



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y AGRICULTURA**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**CERTIFICACIÓN**

Certifico que el trabajo de titulación, “**Evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano (*M. paradisiaca L.*) y papaya hawaiana (*Carica papaya L.*)**” fue realizado por las señoritas **Baque Vega Ariana Paola** y **Romero Marín Katherine Elizabeth** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

**Santo Domingo de los Tsáchilas, 1 de septiembre de 2021**

Firma:



Firmado electrónicamente por:  
**SUNGEY NAYNEE**  
**SANCHEZ LLAGUNO**

**Sanchez Llaguno Sungey Naynee, Ph.D.**

**C.C. 1205348673**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA  
DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA**

Nosotras, **Baque Vega Ariana Paola** y **Romero Marín Katherine Elizabeth** con cédulas de ciudadanía n°1723233266 y 1718879875, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“Evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano (*M. paradisiaca L.*) y papaya hawaiana (*Carica papaya L.*)”** es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Santo Domingo de los Tsáchilas, 1 de septiembre del 2021**

Firma:

**Baque Vega Ariana Paola**

C.C. 1723233266

Firma:

**Romero Marín Katherine Elizabeth**

C.C. 1718879875



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA  
DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN**

Nosotras **Baque Vega Ariana Paola** y **Romero Marín Katherine Elizabeth** con cédulas de ciudadanía nº1723233266 y 1718879875, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “**Evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano (*M. paradisiaca* L.) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.)**” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

**Santo Domingo de los Tsáchilas, 1 de septiembre del 2021**

Firma:

**Baque Vega Ariana Paola**

C.C. 1723233266

Firma:

**Romero Marín Katherine Elizabeth**

C.C. 1718879875

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a mi familia, por brindarme su amor incondicional y apoyo para culminar mis proyectos. A mis hermanos que, en momentos difíciles, me han ayudado a enfrentar y superar cualquier adversidad.

Principalmente a mis padres, quienes son una parte fundamental en mi vida, que además de brindarme, sus enseñanzas y valores, han sido guía en mi formación personal, permitiéndome continuar y culminar con esta etapa universitaria.

Ariana

Dedico esta tesis a mi madre que ha sabido formarme con sentimientos y valores que me han ayudado a no claudicar en los momentos difíciles.

También, la dedico a mis hermanos Francis y Ashley quienes han sido mi mayor motivación para no rendirme en mis estudios y poder convertirme en un ejemplo para ellos.

Katherine

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme vivir, brindarme fortaleza y sabiduría necesaria para continuar con mis metas propuestas.

A mi familia por enseñarme a no rendirme ante las dificultades, por brindarme apoyo en todo momento.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas Espe sede Santo Domingo y a sus docentes, que con sus experiencias y conocimientos impartidos intervinieron en mi formación profesional.

A mi directora de tesis Ph.D. Sungey Sánchez por su gentil contribución y tiempo invertido en el desarrollo de este trabajo de titulación; al Ph.D. Juan Neira por su asesoría durante toda esta etapa.

Al Ing. Avilés, J. por su aporte en la realización de esta tesis

A todo ser querido que ha influenciado en este aprendizaje de vida.

Ariana



En primer lugar, mi agradecimiento se dirige a Dios quien me permite la alegría de vivir, quien ha guiado mi camino, me ha dado la entereza para culminar cada uno de mis proyectos.

A mi familia quienes, con su comprensión, apoyo incondicional me han acompañado en cada uno de mis propósitos y más que nada, por guiarme para ser mejor persona.

A mis profesores Ph.D Sungey Sánchez y Ph.D Juan Neira quienes con su asesoría y paciencia han contribuido en el desarrollo de este trabajo.

Al Ing. Avilés, J. quien gentilmente ha ofrecido sus recomendaciones y apoyo para la realización de esta tesis.

Mi gratitud a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE sede Santo Domingo y a mis profesores por brindarme sus conocimientos que han contribuido en mi formación académica.

A mis compañeros y amigos, especialmente a Ariana B. y Karen S., quienes con su compañía han hecho que esta etapa de mi vida sea más agradable.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma me han apoyado a lo largo de mis estudios.

Katherine

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|  |    |
|--|----|
| Caratula.....  | 1  |
| Análisis Urkund .....  | 2  |
| Certificación .....  | 3  |
| Responsabilidad de auditoría.....                                    | 4  |
| Autorización de publicación .....                                    | 5  |
| Dedicatoria .....  | 6  |
| Agradecimientos .....  | 8  |
| Índice de contenido .....  | 10 |
| Índice de tablas .....   | 15 |
| Índice de figuras.....   | 18 |
| Resumen.....   | 20 |
| Abstract.....  | 21 |
| Capítulo I.....  | 22 |
| Introducción.....  | 22 |
| Objetivos.....   | 24 |
| <i>Objetivo General</i> .....  | 24 |
| <i>Objetivos específicos</i> .....                                   | 24 |
| Hipótesis.....   | 25 |
| <i>Hipótesis Nula</i> .....  | 25 |
| <i>Hipótesis Alternativa</i> .....                                   | 25 |
| Capítulo II.....   | 26 |
| Revisión de Literatura .....   | 26 |
| Bacterias ácido lácticas .....                                       | 26 |
| <i>Clasificación de las bacterias ácido lácticas</i> .....           | 26 |
| <i>Efecto probiótico de BAL</i> .....                                | 29 |
| <i>Metabolitos con efectos inhibitorios producidos por BAL</i> ..... | 29 |
| Aislamiento de BAL .....   | 31 |
| <i>Microbiología de productos lácteos</i> .....                      | 31 |
| <i>Cuajada</i> .....   | 32 |
| Conservación de frutos en la industria alimentaria.....              | 32 |
| <i>Métodos físicos</i> .....   | 32 |
| <i>Métodos químicos</i> .....  | 33 |
| <i>Métodos no convencionales</i> .....                               | 33 |

|  |    |
|--|----|
| <i>Métodos naturales</i> .....   | 34 |
| Generalidades de los frutos.....   | 35 |
| <i>Banano</i> .....  | 35 |
| <i>Papaya</i> .....  | 37 |
| Capitulo III .....   | 40 |
| Materiales y métodos .....   | 40 |
| Ubicación del Área de Investigación .....  | 40 |
| <i>Ubicación Política</i> .....  | 40 |
| <i>Ubicación Ecológica</i> .....   | 40 |
| <i>Ubicación Geográfica</i> .....  | 41 |
| Materiales .....   | 42 |
| <i>Obtención de bacterias ácido lácticas</i> .....                               | 42 |
| <i>Caracterización morfológica de los aislados BAL</i> .....                     | 43 |
| <i>Prueba de catalasa</i> .....  | 43 |
| <i>Prueba de tolerancia al pH</i> .....  | 44 |
| <i>Prueba de tolerancia a NaCl</i> .....   | 44 |
| <i>Determinación de la fermentación de azúcares</i> .....                        | 45 |
| <i>Recuento de UFC y densidad óptica de BAL</i> .....                            | 45 |
| <i>Determinación de inhibición entre BAL y microbiota de los frutos</i> .....    | 46 |
| <i>Determinación de pH</i> .....   | 47 |
| <i>Determinación de sólidos solubles</i> .....                                   | 47 |
| <i>Determinación de acidez titulable</i> .....                                   | 48 |
| <i>Determinación del periodo de validez</i> .....                                | 48 |
| <i>Determinación microbiológica</i> .....  | 49 |
| Métodos.....   | 50 |
| <i>Obtención de bacterias ácido lácticas</i> .....                               | 50 |
| <i>Siembra y aislamiento de BAL en Agar MRS</i> .....                            | 50 |
| <i>Caracterización morfológica de los aislados BAL</i> .....                     | 50 |
| <i>Caracterización bioquímica de aislados BAL</i> .....                          | 51 |
| <i>Caracterización probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales</i> ..... | 51 |
| <i>Prueba de tamizaje para evaluar la capacidad antimicrobiana</i> .....         | 52 |
| <i>Aislamiento de la microbiota de los frutos</i> .....                          | 53 |
| <i>Cinética de crecimiento de BAL</i> .....                                      | 53 |
| <i>Recuento de UFC de BAL</i> .....  | 54 |

|  |    |
|--|----|
| <i>Obtención de solución libre de células para bioensayo de antagonismo</i> .....  | 54 |
| <i>Bioensayos de inhibición entre BAL y la microbiota de los frutos</i> .....      | 55 |
| <i>Preparación del recubrimiento bioprotector de los frutos</i> .....              | 55 |
| Diseño experimental para evaluar la SLC frente a la microbiota de los frutos ..... | 56 |
| <i>Factores del experimento</i> .....  | 56 |
| <i>Tratamientos a comparar</i> .....   | 57 |
| <i>Tipo de diseño experimental</i> .....   | 57 |
| <i>Repeticiones</i> .....  | 58 |
| Análisis estadístico .....   | 58 |
| <i>Esquema de análisis estadístico</i> .....                                       | 58 |
| Análisis funcional.....  | 59 |
| Variable a medir .....   | 59 |
| <i>Díámetro de inhibición de la sustancia bioprotectora</i> .....                  | 59 |
| Diseño experimental para evaluar la SLC en la conservación de los frutos.....      | 59 |
| <i>Factor del experimento</i> .....  | 59 |
| <i>Tratamientos a evaluar en frutos de banano</i> .....                            | 60 |
| <i>Tratamientos a evaluar en frutos de papaya</i> .....                            | 60 |
| <i>Tipo de diseño experimental</i> .....   | 61 |
| <i>Repeticiones</i> .....  | 61 |
| Análisis estadístico .....   | 61 |
| <i>Esquema de análisis estadístico</i> .....                                       | 61 |
| Análisis funcional.....  | 62 |
| Variables a medir.....   | 62 |
| <i>Determinación de la pérdida de peso</i> .....                                   | 62 |
| <i>Determinación de pH</i> .....   | 62 |
| <i>Determinación de Sólidos solubles</i> .....                                     | 62 |
| <i>Determinación de acidez titulable</i> .....                                     | 63 |
| <i>Determinación de la vida útil</i> .....   | 64 |
| <i>Determinación de la calidad microbiológica</i> .....                            | 64 |
| Capitulo IV.....   | 65 |
| Resultados .....   | 65 |
| Caracterización de la cuajada y aislamiento de BAL.....                            | 65 |
| Identificación de los aislados BAL .....   | 65 |
| <i>Caracterización morfológica</i> .....   | 65 |

|  |     |
|--|-----|
| <i>Pruebas bioquímicas</i> .....   | 66  |
| <i>Caracterización probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales</i> ..... | 66  |
| Tamizaje de aislados para evaluar la capacidad antimicrobiana .....              | 67  |
| Cinética de crecimiento de BAL .....   | 68  |
| Bioensayos de inhibición de la sustancia bioprotectora producida por BAL .....   | 70  |
| Análisis de varianza del diámetro de Inhibición.....                             | 70  |
| Prueba de significancia LSD-Fisher del Factor A, Factor B e interacción A*B..... | 71  |
| Análisis de varianza.....  | 74  |
| <i>Análisis de varianza para la variable pérdida de banano</i> .....             | 74  |
| <i>Análisis de varianza para la variable pérdida de peso de papaya</i> .....     | 74  |
| <i>Análisis de varianza para las variables fisicoquímicas de banano</i> .....    | 75  |
| <i>Análisis de varianza para las variables fisicoquímicas de papaya</i> .....    | 80  |
| <i>Análisis de varianza para la variable vida útil de banano</i> .....           | 86  |
| <i>Análisis de varianza para la variable vida útil de papaya</i> .....           | 87  |
| Pruebas de significancia LSD-Fisher .....  | 87  |
| <i>Prueba LSD-Fisher para la pérdida de peso de banano</i> .....                 | 87  |
| <i>Prueba LSD-Fisher para la pérdida de papaya</i> .....                         | 89  |
| <i>Prueba LSD-Fisher para las variables fisicoquímicas de banano</i> .....       | 91  |
| <i>Prueba LSD-Fisher para las variables fisicoquímicas de papaya</i> .....       | 96  |
| <i>Prueba LSD-Fisher para la vida útil de banano</i> .....                       | 101 |
| <i>Prueba LSD-Fisher para la vida útil de papaya</i> .....                       | 104 |
| Análisis de la calidad microbiológica de los frutos.....                         | 107 |
| <i>Calidad microbiológica de banano</i> .....                                    | 107 |
| <i>Calidad microbiológica de papaya</i> .....                                    | 108 |
| Resultados de análisis de conglomerados en banano y papaya.....                  | 109 |
| Análisis de componentes principales en banano .....                              | 110 |
| Análisis de componentes principales en papaya.....                               | 113 |
| Capítulo V.....  | 116 |
| Discusión .....  | 116 |
| Microbiota de los frutos (Factor A) .....  | 116 |
| Concentración de la sustancia bioprotectora (Factor B).....                      | 116 |
| Interacción A*B.....   | 117 |
| Sustancia bioprotectora en banano y papaya .....                                 | 118 |
| <i>Pérdida de peso</i> .....   | 118 |

|   |     |
|---|-----|
| <i>pH</i> .....   | 119 |
| <i>Sólidos solubles</i> .....                                       | 120 |
| <i>Acidez titulable</i> .....                                       | 121 |
| <i>Vida útil</i> .....  | 122 |
| <i>Calidad microbiológica</i> .....                                 | 123 |
| Capitulo VI.....  | 125 |
| Conclusiones y Recomendaciones .....                                | 125 |
| Conclusiones .....  | 125 |
| <i>Microbiota de los frutos (Factor A)</i> .....                    | 125 |
| <i>Concentración de la sustancia bioprotectora (Factor B)</i> ..... | 125 |
| <i>Interacción A*B</i> .....  | 125 |
| <i>Sustancia bioprotectora en banano</i> .....                      | 126 |
| <i>Sustancia bioprotectora en papaya</i> .....                      | 127 |
| Recomendaciones .....   | 128 |
| Capitulo VII.....   | 129 |
| Bibliografía .....  | 129 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                  |  |    |
|------------------|--|----|
| <b>Tabla 1.</b>  | Clasificación de BAL según su metabolismo de carbohidratos.....  | 28 |
| <b>Tabla 2.</b>  | Clasificación de BAL según su temperatura óptima de crecimiento. ....  | 28 |
| <b>Tabla 3.</b>  | Recursos empleados en la obtención de bacterias ácido lácticas.....  | 42 |
| <b>Tabla 4.</b>  | Recursos empleados en la caracterización morfológica de BAL .....  | 43 |
| <b>Tabla 5.</b>  | Recursos empleados en la prueba de catalasa. ....  | 43 |
| <b>Tabla 6.</b>  | Recursos empleados en la prueba de tolerancia al pH.....   | 44 |
| <b>Tabla 7.</b>  | Recursos empleados en la prueba de tolerancia a NaCl.....  | 44 |
| <b>Tabla 8.</b>  | Recursos empleados en la determinación de fermentación de azúcares.....  | 45 |
| <b>Tabla 9.</b>  | Recursos empleados en el recuento de UFC y D.O. de BAL. ....   | 45 |
| <b>Tabla 10.</b> | Recursos empleados en la inhibición de BAL y microbiota de los frutos.....   | 46 |
| <b>Tabla 11.</b> | Recursos empleados en la determinación de pH.....  | 47 |
| <b>Tabla 12.</b> | Recursos empleados en la determinación de sólidos solubles.....  | 47 |
| <b>Tabla 13.</b> | Recursos empleados en la determinación de acidez titulable. ....   | 48 |
| <b>Tabla 14.</b> | Recursos empleados en la determinación del periodo de validez. ....  | 48 |
| <b>Tabla 15.</b> | Recursos empleados en la determinación microbiológica. ....  | 49 |
| <b>Tabla 16.</b> | Concentraciones de SLC para los bioensayos de antagonismo.....   | 54 |
| <b>Tabla 17.</b> | Factores y Niveles a estudiar en la evaluación de las bacterias ácido lácticas<br>con capacidad probiótica para la conservación de: banano y papaya hawaiana ..... | 56 |
| <b>Tabla 18.</b> | Tratamientos a comparar en la evaluación de BAL con capacidad probiótica<br>para la conservación de banano y papaya hawaiana.....                                  | 57 |
| <b>Tabla 19.</b> | Esquema del análisis de varianza para evaluar BAL con capacidad probiótica<br>en la conservación de banano y papaya hawaiana .....                                 | 58 |
| <b>Tabla 20.</b> | Tratamientos a comparar en la evaluación de la sustancia bioprotectora<br>producida por BAL en la conservación de banano .....                                     | 60 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 21.</b> Tratamientos a comparar en la evaluación de la sustancia bioprotectora producida por BAL en la conservación de papaya.....        | 60 |
| <b>Tabla 22.</b> Esquema del análisis de varianza para evaluar la sustancia bioprotectora producida por en la conservación de banano y papaya..... | 61 |
| <b>Tabla 23.</b> Características de la cuajada de la leche.....  | 65 |
| <b>Tabla 24.</b> Análisis de varianza de Inhibición de BAL frente a microbiota de los frutos.  | 70 |
| <b>Tabla 25.</b> Pruebas de significancia LSD-Fisher para el Factor A, Factor B e I(A*B). ...  | 71 |
| <b>Tabla 26.</b> Análisis de varianza de la variable pérdida de peso en banano al día 10. ...  | 74 |
| <b>Tabla 27.</b> Análisis de varianza de la variable pérdida de peso en papaya al día 10.....  | 74 |
| <b>Tabla 28.</b> Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 0.....  | 75 |
| <b>Tabla 29.</b> Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 5.....  | 75 |
| <b>Tabla 30.</b> Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 10.....   | 76 |
| <b>Tabla 31.</b> Prueba de Levene para sólidos solubles en banano al día 0.....  | 76 |
| <b>Tabla 32.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 0.....  | 77 |
| <b>Tabla 33.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 5.....  | 77 |
| <b>Tabla 34.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 10.....   | 78 |
| <b>Tabla 35.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 0. ....   | 78 |
| <b>Tabla 36.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 5. ....   | 79 |
| <b>Tabla 37.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 10. ....  | 80 |
| <b>Tabla 38.</b> Prueba de Levene para pH en al día 0. ....  | 80 |
| <b>Tabla 39.</b> Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 0.....  | 81 |
| <b>Tabla 40.</b> Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 5.....  | 81 |
| <b>Tabla 41.</b> Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 10.....   | 82 |
| <b>Tabla 42.</b> Prueba de Levene para sólidos solubles en papaya al día 0.....  | 82 |
| <b>Tabla 43.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 0. ....   | 83 |
| <b>Tabla 44.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 5. ....   | 83 |



|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabla 45.</b> Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 10. ....   | 84  |
| <b>Tabla 46.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 0. ....  | 84  |
| <b>Tabla 47.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 5. ....  | 85  |
| <b>Tabla 48.</b> Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 10. ....   | 85  |
| <b>Tabla 49.</b> Análisis de varianza de la variable vida útil de banano. ....  | 86  |
| <b>Tabla 50.</b> Análisis de varianza de la variable vida útil de papaya. ....  | 87  |
| <b>Tabla 51.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para la pérdida de peso de banano. ....   | 87  |
| <b>Tabla 52.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para la pérdida de peso de papaya. ....   | 89  |
| <b>Tabla 53.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para pH, sólidos solubles y acidez<br>titulable durante el almacenamiento de banano. .... | 91  |
| <b>Tabla 54.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para pH, sólidos solubles y acidez<br>titulable durante el almacenamiento de papaya. .... | 96  |
| <b>Tabla 55.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para la vida útil de banano. ....   | 101 |
| <b>Tabla 56.</b> Efecto del recubrimiento sobre la vida útil y maduración del banano. ....  | 102 |
| <b>Tabla 57.</b> Prueba de significancia LSD-Fisher para la vida útil de papaya. ....   | 104 |
| <b>Tabla 58.</b> Efecto del recubrimiento sobre la vida útil y maduración de la papaya. ....  | 105 |
| <b>Tabla 59.</b> Análisis de la calidad microbiológica de banano. ....  | 107 |
| <b>Tabla 60.</b> Análisis de la calidad microbiológica de papaya. ....  | 108 |
| <b>Tabla 61.</b> Matriz de correlaciones de componentes principales en banano. ....   | 110 |
| <b>Tabla 62.</b> Matriz de componentes en banano. ....  | 112 |
| <b>Tabla 63.</b> Matriz de correlaciones de variables medidas en los frutos de papaya. ....   | 113 |
| <b>Tabla 64.</b> Matriz de componentes en papaya. ....  | 114 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Maduración del fruto de banano según la escala de Von Loesecke.....  | 37 |
| <b>Figura 2.</b> Visualización interna y externa de papaya en la maduración. ....   | 39 |
| <b>Figura 3.</b> Ubicación geográfica del área de investigación. ....   | 41 |
| <b>Figura 4.</b> Divisiones en la placa petri para ensayo de actividad antagonista. ....                                    | 56 |
| <b>Figura 5.</b> Morfología de colonias aisladas de BAL en microscopio óptico 100x.....                                     | 66 |
| <b>Figura 6.</b> Evaluación probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales .....                                       | 67 |
| <b>Figura 7.</b> Tamizaje de las BAL con actividad antimicrobiana. ....   | 68 |
| <b>Figura 8.</b> Cinética de crecimiento de BAL por recuento de UFC/ml.....   | 69 |
| <b>Figura 9.</b> Cinética de crecimiento de BAL mediante la medida de D.O .....   | 69 |
| <b>Figura 10.</b> Diámetro de inhibición de la SLC frente a la microbiota de los frutos.....                                | 70 |
| <b>Figura 11.</b> Resultados de LSD-Fisher para el Factor A (Microbiota de los frutos). ....                                | 72 |
| <b>Figura 12.</b> Resultados de LSD-Fisher para el Factor B (Concentración de SLC). ....                                    | 72 |
| <b>Figura 13.</b> Resultados de LSD-Fisher para la interacción A* B.....  | 73 |
| <b>Figura 14.</b> Resultados de LSD-Fisher para pérdida de peso de banano al día 10 .....                                   | 88 |
| <b>Figura 15.</b> Pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento de banano.....                                       | 88 |
| <b>Figura 16.</b> Resultados de LSD-Fisher para la pérdida de peso de papaya al día 10.....                                 | 89 |
| <b>Figura 17.</b> Pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento de papaya.....                                       | 90 |
| <b>Figura 18.</b> Resultados de LSD-Fisher para pH de banano a los 0, 5 y 10 días .....                                     | 92 |
| <b>Figura 19.</b> Variación de pH durante el almacenamiento de banano .....   | 92 |
| <b>Figura 20.</b> Resultados de LSD-Fisher para sólidos solubles de banano al día 0, 5 y 10<br>días de almacenamiento ..... | 93 |
| <b>Figura 21.</b> Variación de sólidos solubles durante el almacenamiento de banano.....                                    | 94 |
| <b>Figura 22.</b> Resultados LSD-Fisher para acidez titulable de banano al día 0, 5 y 10.....                               | 95 |
| <b>Figura 23.</b> Variación de acidez titulable durante el almacenamiento de banano .....                                   | 95 |
| <b>Figura 24.</b> Resultados de LSD-Fisher para pH de papaya a los 0, 5 y 10 días .....                                     | 97 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>Figura 25.</b> Variación de pH durante el almacenamiento de papaya.....  | 97  |
| <b>Figura 26.</b> Resultados de LSD-Fisher para sólidos solubles de papaya a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento ..... | 98  |
| <b>Figura 27.</b> Variación de sólidos solubles durante el almacenamiento de papaya.....                                | 99  |
| <b>Figura 28.</b> Resultados de LSD-Fisher para acidez titulable de papaya a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento ..... | 100 |
| <b>Figura 29.</b> Variación de acidez titulable durante el almacenamiento de papaya .....                               | 100 |
| <b>Figura 30.</b> Resultados de LSD-Fisher para la vida útil de banano .....  | 104 |
| <b>Figura 31.</b> Resultados de LSD-Fisher para la vida útil de papaya .....  | 107 |
| <b>Figura 32.</b> Dendrograma para los factores de estudio en banano y papaya.....                                      | 109 |
| <b>Figura 33.</b> Sedimentación del análisis de componentes principales en banano .....                                 | 111 |
| <b>Figura 34.</b> Gráfico del análisis de componentes principales en banano .....                                       | 112 |
| <b>Figura 35.</b> Sedimentación del análisis de componentes principales en papaya .....                                 | 114 |
| <b>Figura 36.</b> Gráfico del análisis de componentes principales en papaya .....                                       | 115 |

## Resumen

En el presente estudio se evaluó la capacidad antimicrobiana de metabolitos producidos por bacterias ácido lácticas aisladas de la cuajada como un nuevo enfoque biotecnológico para la conservación de banano (*M. paradisiaca* L.) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.). La investigación fue realizada en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE sede Santo Domingo. El estudio se dividió en dos fases. En la primera fase, se realizó bioensayos en placa de la solución bioprotectora (SLC) frente a la microbiota de los frutos y se evaluó la zona de inhibición producida; en la segunda fase, se determinó la efectividad del recubrimiento de los frutos con SLC, mediante indicadores de la calidad: fisicoquímicos, microbiológicos, vida útil y pérdida de peso. Se planteó un Diseño con esquema factorial A\*B (Microbiota de los frutos: banano y papaya; Concentración de SLC:  $4 \times 10^3$ ,  $8 \times 10^3$ ,  $16 \times 10^3$  y  $32 \times 10^3$  UA/mL) con 8 tratamientos y 4 repeticiones, conformando 32 unidades experimentales; y un Diseño Completamente al azar (DCA) compuesto por cuatro tratamientos: T1 ( $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC), T2 ( $8 \times 10^3$  UA/mL de SLC), T3 ( $16 \times 10^3$  UA/mL de SLC) y T4 (Control sin SLC) y 3 repeticiones, conformando 12 unidades experimentales. El DCA se aplicó a cada fruto. Los frutos tratados con  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC con respecto a los frutos control, presentaron una reducción de su actividad metabólica, induciendo a un retardo en su maduración y deterioro. La SLC obtenida a partir de BAL permitió extender la vida útil de banano hasta los  $14 \pm 0.577$  días y en papaya hasta los  $12.33 \pm 0.577$ .

Palabras clave:

- **RECUBRIMIENTO COMESTIBLE**
- **POSCOSECHA**
- **FRUTOS CLIMATÉRICOS**
- **CONSERVACIÓN DE FRUTOS**
- **EFFECTO ANTIMICROBIANO**

## ABSTRACT

In the present study, the antimicrobial capacity of metabolites produced by lactic acid bacteria isolated from curd was evaluated as a new biotechnological approach for the conservation of banana (*M. paradisiaca L.*) and Hawaiian papaya (*Carica papaya L.*). The research was carried out in the laboratories of the University of the Armed Forces ESPE, Santo Domingo headquarters. The study was divided into two phases. In the first phase, plate bioassays of the bioprotective solution (SLC) were carried out against the microbiota of the fruits and the zone of inhibition produced was evaluated; In the second phase, the effectiveness of the coating of fruits with SLC was determined, by means of quality indicators: physicochemical, microbiological, shelf life and weight loss. A Design with factorial scheme A \* B was proposed (Microbiota of fruits: banana and papaya; SLC concentration:  $4 \times 10^3$ ,  $8 \times 10^3$ ,  $16 \times 10^3$  y  $32 \times 10^3$  UA/mL), 8 treatments and 4 repetitions, making up 32 experimental units; and a Completely Randomized Design (DCA) composed of four treatments: T1 ( $4 \times 10^3$  UA/mL SLC), T2 ( $8 \times 10^3$  UA/mL SLC), T3 ( $16 \times 10^3$  UA/mL SLC) y T4 (Control without SLC) and 3 repetitions, making up 12 experimental units. The DCA was applied to each fruit. The fruits treated with  $4 \times 10^3$  UA/mL SLC respect to the control fruits, showed a reduction in the metabolic activity, inducing a delay in their maturation and deterioration. The SLC obtained from BAL allowed to extend the shelf life of banana up to  $14 \pm 0.577$  days and in papaya up to  $12.33 \pm 0.577$ .

Key words:

- **EDIBLE COATING**
- **POST HARVEST**
- **CLIMATE FRUITS**
- **FRUIT PRESERVATION**
- **ANTIMICROBIAL EFFECT**

## CAPÍTULO I

### Introducción

La producción de frutas en Ecuador presenta una gran importancia económica, su incidencia en la historia como un país agroexportador de variedad de frutas con altos valores nutricionales como orito, pitahaya, mango, piña, guanábana, tomate de árbol, papaya, entre los cuales destaca la exportación de banano, induce a un incremento competitivo tanto en mercados locales como internacionales. El abordar este sector frutícola como desarrollo sostenible del país y su alta demanda de consumo, exige cumplir con parámetros de calidad que garanticen, la seguridad y calidad del fruto comestible (Arreaga, 2017).

Los frutos climatéricos como el banano y la papaya pueden generar pérdidas considerables en el sector agrícola debido a que la calidad puede verse afectada por deficiencias en el manejo del fruto, la falta de capacitación técnica hacia el agricultor, tipo de cultivar, condiciones de cosecha, transporte, entrega al comerciante y métodos de conservación (Tello, 2014), entre otras causas se encuentra las características del cultivar, periodo de almacenamiento corto, maduración, deshidratación, temperatura, humedad relativa, susceptibilidad a diversas enfermedades (Torres et al., 2013).

En la actualidad, en la industria alimentaria se implementa métodos capaces de prolongar la conservación de estos de los productos, los métodos principalmente empleados son térmicos y conservantes químicos, estas técnicas pueden intervenir en las características sensoriales del fruto y tienen menor aceptación por los efectos adversos que causan en el entorno y en la salud humana. El uso de recubrimientos comestibles es un nuevo método de conservación en frutos y vegetales, que está

presentando mayor aceptación por parte del consumidor, debido a que se ha observado un incremento de intereses de productos frescos mínimamente procesados.

Uno de los desafíos es la implementación de nuevos recubrimientos con capacidades antimicrobianas que garanticen una alta calidad del fruto durante su almacenamiento. Las bacterias ácido lácticas productoras de sustancias con efectos antimicrobianos capaces de evitar el deterioro de alimentos, surgen como alternativa ante los desafíos actuales. De Simone et al. (2021) sugiere a las BAL como conservantes naturales, debido a que sus propiedades antimicrobianas, resultan de la síntesis de compuestos bioactivos como ácido láctico, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, diacetilo, sustancias con capacidad inhibitorias, entre otros.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar el efecto de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica, como agente antagónico frente a microorganismos procedentes de la flora bacteriana de banano (*M. paradisiaca L.*) y papaya hawaiana (*Carica papaya L.*), para su posible aplicación en la conservación de frutas.

### ***Objetivos específicos***

- Obtener bacterias ácido lácticas productoras de sustancias antimicrobianas mediante cultivo para su aplicación en distintas concentraciones como un inhibidor de agentes patógenos procedentes de banano y papaya hawaiana.
- Evaluar la capacidad inhibitoria de la sustancia bioprotectora producida por bacterias ácido lácticas frente a la flora bacteriana de banano y papaya hawaiana.
- Evaluar la concentración adecuada de la sustancia bioprotectora para la inhibición del crecimiento de agentes patógenos aislados de banano y papaya hawaiana.
- Estudiar el efecto de distintas concentraciones de la sustancia bioprotectora producida por bacterias ácido lácticas en la conservación de banano y papaya.



## **Hipótesis**

### ***Hipótesis Nula***

**Ho:** La flora bacteriana patógena de banano y papaya no influyen en la capacidad inhibitoria de las bacterias ácido lácticas.

**Ho:** La concentración de la sustancia bioprotectora no influye en la inhibición de la flora bacteriana de las frutas.

**Ho:** El efecto de la sustancia bioprotectora a diferentes concentraciones no influye en la conservación de banano

**Ho:** El efecto de la sustancia bioprotectora a diferentes concentraciones no influye en la conservación de papaya hawaiana.

### ***Hipótesis Alternativa***

**Ha:** La flora bacteriana patógena de banano y papaya influyen en la capacidad inhibitoria de las bacterias ácido lácticas.

**Ha:** La concentración de la sustancia bioprotectora influye en la inhibición de la flora bacteriana de las frutas.

**Ha:** El efecto de la sustancia bioprotectora a diferentes concentraciones influye en la conservación del banano.

**Ha:** El efecto de la sustancia bioprotectora a diferentes concentraciones influye en la conservación de papaya hawaiana.

## CAPÍTULO II

### Revisión de Literatura

#### **Bacterias ácido lácticas**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de microorganismos representativos que poseen la capacidad de efectuar transformaciones en los alimentos por medio de la fermentación; entre otras facultades, producen una serie de metabolitos importantes como el ácido láctico y un péptido de cadena corta con propiedades antibióticas denominado como bacteriocina. Las BAL han estado presentes desde hace miles de años en los procesos fermentativos, se encuentran en algunos productos alimenticios de leche fermentada como el yogurt, en quesos frescos y maduros, en carnes e inclusive en algunas hortalizas (Agurto Sáenz & Ramos Gorbeña, 2008, 55).

Las BAL generalmente son grampositivas, con morfología de cocos y/o bacilos, son catalasa negativa, generan su propio ATP a partir de la fermentación láctica de los glúcidos, de acuerdo a su metabolismo se clasifican en homofermentativas que producen exclusivamente ácido láctico y heterofermentativas, que además pueden producir etanol, CO<sub>2</sub> y acetato (Agurto Sáenz & Ramos Gorbeña, 2008, 55).

#### ***Clasificación de las bacterias ácido lácticas***

**Homofermentativas.** Las bacterias pertenecientes a este grupo son *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Pediococcus*. Se caracterizan por la carencia de la enzima fosfoacetolasa y por la presencia de hexosa isomerasa y aldosa, el producto fermentativo que sintetizan estas bacterias es el ácido láctico, sin la liberación de CO<sub>2</sub>. La conversión a ácido láctico (2 moles) por cada mol de glucosa se realiza por la vía embden meyerhof, obteniendo un rendimiento del ácido mayor al 85% a partir de este azúcar, lo cual representa el doble de energía que las bacterias del grupo heterofermentativo (Parra, 2010).

En este grupo se encuentra *Lactobacillus plantarum*, empleado en productos cárnicos, lácteos ácidos y fermentos vegetales. Los lactobacillus se encuentran en forma de bastones o bacilos en cadenas largas, cortas, separados, son acidófilos, termófilos y de gran actividad energética. Los *Streptococcus* son morfológicamente esféricos, agrupados en cadena, de actividad caseolítica baja (Parra, 2010).

**Heterofermentativas.** El ácido láctico producido por las bacterias de este grupo, representan el 50%. Son capaces de convertir a ATP (1mol) por cada mol de glucosa, a partir de 1 mol de glucosa producen etanol (1mol), CO<sub>2</sub> (1mol) y ácido láctico(1mol). Las bacterias de este grupo pertenecen al género de *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* y *Streptococcus*. Emplean la ruta de las pentosas por lo cual carecen de las enzimas hexosa isomerasa, aldosa y presentan la fosfocetolasa.

Aquellas bacterias que fermentan azúcares solo por la vía fosfocetolasa son heterolácticas forzadas, además de producir ácido láctico generan cantidades considerables de CO<sub>2</sub> y ácido acético y etanol; al emplear la vía Leloir llegan a metabolizar d-galactosa (Parra, 2010).

**Tabla 1.**

Clasificación de BAL según su metabolismo de carbohidratos.

| Bacterias ácido lácticas según su fermentación |   |
|--|---|
| Heteroláctica                                  | Homoláctica                             |
| <i>Lactobacillus plantarum</i>                 | <i>Lactobacillus acidophilus</i>        |
| <i>L. ramnosus,</i>                            | <i>L. helveticus</i>                    |
| <i>L. coryneformis</i>                         | <i>L. delbrueckii subsp delbrueckii</i> |
| <i>L. curvatus</i>                             | <i>L. delbrueckii subsp lactis</i>      |
| <i>L. casei</i>                                | <i>L. delbrueckii subsp bulgaricus</i>  |
| <i>L. paracasei</i>                            | <i>L. lactis</i>                        |
| <i>L. brevis</i>                               | <i>L. thermophilus</i>                  |
| <i>L. buchneri</i>                             |   |
| <i>L. fermentus</i>                            |   |
| <i>L. kéfir</i>                                |   |
| <i>L. reuteri</i>                              |   |
| <i>L. leuconostc</i>                           |   |

Nota: Recuperado de (Parra, 2010).

**Tabla 2.**

Clasificación de BAL según su temperatura óptima de crecimiento.

| Bacterias ácido lácticas mesófilas o termófilas |  |
|---|--|
| Mesófilas                                       | Termófilas   |
| Incubación: 20-25°C                             | Incubación: 40-45°C                                |
| Vol. cultivo: 1-2 %                             | Vol. cultivo: 2-3 %                                |
| T. Incubación: 18-20 h                          | T. Incubación: 2-4 h                               |
| Acidez 0.8% ácido láctico                       | Acidez 0.9% ácido láctico                          |
| <i>Lactococcus lactis subs lactis</i>           | <i>Streptococcus salivarius subsp thermophiñus</i> |
| <i>Lactococcus lactis subs cremoris</i>         | <i>Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus</i>  |
| <i>Leuconostoc mesenteroides subs cremoris</i>  | <i>L. plantarum</i>                                |
|   | <i>L. lactis</i>                                   |
|   | <i>L. helveticus</i>                               |
|   | <i>L. acidophilus</i>                              |
|   | <i>L. casei</i>                                    |

Nota: Recuperado de (Parra, 2010).

### **Efecto probiótico de BAL**

Las bacterias ácido lácticas son consideradas inocuas para la salud humana, su capacidad probiótica es aplicada con fines nutricionales en la industria de alimentos, para lo cual debe estar sujeto a varios requisitos que evalúen su efecto probiótico: caracterización in vivo, determinación genotípica y fenotípica, degradación de proteínas e hidratos de carbono mediante caracterización in vitro; resistencia a acidez, bilis, lisozima y capacidad de adherirse a las células epiteliales del intestino (María & Ruiz, 2019).

### **Metabolitos con efectos inhibitorios producidos por BAL**

**Ácido láctico.** Es el principal compuesto del metabolismo de carbohidratos por bacterias lácticas, ocurre en dos tipos de fermentación: homofermentativa y heterofermentativa. Es el primer y funcional ácido orgánico producido por su capacidad de preservación en alimentos comestibles.

El ácido láctico ha demostrado efectos bacteriostáticos en condiciones de pH de 4.5. Este metabolito prolonga la generación bacteriana en *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Saccharomyces spp* y *Proteus spp*. El ácido láctico inhibe el crecimiento fúngico a altas concentraciones (Guimarães et al., 2018).

**Ácido acético.** Es el compuesto resultante de la fermentación de pentosas. Las pentosas se metabolizan por la vía 6-fosfogluconato, esta fermentación no requiere del paso de deshidrogenación y no se produce CO<sub>2</sub>. A la vez el acetyl-fosfato se fosforila por la acción de la acetatoquinasa, produciendo ATP y ácido acético en lugar de etanol (CABO et al., 2002).

El ácido acético tiene acción inhibitoria contra bacterias, hongos y levaduras. Se ha reportado, efecto contra *Saccharomyces spp*, *Clostridium spp.*, *L. monocytogenes*,

*Salmonella spp*, *Aspergillus*, *Pseudomonas aureoginosa*, *Penicillium* (CABO et al., 2002).

**Peróxido de hidrógeno.** Las BAL producen  $H_2O_2$  como mecanismo de eliminación del oxígeno. El peróxido de hidrógeno se produce con la oxidación de la coenzima NADH por el  $O_2$ , reacción realizada por hidrogenasas y NADH oxidasas (Parra, 2016).

Los efectos antimicrobianos del  $H_2O_2$  suponen una serie de eventos biológicos, que conducen a la muerte e inhibición del crecimiento de las células bacterianas. El peróxido de hidrógeno tiene actividad bactericida en bacterias gram positivas y negativas; además, se ha reportado espectros de actividad antifúngica dependiente de la cepa de BAL (Delavenne et al., 2013).

**Diacetilo.** Es un metabolito que confiere características sensoriales a los productos fermentados, producido BAL fermentadoras de citrato. La actividad antimicrobiana es mayor frente a bacterias gram negativas que en gram positivas; además, para el efecto inhibitorio en levaduras y mohos se requiere altas concentraciones ( $>500 \mu\text{g/ml}$ ), en concentraciones menores presenta un efecto bacteriostático ( $>250 \mu\text{g/ml}$ ) (Langa et al., 2014).

**Ácidos grasos.** Las BAL con actividad lipolítica, bajo ciertas condiciones de cultivo, pueden producir una representativa cantidad de ácidos grasos. Estos productos presentan funciones protectoras puesto que son componentes fundamentales en la estructura de la membrana celular; se ha reportado la actividad antimicrobiana en concentraciones más altas y efectos inhibitorios de la colonización bacteriana a dosis bajas (Kumar et al., 2020). Adicionalmente, los derivados de los ácidos grasos tienen mayor efecto contra bacterias Gram positivas que contra Gram negativas. El efecto antimicrobiano depende de la cepa bacteriana, la concentración y pH del medio, así

como también la naturaleza del enlace del ácido graso tiene efecto significativo sobre la acción y eficacia (Nobmann et al., 2009).

**Bacteriocinas.** Son metabolitos primarios de estructura proteica, con acción bacteriostática y bactericida. Las BAL emplean la bacteriocina como mecanismo de defensa contra otros microorganismos. Las BAL producen bacteriocina de bajo peso molecular, dicha sustancia puede emplearse como conservante natural y seguro en varios alimentos, entre ellos frutas, sin cambiar las características organolépticas; además el uso de bacteriocinas no afecta en la aceptación por parte del consumidor (Agriopoulou et al., 2020).

La bacteriocina ideal debe presentar actividad a concentraciones bajas, un amplio espectro de actividad contra microorganismos, no dañar los productos y bajos costos de producción (O'Connor et al., 2015).

**Sustancias antimicrobianas.** Son varias las sustancias antimicrobianas producidas por BAL capaces de inhibir microorganismos patógenos de gran relevancia. Según Parra (2016), algunas BAL tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de Hongos, se ha identificado la acción de *L. plantarum* sobre *Fusarium spp.* En cultivos mixtos se evidencia que el primordial mecanismo inhibitorio láctico de BAL se debe a la degradación de carbohidratos, inducidos a pH 4 (María & Ruiz, 2019).

### **Aislamiento de BAL**

#### ***Microbiología de productos lácteos***

La leche cruda a condiciones ambientales se agria de forma espontánea por el crecimiento de BAL (Wouters et al., 2002). La microbiota de la leche se constituye de algunos géneros de BAL: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Leuconostoc*; bacterias gram positivas como *Bacillus*. Así como también bacterias que causan daño a la leche tales como *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Bacillus*; bacterias que

causan enfermedades como *Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter* (Quigley et al., 2013).

### **Cuajada**

Se denomina cuajada a la gelatina que se obtiene de la coagulación de las proteínas de la leche como resultado de la adición de un agente coagulante, ya sea de origen químico (ácidos) o biológico (enzimas y cultivos bacteriobalanos) (CANILEC, 2011).

Las BAL aisladas de la cuajada casera presentan propiedades con alto potencial probiótico, aunque entre diferentes especies de BAL no ha presentado un resultado consistente en cuanto a la capacidad de inhibir el crecimiento de *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio cholerae O139* y *Escherichia coli* (Balamurugan et al., 2014).

### **Conservación de frutos en la industria alimentaria**

#### **Métodos físicos**

En la conservación de frutos, los métodos físicos mayormente empleados son tratamientos térmicos. El tratamiento térmico por alta temperatura consiste en un proceso de esterilización que emplea calor húmedo en tiempos controlados, el contenedor final del alimento se somete a 121°C por 15 min (Linares-Morales et al., 2018), en un tiempo 2,8 min a 121°C, se logra la eliminación de esporas de bacterias termorresistentes como *Clostridium botulinum*, garantizando la inocuidad del producto alimentario (Arias, 2016). Otros métodos como el escaldado que incluyen temperaturas que varían de entre 69 a 72 °C hasta 5 min son consideradas sistemas de pretratamiento y el método por cocción hasta alcanzar ebullición, no es comúnmente usados en frutas y vegetales. Según Linares-Morales et al., 2018, el uso de estos



métodos, evidencia resistencia térmica de la microbiota patógena y la pérdida de características sensoriales.

Método térmico a baja temperatura. Existen tres formas de congelación: uso de refrigerante por contacto indirecto, congelación en aire y mediante el uso de refrigerante por inmersión directa. La conservación por congelación además de reducir el crecimiento microbiano, disminuye las reacciones químicas del mismo, sin embargo, el producto final tras un proceso de descongelación causa un gran daño a la estructura del tejido vegetal y genera una pérdida de los nutrientes (Barrett & Lloyd, 2011).

### ***Métodos químicos***

Durante el periodo de poscosecha de los frutos se implementan compuestos químicos como conservantes alimentarios. Entre los conservantes químicos se encuentra el agua clorada, etanol, quitosano y el aceite mineral, siendo el cloro uno de las principales formas de eliminación microbiológica en frutos y vegetales (Linares-Morales et al., 2018). Otros conservantes como ácido benzoico que retarda el crecimiento de microorganismos, ácido sórbico usado en productos con pH 4.5-6.5 y sulfitos empleados en frutos con pH <4.5 (Arias, 2016), son eficientes en la reducción de microorganismo causantes del deterioro de alimentos, sin embargo, una limitación de su uso en el almacenamiento del producto, es el olor y amargor desagradable que le confiere al alimento (Sabir et al., 2011).

### ***Métodos no convencionales***

En estos métodos interviene tecnología avanzada, pueden ser o no ser de aplicación industrial. El tratamiento por alta presión hidrostática, comprime el alimento dentro de su contenedor mediante la utilización de presión, requiere de un leve aumento de temperatura (Arias, 2016); a presión entre 3000-8000 bar, su mecanismo protector consiste en romper las membranas de los microorganismos e inactivar enzimas. Sin

embargo, este método no conviene ser utilizado en alimentos con porosidad fresca, debido a que afecta al oxígeno localizado en la cobertura del alimento (Linares-Morales et al., 2018); generando un rápido deterioro visual u oscurecimiento de algunas clases de frutas.

Los métodos eléctricos óhmicos y de microondas, generan una ruptura celular de la microbiota patógena, mediante calentamiento específico a vapor, distribuido de manera uniforme por conducción hacia áreas localizadas (Barrett & Lloyd, 2011).

El tratamiento por radiación ultravioleta, es fácil de realizar, muy eficiente contra una gran variedad de microorganismos, usada en diversos alimentos del sector industrial, principalmente es usado para tratar el agua, productos líquidos y sólidos (Arias, 2016). Según Linares-Morales et al., 2018, a pesar de la alta capacidad bactericida que ofrece, esta se ve limitada por el equipo empleado que afecta a las propiedades del fruto y en productos líquidos, puede la luz UV ser bloqueada por la turbidez del producto generando una protección a microorganismos causantes del deterioro del alimento.

### ***Métodos naturales***

Los aceites esenciales son sustancias volátiles y aromáticas, catalogados como conservantes naturales sintetizados por las plantas capaces de evitar el deterioro de productos y de controlar la oxidación lipídica. Se ha identificado que varias especies vegetales que pertenecen a géneros como *Cytrus*, *Salvia*, *Thimus*, *Mentha*, *Abies*, *Pinus*, *Mentha*, *Lavandu*, *Rosmarinus*, etc., poseen propiedades antifúngicas (Sánchez-González et al., 2008). Los aceites esenciales están compuestos por una mezcla compleja de bioactivos como compuestos aromáticos y alifáticos, cetonas, ésteres ácidos fenólicos, terpenos y aldehídos (Linares-Morales et al., 2018).

Los recubrimientos comestibles tienen una gran capacidad de adherencia en superficies hidrofílicas, se utilizan como sustitutos de resinas y ceras naturales que han sido eliminadas en el proceso de lavado de los frutos, estos recubrimientos pueden ser hidrocoloides, compuestos o lípidos (Sánchez-González et al., 2008). Las barreras lipídicas como recubrimiento mejoran la apariencia visual de los alimentos y brinda protección contra la humedad, su uso en conjunto con aditivos aumenta su conservación, además mejoras la calidad y funcionalidad de los frutos. Según Corbo et al., 2015, una de las desventajas que pueden presentar es la poca resistencia al vapor, debido a que las proteínas pueden ser susceptibles a enzimas proteolíticas.

### **Generalidades de los frutos**

#### ***Banano***

El banano (*Musa paradisiaca*) es un fruto climatérico tropical; además, tiene forma alargada y ligeramente curvada, con peso aproximado de 100-200g. La cascara es gruesa de color amarillo en su estado maduro, y la pulpa es blanca amarillenta. El banano es un alimento más importante en el mundo tanto por su sabor como por su valor nutritivo, entre las características nutricionales principales se resalta el alto contenido de potasio, vitaminas C y B6, fibras y carbohidratos (Hernández & Vit, 2009). Por otro lado, la calidad sensorial del fruto depende de varias reacciones bioquímicas al interior del fruto a lo largo de la maduración generando cambios en el color, aroma, textura, cantidad de azúcar y acidez (Quiceno et al., 2014).

En Ecuador, las zonas de producción de banano están en la región litoral del país, esto se debe a que mantienen un clima ideal para su cultivo. Las asociaciones bananeras producen y exportan diferentes variedades de este fruto: Banano de Bebé (CJ), Banano orgánico, Banano Tipo Cavendish Valery (Ministerio de Comercio Exterior, 2017). En términos de economía para el 2020, el volumen de exportación de banano fue de

3'947.002 Tm y el banano orgánico de Ecuador constituyó la tercera parte (504 047 Tm) de la exportación de Latinoamérica, equivalente al 18% del total de exportaciones (Asociación de Exportadores de Banano del Ecuador [AEBE], 2021).

En el manejo postcosecha de los frutos se producen pérdidas que van desde el 10 al 80%, ocasionadas por daños mecánicos, presencia de plagas, maduración temprana, deformaciones y la manipulación en general. La principal causa de deterioro de las frutas de banano es por la contaminación con microorganismos, entre ellos un conjunto de hongos, principalmente *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Penicillium*, ocasionando la pudrición de la corona "Crown rot" en el péndulo de la fruta, la enfermedad se caracteriza por el ablandamiento de la superficie de los tejidos y en la corona adquiere un color marrón oscuro o negro que puede esparcirse al resto del fruto (Cartaya Díaz et al., 2011).

**Fisiología de banano en la poscosecha.** Uno de los criterios importantes de poscosecha y consumo del fruto de banano es el grado de madurez. Tras la cosecha, la madurez de los frutos tiene una gran influencia en los prolongados periodos de almacenamiento y la calidad del fruto adecuado para consumo. Es necesario identificar claves de maduración con el fin de asegurar una óptima calidad del fruto para su consumo. Los frutos que son cosechados en un grado de maduración avanzado no son adecuados para exportación debido a su corta duración de almacenamiento y al tiempo prolongado que requiere su transporte (Cachay, 2017).

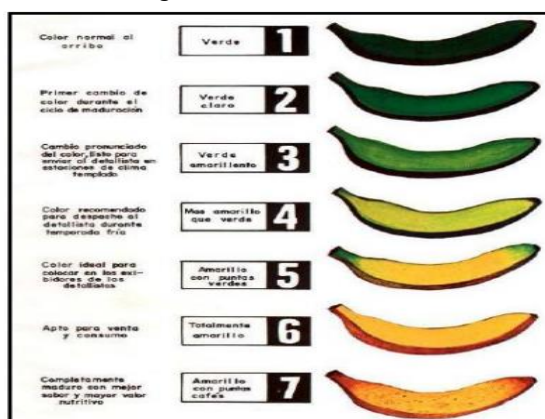
Cachay, 2017; detalla las características de la maduración del banano siguiendo la escala de Von Loesecke:

- Grado 1: dedo duro y verde por completo.
- Grado 2: verde claro.
- Grado 3: verde de color amarillento. En verano, entrega de madurez de entrega al detallista.

- Grado 4: más amarillento que de color verde. En invierno, entrega de madurez de entrega al detallista.
- Grado 5: Amarillento con puntas verdes. Madurez óptima colocada en los estantes de los comerciantes.
- Grado 6. Completamente amarillo. Madurez de venta, Ideal para consumo.
- Grado 7. Amarillo y con manchas o puntos café. Maduración completa, con elevado valor y sabor nutritivo.

**Figura 1.**

*Maduración del fruto de banana según la escala de Von Loesecke.*



*Nota:* Recuperado de (Soto, 2017).

## **Papaya**

La papaya (*Carica papaya L.*) es originaria de Mesoamérica, al ser una especie pantropical se ha distribuido en todas las regiones tropicales y subtropicales de América (Conabio, 2003). En Ecuador, la producción se focaliza en las provincias de Santo Domingo, Los Ríos, Guayas, Manabí y Santa Elena. La superficie de cultivo es de alrededor de 3 917 hectáreas. Las variedades cultivadas son tres: tainung 1, hawaiana y maradol o nacional (El Comercio, 2012).

El fruto de papaya generalmente tiene color anaranjado y sabor dulce. En los últimos años, el interés en este fruto ha crecido debido a las propiedades nutritivas y

múltiples usos gastronómicos que se atribuyen. Entre los principales nutrientes que posee se encuentran vitaminas A y C, niacina, calcio, potasio, sodio, fósforo y hierro (Conabio, 2003).

La papaya requiere de una temperatura de 7-13°C y humedad de 90-95% para una conservación óptima, dependiendo del grado de madurez. Durante el almacenamiento puede ocurrir alteraciones fisiológicas, determinadas por el exceso de frío o calor, dando lugar a la contaminación del fruto con ciertos microorganismos. El hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, es el agente causal de la antracnosis la cual genera pérdida del fruto. Esta infección puede iniciar desde que el fruto, está en la planta, manteniéndose latente hasta la cosecha; en la fruta madura, se pueden observar pequeñas manchas color claro, conforme avanza la enfermedad las manchas se agrandan, se hunden y toma la apariencia húmeda (Maeda & Nelson, 2014).

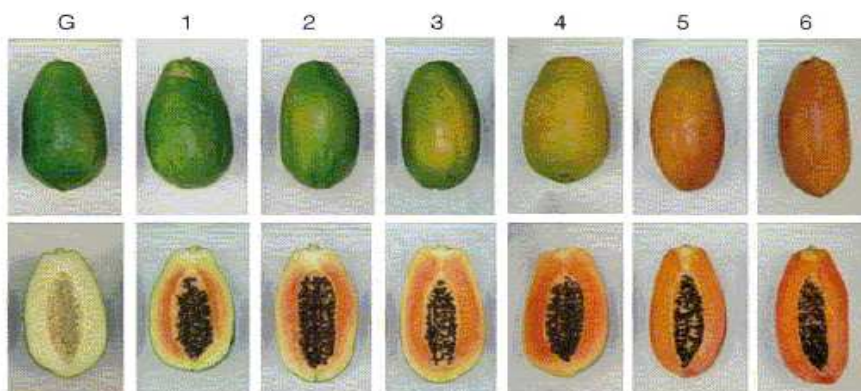
**Fisiología de papaya en la poscosecha.** El periodo inicial de la senescencia del fruto es su maduración, esta etapa conduce a un fruto de calidad, con características sensoriales aceptables por el consumidor, es reconocible por los cambios visibles que se producen, como el ablandamiento, textura, color, aroma y sabor del fruto, inducidos principalmente por la liberación de etileno, debido a que la papaya pertenece al grupo de frutos climatéricos. La maduración puede estar influenciada por procesos metabólicos, cambios físicos y genéticos, factores como disminución del tiempo de crecimiento y menor concentración de inhibidores en el proceso de maduración (Roman, 2017). Santamaría Basulto et al, 2009; informa las características de la papaya según su grado de maduración:

- Fruta verde: Piel verde sin raya amarilla; pulpa muy dura y de color blanco, semillas bien formadas, pero de color blanco o ligeramente oscuro.
- Grado 1: Piel verde con una franja de color amarillo claro; La pulpa presenta algunas zonas de color naranja, es muy dura y contiene gran cantidad de látex.

- Grado 2: Piel verde con franja amarilla bien definida; la pulpa es de color naranja cerca de la cavidad de la semilla y verde claro cerca de la piel, aunque todavía dura y con grandes cantidades de látex.
- Grado 3: Una o más rayas de color naranja en la piel; pulpa casi completamente de color naranja, excepto cerca de la piel, todavía dura, pero contiene menos látex.
- Grado 4: Piel de color naranja claro con algunas áreas de color verde claro; pulpa completamente naranja, excepto cerca del pedúnculo, más blanda que en la etapa 3, pero todavía demasiado dura para el consumo, bajo contenido de látex.
- Grado 5: La piel muestra el color anaranjado característico de la variedad Maradol; Firmeza de la pulpa apropiada para el consumo, el látex ya no está presente.
- Grado 6: Condiciones similares a la etapa 5, pero con un color naranja más intenso en la piel y una pulpa más suave aún adecuada para el consumo.

## Figura 2.

*Visualización interna y externa de papaya en la maduración.*



*Nota:* Recuperado de (Santamaría Basulto et al., 2009).

## CAPÍTULO III

### Materiales y métodos

#### Ubicación del Área de Investigación

##### *Ubicación Política*

|            |                                |
|------------|--------------------------------|
| País:      | Ecuador                        |
| Provincia: | Santo Domingo de los Tsáchilas |
| Cantón:    | Santo Domingo                  |
| Parroquia: | Luz de América                 |
| Sector:    | Vía Quevedo, Km 24             |

##### *Ubicación Ecológica*

|                    |  |
|--------------------|--|
| Zona de vida:      | Bosque húmedo tropical                                       |
| Altitud:           | 224 msnm   |
| Temperatura media: | 24.6 °C  |
| Precipitación:     | 2860 mm año-1  |
| Humedad relativa:  | 85%  |
| Heliofanía:        | 680 horas luz año-1  |
| Suelos:            | Francos Arenoso  |
| Fuente:            | Estación Agro meteorológica "Puerto Ila"; Km 34, Vía Quevedo |

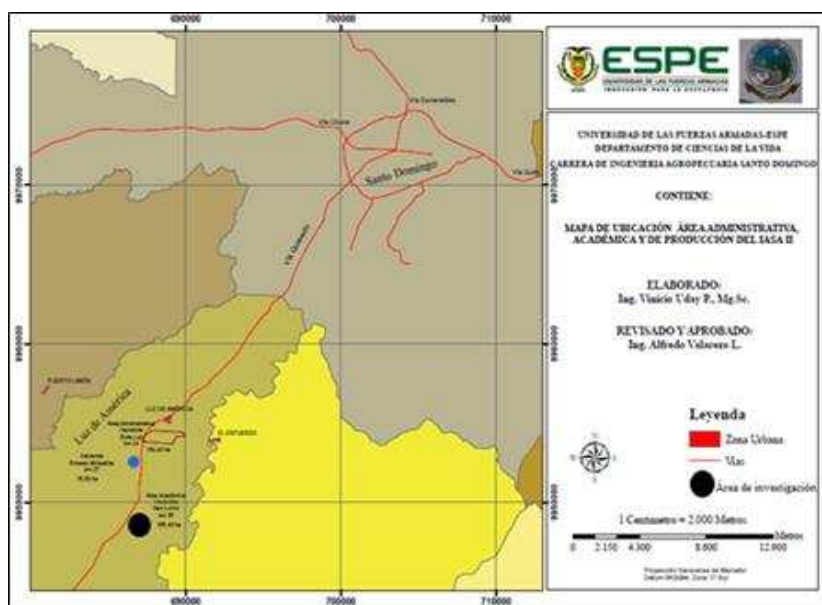


### Ubicación Geográfica

El presente estudio se realizó en los laboratorios de Microbiología de alimentos y Bromatología de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE sede Santo Domingo, en el km 24 de la Vía Santo Domingo-Quevedo en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo.

### Figura 3.

*Ubicación geográfica del área de investigación.*



Latitud: 00° 24' 36"

Longitud: 79° 18' 43"

Altitud: 270 msnm

## Materiales

### *Obtención de bacterias ácido lácticas*

**Tabla 3.**

*Recursos empleados en la obtención de bacterias ácido lácticas.*

| <b>Equipos</b>           | <b>Materiales</b>   | <b>Reactivos</b> | <b>Muestras</b> |
|--------------------------|---|------------------|-----------------|
| Balanza analítica        | Frascos estériles   | NaCl 8.5g/L      | Cuajada         |
| Refrigeradora            | Espátula-cuchara  | Peptona 1 g/L    |                 |
| Micropipeta              | Vidrio reloj  | Medio Agar MRS   |                 |
| Plancha de calentamiento | Vaso de precipitados  | Agua destilada   |                 |
| Agitador magnético       | Tubos de ensayo   |                  |                 |
| Cámara de Flujo laminar  | Lámpara de alcohol<br>Fósforos  |                  |                 |
| Incubadora               | Placas de Petri<br>Tubos de ensayo<br>Puntas para micropipeta<br>Asa de vidrio<br>Drigalsky<br>Placas petri<br>Parafilm |                  |                 |

### **Caracterización morfológica de los aislados BAL**

**Tabla 4.**

*Recursos empleados en la caracterización morfológica de BAL*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>     | <b>Reactivos</b> |
|-------------------------|-----------------------|------------------|
| Cámara de Flujo laminar | Portaobjeto de vidrio | Cristal violeta  |
| Microscopio óptico      | Cubreobjeto de vidrio | Lugol            |
|                         | Gotero                | Alcohol cetona   |
|                         | Vaso de precipitado   | Safranina        |
|                         | Lámpara de alcohol    | Agua destilada   |
|                         | Asa bacteriológica    | Alcohol          |

### **Prueba de catalasa**

**Tabla 5.**

*Recursos empleados en la prueba de catalasa.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>     | <b>Reactivos</b>               | <b>Muestra</b>                       |
|-------------------------|-----------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| Cámara de Flujo laminar | Portaobjeto de vidrio | Peróxido de hidrógeno (3% p/v) | Placa con cultivo bacteriano aislado |
| Autoclave               | Gotero                | Alcohol 70%                    |                                      |
|                         | Lámpara de alcohol    |                                |                                      |
|                         | Asa bacteriológica    |                                |                                      |
|                         | Papel craft           |                                |                                      |

**Prueba de tolerancia al pH****Tabla 6.***Recursos empleados en la prueba de tolerancia al pH.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>     | <b>Reactivos</b> | <b>Muestra</b>                       |
|-------------------------|-----------------------|------------------|--------------------------------------|
| Cámara de Flujo laminar | Tubos de ensayo       | HCl 10 N         | Placa con cultivo bacteriano aislado |
| Incubadora              | Vasos de precipitados | NaOH 1N          |                                      |
| Potenciómetro           | Lámpara de alcohol    | Caldo MRS        |                                      |
| Balanza analítica       | Asa bacteriológica    | Alcohol 70%      |                                      |
| Autoclave               | Pipeta graduada       |                  |                                      |

**Prueba de tolerancia a NaCl****Tabla 7.***Recursos empleados en la prueba de tolerancia a NaCl.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>   | <b>Reactivos</b>     | <b>Muestra</b>                       |
|-------------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------------|
| Cámara de Flujo laminar | Tubos de ensayo     | NaCl al 2, 4, 6 y 8% | Placa con cultivo bacteriano aislado |
| Incubadora              | Vaso de precipitado | Agua destilada       |                                      |
| Balanza analítica       | Lámpara de alcohol  | Caldo MRS            |                                      |
| Autoclave               | Asa bacteriológica  | Alcohol 70%          |                                      |
|                         | Pipeta graduada     |                      |                                      |
|                         | Espátula-cuchara    |                      |                                      |

### ***Determinación de la fermentación de azúcares***

**Tabla 8.**

*Recursos empleados en la determinación de fermentación de azúcares.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>  | <b>Reactivos</b> | <b>Muestra</b>                       |
|-------------------------|--------------------|------------------|--------------------------------------|
| Cámara de Flujo laminar | Tubos de ensayo    | Glucosa 1%       | Placa con cultivo bacteriano aislado |
| Incubadora              | Vaso precipitado   | Fructosa 1%      |                                      |
| Balanza analítica       | Lámpara de alcohol | Sacarosa 1%      |                                      |
| Autoclave               | Asa bacteriológica | Lactosa 1%       |                                      |
|                         | Pipeta graduada    | Rojo fenol 0.1%  |                                      |
|                         | Espátula-cuchara   | Caldo MRS        |                                      |
|                         | Vidrio reloj       | Agua destilada   |                                      |
|                         | Marcadores         | Alcohol 70%      |                                      |

### ***Recuento de UFC y densidad óptica de BAL***

**Tabla 9.**

*Recursos empleados en el recuento de UFC y D.O. de BAL.*

| <b>Equipos</b>       | <b>Materiales</b>       | <b>Reactivos</b>  | <b>Muestra</b> |
|----------------------|-------------------------|-------------------|----------------|
| Micropipeta          | Lámpara de alcohol      | Caldo MRS         | Cultivo de BAL |
| Espectrofotómetro    | Tubos de ensayo         | Agua destilada    |                |
| Contador de colonias | Puntas para micropipeta | Peptona 0.5%      |                |
|                      |                         | Láminas Petrifilm |                |

***Determinación de inhibición entre BAL y microbiota de los frutos***

**Tabla 10.**

*Recursos empleados en la inhibición de BAL y microbiota de los frutos.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>             | <b>Reactivos</b> | <b>Muestra</b>  |
|-------------------------|-------------------------------|------------------|---|
| Cámara de Flujo laminar | Placas de Petri estériles     | Agar             | Solución libre de células (SLC) a partir de aislados BAL<br>Cultivo líquido con la microbiota de los frutos |
| Incubadora              | Discos de papel filtro 5.5 mm | Mueller-Hinton   |   |
| Micropipeta             | Hisopos estériles             | Caldo MRS        |   |
|                         | Fósforos                      |                  |   |
|                         | Marcadores                    |                  |   |
|                         | Lámpara de alcohol            |                  |   |
|                         | Asa bacteriológica            |                  |   |
|                         | Puntas para micropipeta       |                  |   |
|                         | Pinzas de disección           |                  |   |
|                         | Papel film                    |                  |   |
|                         | Papel craft                   |                  |   |
|                         | Papel aluminio                |                  |   |

**Determinación de pH****Tabla 11.***Recursos empleados en la determinación de pH.*

| <b>Equipos</b>          | <b>Materiales</b>  | <b>Reactivos</b> | <b>Muestras</b> |
|-------------------------|--|------------------|-----------------|
| Balanza analítica       | Espátula-cuchara   | Agua destilada   | Banano          |
| Potenciómetro           | Vidrio reloj   |                  | Papaya          |
| Plancha de<br>agitación | Vaso de precipitado<br>Probeta 100 mL<br>Mortero y pistilo |                  |                 |

**Determinación de sólidos solubles****Tabla 12.***Recursos empleados en la determinación de sólidos solubles.*

| <b>Equipos</b>                              | <b>Materiales</b>  | <b>Reactivos</b> | <b>Muestras</b> |
|---|--|------------------|-----------------|
| Balanza analítica                           | Espátula-cuchara   | Agua destilada   | Banano          |
| Refractómetro<br>digital                    | Vidrio reloj<br>Vaso de precipitado                              |                  | Papaya          |
| Plancha de<br>calentamiento con<br>agitador | Probeta 100 mL<br>Matraz erlenmeyer<br>Embudo<br>Gasas estériles |                  |                 |

**Determinación de acidez titulable****Tabla 13.***Recursos empleados en la determinación de acidez titulable.*

| <b>Equipos</b>           | <b>Materiales</b>   | <b>Reactivos</b> | <b>Muestras</b> |
|--------------------------|---------------------|------------------|-----------------|
| Balanza analítica        | Espátula-cuchara    | Agua destilada   | Banano          |
| Equipo de titulación     | Vaso de precipitado | NaOH 0.1N        | Papaya          |
| Potenciómetro            | Probeta 100 mL      |                  |                 |
| Agitador magnético       | Mortero y pistilo   |                  |                 |
| Plancha de calentamiento | Matraz erlenmeyer   |                  |                 |
| Baño maría               | Embudo              |                  |                 |
|                          | Gasas estériles     |                  |                 |

**Determinación del periodo de validez****Tabla 14.***Recursos empleados en la determinación del periodo de validez.*

| <b>Equipos</b>  | <b>Reactivos</b>                                       | <b>Muestra</b>   |
|---|--|------------------|
| Cámara de Flujo laminar                                     | Agua esteril   | Frutos de banana |
| Smartphone con sistema operativo MIUI, 48 mp,f/1.79, 1.6 um | Solución libre de células en distintas concentraciones | Frutos de papaya |



**Determinación microbiológica****Tabla 15.***Recursos empleados en la determinación microbiológica.*

| <b>Equipos</b>                        | <b>Materiales</b>   | <b>Reactivos</b>    | <b>Muestras</b> |
|---------------------------------------|---------------------|---------------------|-----------------|
| Balanza analítica                     | Espátula-cuchara    | Agua de peptona     | Banano          |
| Agitador magnético                    | Vidrio reloj        | 0,5%                | Papaya          |
| Plancha de calentamiento con agitador | Vaso de precipitado | Alcohol potable     |                 |
|                                       | Probeta 100 mL      | 96%                 |                 |
| Incubadora                            | Tubos de ensayo     | Lámina de Petrifilm |                 |
| Micropipeta                           | Gradilla            |                     |                 |
| Cámara de flujo laminar               | Puntas estériles    |                     |                 |
| Vortex                                | Pipeta graduada     |                     |                 |
| Contador de colonias                  | 10mL                |                     |                 |
|                                       | Lámpara de alcohol  |                     |                 |
|                                       | Fósforos            |                     |                 |

## **Métodos**

### ***Obtención de bacterias ácido lácticas***

Se recolectaron muestras de cuajada en frascos estériles, los cuales se sellaron herméticamente. Las muestras fueron almacenadas a temperatura de 0-4°C hasta su respectivo análisis en el laboratorio.

Se preparó una solución diluyente (NaCl 8.5g/L y peptona 1 g/L). Con la muestra de cuajada recolectada, se preparó una disolución, se tomó 1 mL de cuajada y 9 mL de solución diluyente. Luego se prepararon diluciones seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-5}$ ) para obtener alícuotas de la muestra.

### ***Siembra y aislamiento de BAL en Agar MRS***

La siembra por extensión en superficie en placa de agar, se realizó por duplicado, para lo cual se tomó una alícuota de 0,1 mL de cada dilución ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  y  $10^{-5}$ ) y se colocó en medio de cultivo selectivo para el crecimiento de *Lactobacillus spp.*, Agar MRS; la concentración de Agar utilizado (67.15g en 1000 mL) y su preparación se realizó siguiendo las instrucciones que indica el fabricante (Titan Biotech Ltd). Se pipeteo la alícuota de cada inóculo y se extendió sobre la superficie del medio agar correspondiente para su homogeneización. Se incubó a 37°C durante 24 a 48 horas, en condiciones anaeróbicas.

### ***Caracterización morfológica de los aislados BAL***

Para observar la morfología de las bacterias aisladas, estas fueron inoculadas en agar e incubadas a 37 °C durante 48 horas. Luego se realizó una tinción Gram, se observó en microscopio OLYMPUS CX21 con aumento de 100x.

**Tinción de Gram.** Para diferenciar bacterias Gram positivas de bacterias Gram negativas mediante la tinción de Gram se añadió en un portaobjeto de vidrio una gota de agua destilada, luego manteniendo condiciones asépticas con un asa bacteriológica se recogió una muestra de la colonia del cultivo puro y se extendió sobre la gota de agua colocada en el portaobjeto, se fijó usando lámpara de alcohol y se dejó secar.

Secada la muestra se realiza la tinción, para lo cual se añadió 2 gotas de cristal violeta sobre el frotis durante 1 minuto, se enjuagó con agua destilada para quitar el exceso de la tinción. Luego se agregó 2 gotas de lugol durante 1 minuto y se lavó con agua. Después se añadió alcohol cetona, dejando actuar el decolorante durante 15 segundos para luego lavar con agua. Se añadió 2 gotas de safranina por 1 min y se lavó para quitar el exceso. Finalmente se utilizó lente y aceite de inmersión para su observación en el microscopio.

### ***Caracterización bioquímica de aislados BAL***

**Prueba de catalasa.** Se colocó una gota de peróxido de hidrógeno (3% p/v) sobre un portaobjeto de vidrio estéril, posteriormente se agregó el cultivo puro a analizar, obtenido por raspado en placa de agar que contenía al cultivo, se mezcló la gota de peróxido con la colonia bacteriana y se observó la reacción.

La prueba es positiva si presenta burbujas, caso contrario se considera catalasa negativa.

### ***Caracterización probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales***

**Prueba de tolerancia al pH.** Se preparó caldo MRS a diferente valor de pH (2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8) utilizando HCl 10 N y NaOH 1N. Se colocaron inóculos de cultivo

bacteriano en los tubos de ensayo con el respectivo medio MRS y se incubaron a 37° C durante 24 h, utilizando un tubo con medio MRS como control negativo.

Transcurridas las 24h y 48h se observó turbidez en los medios de cultivo, mientras que en el control negativo no hubo crecimiento bacteriano.

**Prueba de tolerancia a NaCl.** Se determinó usando el medio MRS con 2, 4, 6 y 8% de concentración de NaCl. Se colocaron inóculos de cultivo fresco y se incubó a 37°C por 24 h. Los resultados se observaron con la turbidez o no del medio, transcurridas 24 h, en el control negativo no hubo crecimiento.

**Determinación de la fermentación de azúcares.** Se utilizó 1% (p/v) de azúcares (glucosa, fructosa, sacarosa y lactosa) en caldo MRS, además se colocó rojo fenol (0.1% p/v) como indicador. Se dispensó 10 ml de medio de cultivo en cada tubo de ensayo. Se inoculó con cultivo bacteriano fresco y se incubó a 37° C durante 24 h. El resultado positivo se observó por el cambio de la coloración.

#### ***Prueba de tamizaje para evaluar la capacidad antimicrobiana***

Las colonias aisladas de BAL se evaluaron frente a los aislados de la flora bacteriana causantes de la pudrición de las frutas, mediante el método de difusión por pozos. Para lo cual, las BAL se cultivaron en caldo MRS a 37 °C durante 24 h, posteriormente se sembraron 200 uL del cultivo de BAL en placa de agar MRS y se incubaron a 30 °C por 24h. Finalizada la incubación, se preparó caldo nutritivo y se sembró 100 uL del microorganismo patógeno aislados de las frutas en el medio líquido por 24 h, del cual se tomó 1 mL y se colocó sobre cada placa de agar MRS. Se incubó nuevamente a 37 °C durante 24 h.

Las placas consideradas como positivas fueron aquellas que presentaron zonas de inhibición igual o mayor a 2mm, lo cual permitió seleccionar a los aislados con mayor capacidad antimicrobiana para la flora bacteriana de ambos frutos.

### ***Aislamiento de la microbiota de los frutos***

Se recolectaron frutas muy maduras y estropeadas, tanto de banana como de papaya hawaiana del mercado municipal de Santo Domingo de los Tsáchilas. La recolección de la flora bacteriana a partir de las muestras frutales se realizó en condiciones asépticas en el laboratorio de microbiología de alimentos de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, para lo cual se empleó hisopos estériles previamente sumergidos en solución salina (0,85%), luego estos hisopos empleados fueron colocados en tubos de vidrio que contenían distintas concentraciones de soluciones salinas. Después se tomó 0.2 ml de cada solución salina y se inoculó la flora bacteriana en una placa de petri de agar nutriente, la cual fue incubada a 37 °C por 24 h. Transcurridas las 24 h se contó las UFC de la placa de petri.

### ***Cinética de crecimiento de BAL***

Se tomó una alícuota de cada aislado BAL (cuatro aislados), previamente conservados y se inoculó en 20 ml de caldo MRS, el cultivo se llevó a incubación a 37°C por 24 h, transcurridas el tiempo de incubación, se colocó el cultivo en un matraz Erlenmeyer que contenía 180 ml de caldo MRS. Se recogieron muestras de 1ml del cultivo líquido a las 0h, 6h, 24h, 30h; y se midió la densidad óptica a 600 nm, en un espectrofotómetro Thermo Scientific. Se inoculó 1 ml de cada muestra en láminas de petrifilm para el recuento de unidades formadoras de colonias por ml (UFC/ml). Con los valores de biomasa y la densidad óptica del cultivo se elaboraron curvas del crecimiento bacteriano.

### **Recuento de UFC de BAL**

Se empleó el método de siembra por duplicado en láminas petrifilm de aislados BAL, luego se coloraron a 38 °C durante 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se empleó el contador de colonias Colony Counter ISOLAB; a las colonias sembradas por duplicado se les calculó la media aritmética de UFC. Se realizó el conteo de UFC empleando la siguiente ecuación:

$$UFC = \#Colonia \times volumen \ de \ dilución \times Factor \ dilución$$

### **Obtención de solución libre de células para bioensayo de antagonismo**

De los cultivos bacterianos BAL, a las 48h de crecimiento, se llevaron los caldos de cultivo a centrifugación a 10.000xg a 4°C durante un tiempo de 20 min, se utilizó la centrífuga Fisher Scientific para obtener la solución libre de células (SLC). Luego para eliminar los efectos producidos por los ácidos orgánicos presentes en el extracto, esta solución fue ajustada a pH 6 con NaOH 1N para luego ser filtrada. El SLC fue usado para los bioensayos antagónicos a diferentes concentraciones de BAL como se muestra en la Tabla 16. Los SLC sobrantes, se conservaron a 4 °C para su posterior uso como recubrimiento antimicrobiano.

**Tabla 16.**

*Concentraciones de SLC para los bioensayos de antagonismo.*

| Concentración (UA/mL) | Dilución seriada en base 2 |
|-----------------------|----------------------------|
| b0: $4 \times 10^3$   | (1/ 4)                     |
| b1: $8 \times 10^3$   | (1/ 8)                     |
| b2: $16 \times 10^3$  | (1/16)                     |
| b3: $32 \times 10^3$  | (1/32)                     |

### ***Bioensayos de inhibición entre BAL y la microbiota de los frutos***

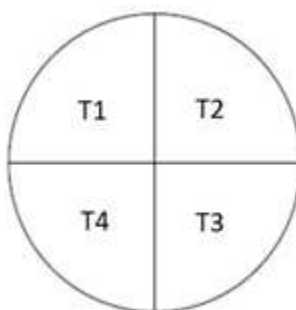
La actividad antagonista de la sustancia producida por las BAL se determinó empleando el método de difusión en disco de Kirby Bauer, para esta prueba se utilizó el medio agar Mueller-Hinton (38 g en 1000 ml agua), en el cual se inoculó de manera uniforme y aséptica la flora bacteriana de la fruta, utilizando un hisopo. Luego, se dividió en cuatro regiones la placa petri (Figura 4) y se colocaron en el medio de cultivo discos de papel filtro, previamente impregnados con diferentes concentraciones del caldo de cultivo de BAL. Este procedimiento evaluó cuatro concentraciones de SLC por la flora bacteriana de cada fruta y se realizó por triplicado. Para obtener las distintas concentraciones de SLC a partir de caldo BAL, se realizaron 4 diluciones seriadas en base 2, respectivamente (Tabla 16), luego se tomó 30 uL de cada dilución seriada y se colocó en discos individuales de papel filtro de 5.5 mm de diámetro contenidos en una placa de Petri estéril.

### ***Preparación del recubrimiento bioprotector de los frutos***

Los frutos de banano y papaya recibieron un pretratamiento, fueron sumergidos en una solución al 0.075 % del cloro comercial para su desinfección. El recubrimiento bioprotector se preparó a partir del SLC conservado en refrigeración, esta solución se diluyó en agua estéril. La superficie de los frutos fue pulverizada con las soluciones a diferentes concentraciones de SLC ( $4 \times 10^3$ ,  $8 \times 10^3$  y  $16 \times 10^3$  UA/mL) manteniendo un grupo control con frutas pulverizadas en agua estéril. Luego, las frutas se dejaron secar al aire libre durante una hora, de manera que se seque la superficie. Se almacenaron a temperatura ambiente (Aproximadamente 23°C) dentro del laboratorio, conservando las frutas a diferentes periodos se observó su apariencia hasta determinar su deterioro.

**Figura 4.**

*Divisiones en la placa petri para ensayo de actividad antagonista.*



### **Diseño experimental para evaluar la SLC frente a la microbiota de los frutos**

#### ***Factores del experimento***

**Tabla 17.**

*Factores y Niveles a estudiar en la evaluación de las bacterias ácido lácticas con capacidad probiótica para la conservación de: banano (*M. paradisiaca* L.) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.).*

| <b>Factores</b>                                | <b>Niveles</b>   |
|--|--|
| A: Microbiota del Fruto                        | a0: Banano<br>a1: Papaya hawaiana  |
| B: Concentración de la sustancia bioprotectora | b0: $4 \times 10^3$ UA/mL (1/4)<br>b1: $8 \times 10^3$ UA/mL (1/8)<br>b2: $16 \times 10^3$ UA/mL (1/16)<br>b3: $32 \times 10^3$ UA/mL (1/32) |



### **Tratamientos a comparar**

**Tabla 18.**

*Tratamientos a comparar en la evaluación de BAL con capacidad probiótica para la conservación de banano (*M. paradisiaca* L.) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.).*

| Tratamiento | Factores | Descripción   |
|-------------|----------|---|
| T1          | a0b0     | Banano + concentración de la sustancia bioprotectora $4 \times 10^3$ UA/mL  |
| T2          | a0b1     | Banano + concentración de la sustancia bioprotectora $8 \times 10^3$ UA/mL  |
| T3          | a0b2     | Banano + concentración de la sustancia bioprotectora $16 \times 10^3$ UA/mL |
| T4          | a0b3     | Banano + concentración de la sustancia bioprotectora $32 \times 10^3$ UA/mL |
| T5          | a1b0     | Papaya + concentración de la sustancia bioprotectora $4 \times 10^3$ UA/mL  |
| T6          | a1b1     | Papaya + concentración de la sustancia bioprotectora $8 \times 10^3$ UA/mL  |
| T7          | a1b2     | Papaya + concentración de la sustancia bioprotectora $16 \times 10^3$ UA/mL |
| T8          | a1b3     | Papaya + concentración de la sustancia bioprotectora $32 \times 10^3$ UA/mL |

### **Tipo de diseño experimental**

En este estudio se aplicó un diseño factorial AxB (2x4), conformando un total de 8 tratamientos con cuatro repeticiones por tratamiento. El modelo estadístico de este diseño es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, b; \quad k = 1, 2, \dots, c;$$

Donde:

- $\mu$  = media global
- $\alpha$  = efecto del nivel  $i$ -ésimo del factor A
- $\beta$  = efecto del nivel  $j$ -ésimo del factor B
- $(\alpha\beta)_{ij}$  = efecto de la interacción doble del factor A por el factor B.
- $\epsilon_{ijk}$  = error aleatorio
- $k$  = número de replicaciones del experimento

### **Repeticiones**

El diseño del experimento se conformó de cuatro repeticiones por tratamiento, con un total de 32 unidades experimentales.

### **Análisis estadístico**

#### **Esquema de análisis estadístico**

**Tabla 19.**

*Esquema del análisis de varianza para evaluar BAL con capacidad probiótica en la conservación de banano (*M. paradisiaca* L.) y papaya hawaiana (*Carica papaya* L.).*

| <b>Fuente de variación</b>   |             | <b>Grados de libertad</b> |
|------------------------------|-------------|---------------------------|
| Fruto                        | a-1         | 1                         |
| Concentración de SLC         | b-1         | 3                         |
| Fruto x Concentración de SLC | (a-1) (b-1) | 3                         |
| Réplicas                     | r-1         | 3                         |
| Error experimental           |             | 21                        |
| Total                        | abr-1       | 31                        |

## **Análisis funcional**

A fin de establecer diferencia entre las medias de los tratamientos e identificar grupos independientes se realizó una comparación de medias múltiple, para lo cual se utilizó la prueba de significancia LSD de Fisher ( $p < 0.05$ ).

## **Variable a medir**

### ***Diámetro de inhibición de la sustancia bioprotectora***

La actividad antagonista de la sustancia producida por las BAL se determinó mediante el método de difusión en disco de Kirby Bauer. Se registró el diámetro del halo inhibitorio formado al evaluar cuatro tratamientos: tres concentraciones de SLC y el control sin SLC, frente a la flora bacteriana de cada fruta y se realizó por triplicado.

## **Diseño experimental para evaluar la SLC en la conservación de los frutos**

### ***Factor del experimento***

El factor de estudio es la evaluación de diferentes concentraciones de solución bioprotectora producida por bacterias ácido lácticas en la conservación de banano y papaya.

***Tratamientos a evaluar en frutos de banano***

**Tabla 20.**

*Tratamientos a comparar en la evaluación de la sustancia bioprotectora producida por BAL en la conservación de banano*

| <b>Tratamiento</b> | <b>Descripción</b>   |
|--------------------|--|
| T1                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $4 \times 10^3$ UA/mL  |
| T2                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $8 \times 10^3$ UA/mL  |
| T3                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $16 \times 10^3$ UA/mL |
| T4                 | Control sin sustancia bioprotectora                                |

***Tratamientos a evaluar en frutos de papaya***

**Tabla 21.**

*Tratamientos a comparar en la evaluación de la sustancia bioprotectora producida por BAL en la conservación de papaya*

| <b>Tratamiento</b> | <b>Descripción</b>   |
|--------------------|--|
| T1                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $4 \times 10^3$ UA/mL  |
| T2                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $8 \times 10^3$ UA/mL  |
| T3                 | Concentración de la sustancia bioprotectora $16 \times 10^3$ UA/mL |
| T4                 | Control sin sustancia bioprotectora                                |

### ***Tipo de diseño experimental***

En este estudio se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), conformando de 4 tratamientos con tres repeticiones por tratamiento. El diseño sigue el modelo lineal:

$$y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

- $Y_{ij}$  = Variable respuesta en la  $i$ -ésima repetición del  $j$ -ésimo tratamiento
- $\mu$  = Media general
- $T_i$  = Efecto del tratamiento  $i$ .
- $\epsilon_{ijk}$  = Error aleatorio

### ***Repeticiones***

El diseño del experimento se conformó de tres repeticiones por tratamiento, con un total de 12 unidades experimentales.

### **Análisis estadístico**

#### ***Esquema de análisis estadístico***

#### **Tabla 22.**

*Esquema del análisis de varianza para evaluar la sustancia bioprotectora producida por en la conservación de banano y papaya.*

| <b>Fuente de variación</b> | <b>Grados de libertad</b> |
|----------------------------|---------------------------|
| Tratamiento                | 3                         |
| Error experimental         | 8                         |
| Total                      | 11                        |

## **Análisis funcional**

A fin de establecer diferencia entre las medias de los tratamientos e identificar grupos independientes se realizó una comparación de medias múltiple, para lo cual se utilizó la prueba de significancia LSD de Fisher ( $p < 0.05$ ).

## **Variables a medir**

### ***Determinación de la pérdida de peso***

La pérdida de peso se evaluó registrando el peso diario de los frutos de cada tratamiento durante un periodo de almacenamiento de diez días. Los datos registrados fueron utilizados en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{\text{peso inicial (g)} - \text{peso actual (g)}}{\text{peso inicial (g)}} \times 100$$

### ***Determinación de pH***

El pH de la pulpa de las frutas fue medido con un potenciómetro digital mettler toledo que indica directamente el valor de pH de la muestra. Para ello, se pesó 10 g de pulpa de la fruta y se colocó en 100ml de agua destilada, se agitó suavemente, se insertó el electrodo en la muestra y se dio lectura de la cantidad de ión hidrógeno (NTE INEN, 389,1985). El equipo se calibró antes de cada medición.

### ***Determinación de Sólidos solubles***

Se utilizó un refractómetro digital ATAGO N-1 en la medición del porcentaje de Grados Brix (0-32%) de los frutos de papaya y banana. Para la preparación de la muestra y la determinación de sólidos solubles de banano se siguió la norma (NTE INEN, 380,1985) que se detalla a continuación:

Para el fruto de banano, se tomó 30 g de la pulpa macerada del fruto y se colocó en agua destilada (100 ml), seguidamente se llevó a ebullición durante 2 minutos, se dejó enfriar y luego se procedió a filtrar la mezcla empleando gasas estériles. De la solución filtrada se colocó de 2 a 3 gotas en el cristal del refractómetro y se dio lectura al porcentaje de masa de sacarosa.

Para la determinación de sólidos solubles de papaya se recolectó el líquido de la pulpa macerada del fruto. Luego se añadieron 2 a 3 gotas del líquido obtenido en el cristal del refractómetro y se procedió a leer de manera directa el porcentaje de masa de sacarosa. La determinación del porcentaje de sólidos solubles se realizó empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ SST} = \frac{\text{sto} + \text{ste}}{\text{sto}}$$

Donde:

- %SST= porcentaje de sólidos solubles totales
- sto= peso de la muestra (g)
- ste= volumen del diluyente (ml)

#### ***Determinación de acidez titulable***

Para la determinación de la acidez titulable de las frutas de banano y papaya se empleó el método potenciómetro de referencia para muestras sólidas de acuerdo a la (NTE INEN, 381,1985). Para ello, se pesó 25 g de pulpa de la fruta, se diluyó en 50 ml de agua destilada caliente, se colocó la muestra en baño maría con agitación constante durante 30 minutos, la solución se dejó enfriar, se aforó con agua destilada a 250 mL y se filtró utilizando gasas estériles. Se tomó 25 mL de la solución filtrada, se procedió a añadir gotas de NaOH 0.1 N y se registró el volumen de NaOH consumido hasta

alcanzar los siguientes valores de pH: 6; 7 y 8,30. Se determinó la acidez titulable utilizando como referencia el ácido málico y ácido cítrico para banano y papaya, respectivamente. Los cálculos se realizaron empleando la siguiente fórmula:

Donde:

$$A = \frac{V_1 N_1 M}{V_2}$$

- A= g de ácido por cada producto (100 g)
- V1= cm<sup>3</sup> de NaOH 0.1N empleados
- N1= normalidad de NaOH
- M= Peso molar del ácido referencia
- V2= Volumen de la muestra

#### ***Determinación de la vida útil***

La vida útil de los frutos se determinó considerando los días de almacenamiento hasta que alcanzaron la apariencia visual aceptada para consumo. Se evaluó la etapa de maduración mediante un registro fotográfico de cada tratamiento de los frutos hasta que la apariencia comercial y/o poscomercial fueron aceptables.

#### ***Determinación de la calidad microbiológica***

La microbiota de los frutos se evaluó para cada tratamiento por duplicado, mediante conteo de UFC/mL utilizando láminas de Petrifilm. Para la preparación de las muestras se pesó 10 g de fruta que se colocaron en 90 mL de agua peptonada (0.5%), se tomó una alícuota de 1ml y se realizó diluciones seriadas. Las láminas de petrifilm se inocularon con un 1ml de la dilución 10<sup>-7</sup>, luego se colocaron en incubación a 38°C durante 48h para recuento de aerobios y 72h para el recuento de mohos y levaduras.



## CAPÍTULO IV

### Resultados

#### Caracterización de la cuajada y aislamiento de BAL

La tabla 23 detalla los valores de la determinación analítica realizada en la cuajada de leche bovina previa a la obtención de bacterias ácido lácticas. A partir de las muestras de leche cuajada (cuajo enzimático) se obtuvo el aislamiento de 10 colonias bacterianas en medio Agar MRS.

#### Tabla 23.

*Características de la cuajada de la leche.*

| Parámetro estadístico | Ph           | °Brix [%]    | Acidez titulable [%] |
|-----------------------|--------------|--------------|----------------------|
| Media                 | 5,22 ± 0,007 | 6,67 ± 0,294 | 0,29 ± 0,003         |

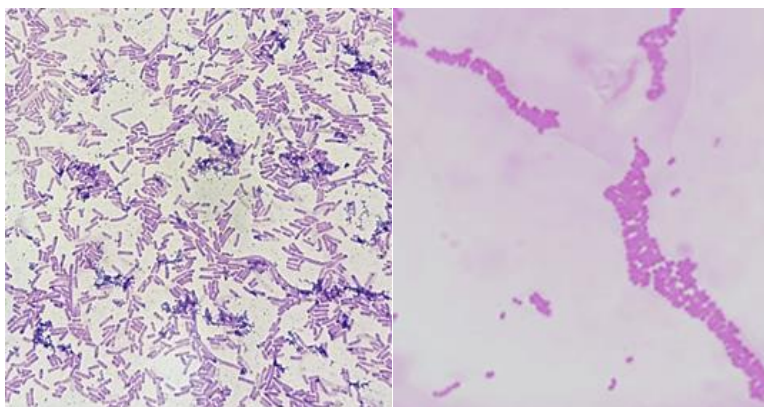
#### Identificación de los aislados BAL

##### *Caracterización morfológica*

**Tinción gram.** De las colonias cultivadas en medio MRS, se seleccionaron aquellas que presentaron de 1 a 3 mm de diámetro con color blanco cremoso. Luego de realizar la tinción gram de las colonias aisladas, 9 fueron observadas en el microscopio óptico e identificadas como gram positivas, de morfología bacilos y cocos (Figura 5).

**Figura 5.**

*Morfología de colonias aisladas de BAL en microscopio óptico 100x.*



*Nota: A) Fotografía de BAL con morfología bacilar; B) BAL con morfología cocoide.*

**Pruebas bioquímicas**

**Catalasa.** Se determinó que los microorganismos aislados son catalasa negativa, en su totalidad (100%) no presentaron descomposición del peróxido de hidrógeno, siendo ausente la formación de oxígeno (burbujas).

**Caracterización probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales**

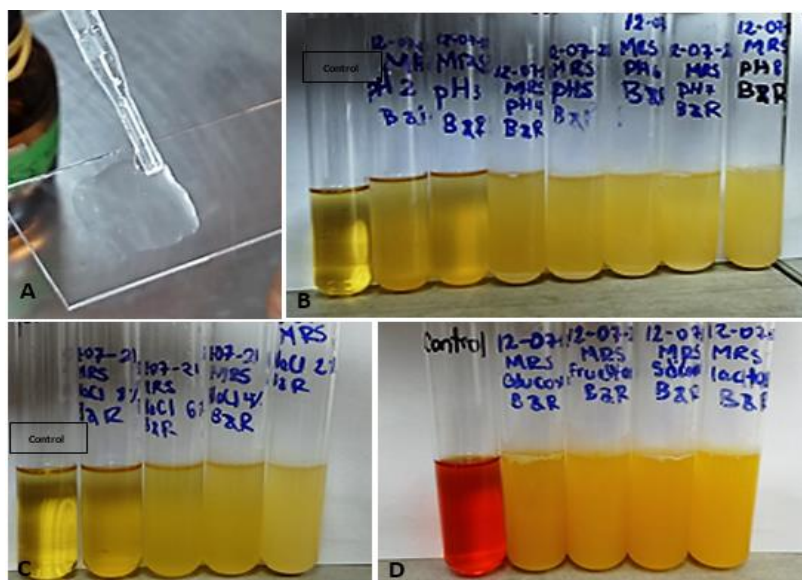
**Tolerancia al pH.** Luego de 24 horas de incubación se obtuvo el crecimiento de todos los aislados, se observó turbidez en los diferentes medios a distinto pH (2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8).

**Tolerancia a las sales.** Todas las colonias evaluadas presentaron crecimiento en los medios de cultivo a diferente concentración de NaCl (2, 4, 6 y 8%).

**Fermentación de azúcares.** El crecimiento bacteriano fue satisfactorio en los aislados evaluados, mostrando su capacidad para fermentar glucosa, sacarosa, fructosa y lactosa. El crecimiento en estas condiciones y la capacidad de fermentación de carbohidratos, inducen a que las bacterias evaluadas presentan un perfil similar a bacterias del género *Lactobacillus spp.*

## Figura 6.

### Evaluación probiótica de BAL en condiciones gastrointestinales



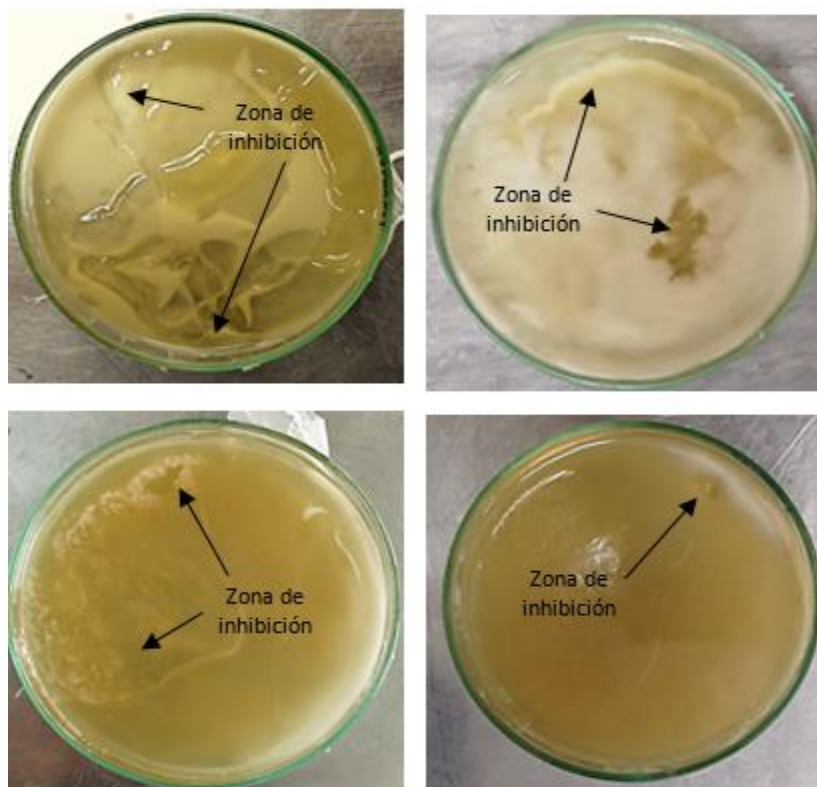
Nota: A) Catalasa (-) de colonias bacterianas aisladas. B) Crecimiento bacteriano a diferente pH. C) Crecimiento bacteriano a diferente concentración de NaCl. D) Fermentación de azúcares de las colonias bacterianas aisladas.

### Tamizaje de aislados para evaluar la capacidad antimicrobiana

De los 9 aislados de BAL evaluados por el método de mancha sobre el agar se observó que 5 no exhibieron capacidad antimicrobiana con respecto a la microbiota aislada de los frutos. Sin embargo, 4 aislados bacterianos presentaron un efecto inhibitorio sobre la microbiota del banano y 2 de ellos frente a la microbiota de la papaya.

## Figura 7.

*Tamizaje de las BAL con actividad antimicrobiana.*



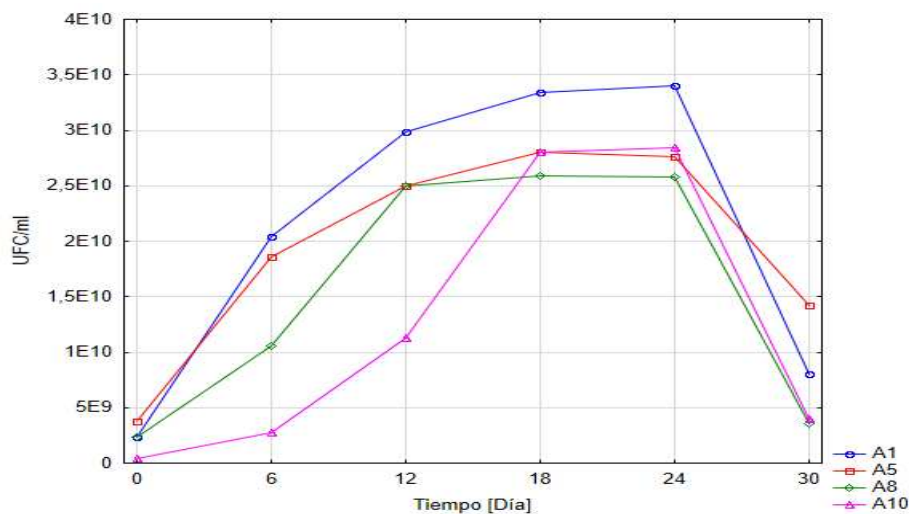
## Cinética de crecimiento de BAL

Se seleccionaron 4 aislados de BAL con capacidad antimicrobiana (A1, A5, A8 y A10), en la figura -se muestra la cinética de crecimiento en UFC/ml con respecto al tiempo.

Se determinó que la fase de mayor crecimiento bacteriano fue desde las 12h hasta las 24h de incubación, luego las bacterias detienen la reproducción y asciende la cantidad de células muertas (Figura 8). A la hora cero, los aislados bacterianos A1, A5, A8 y A10 presentaron un crecimiento inicial respectivo a  $2,3 \times 10^{-5}$ ;  $3,8 \times 10^{-5}$ ;  $2,4 \times 10^{-5}$  y  $4,2 \times 10^{-6}$  UFC/ml. El aislado A1 presentó un mayor crecimiento a las 24h con  $3,4 \times 10^{-4}$  UFC/ml; A5 con  $2,8 \times 10^{-4}$  UFC/ml a las 18h; A8 con  $2,6 \times 10^{-4}$  UFC/ml a las 18h y A10 con  $2,8 \times 10^{-4}$  UFC/ml a las 18h; presentando un descenso a partir de las 24 h.

**Figura 8.**

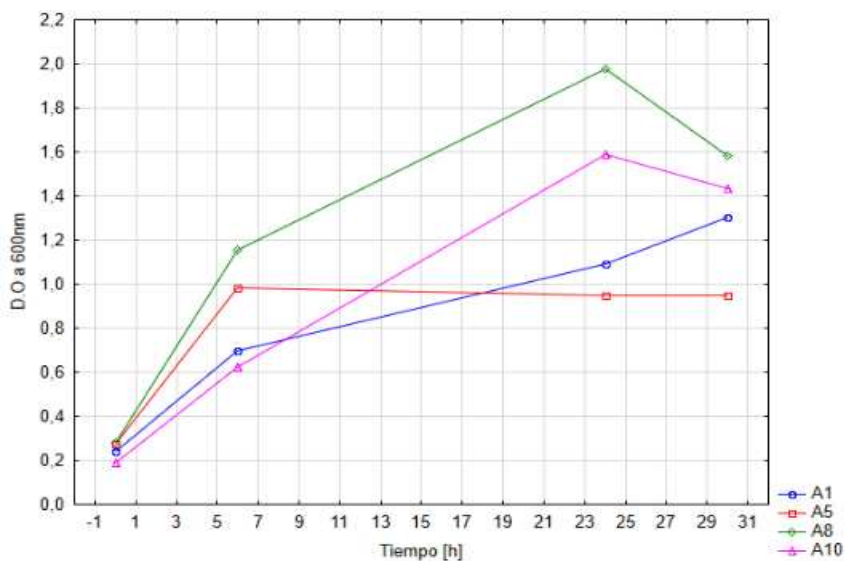
*Cinética de crecimiento de BAL por recuento de UFC/ml*



En la figura 9 se muestra el crecimiento medido por densidad óptica (D.O.), la curva presenta un aumento durante la fase exponencial desde la hora 6; siendo el aislado A8 el que presenta mayor D.O. (1,98) a las 24h, seguido por A10 con 1,589 D.O. a las 24h, A1 con 1,302 D.O. a las 30 h y A5 con 0,984 D.O. a las 6h, permaneciendo en periodo estacionario hasta las 24h.

**Figura 9.**

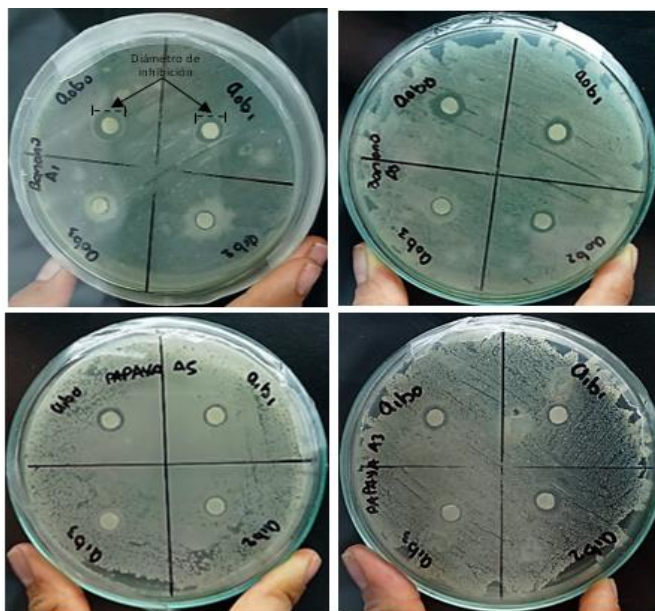
*Cinética de crecimiento de BAL mediante la medida de D.O*



## Bioensayos de inhibición de la sustancia bioprotectora producida por BAL

**Figura 10.**

*Diámetro de inhibición de la SLC frente a la microbiota de los frutos.*



**Análisis de varianza del diámetro de inhibición**

**Tabla 24.**

*Análisis de varianza de la Inhibición de BAL frente a la microbiota de los frutos.*

| Fuente de Variación                         | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P  |
|---|-------------------|--------------------|----------------|---------|----------|
| A: Microbiota del Fruto                     | 19,531            | 1                  | 19,531         | 56,818  | 0,000000 |
| B: Concentración de sustancia bioprotectora | 16,781            | 3                  | 5,594          | 16,273  | 0,000011 |
| Efecto AB                                   | 3,406             | 3                  | 1,135          | 3,303   | 0,040195 |
| Réplicas                                    | 2,031             | 3                  | 0,677          | 1,970   | 0,149438 |
| Error                                       | 7,219             | 21                 | 0,344          |         |          |
| Total                                       | 48,97             | 31                 |                |         |          |
| Co. Variación                               | 8,12              |                    |                |         |          |

El análisis de varianza de la tabla 24 muestra diferencia significativa en el Factor A (Microbiota del fruto), Factor B (Concentración de la sustancia bioprotectora) e interacción AB (Microbiota del fruto\*concentración). En réplicas no se encontró diferencia significativa.

**Prueba de significancia LSD-Fisher del Factor A, Factor B e interacción A\*B**

**Tabla 25.**

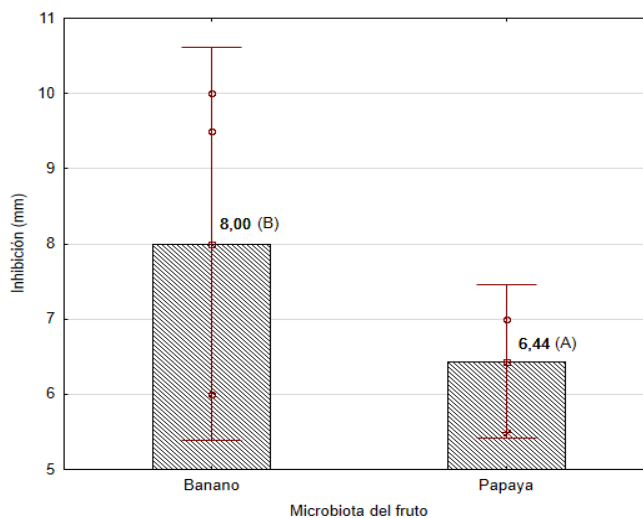
*Pruebas de significancia LSD-Fisher para el Factor A, Factor B e interacción A\*B.*

|                                     | Inhibición [mm]            | LSD p<0.05 |
|-------------------------------------|----------------------------|------------|
| <b>Factor A</b>                     |                            |            |
| Banano                              | 8,00 ± 1,304 <sup>b</sup>  | 0,43108    |
| Papaya                              | 6,44 ± 0,512 <sup>a</sup>  |            |
| <b>Factor B</b>                     |                            |            |
| SLC 4×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC     | 8,06 ± 1,425 <sup>c</sup>  | 0,60964    |
| SLC 8×10 <sup>3</sup> UA/MI SLC     | 7,63 ± 1,188 <sup>bc</sup> |            |
| SLC 16×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC    | 7,06 ± 0,729 <sup>b</sup>  |            |
| SLC 32×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC    | 6,13 ± 0,791 <sup>a</sup>  |            |
| <b>Interacción A*B</b>              |                            |            |
| Banano*4x10 <sup>3</sup> UA/mL SLC  | 9,25 ± 0,957 <sup>d</sup>  | 0,86216    |
| Banano*8×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC  | 8,63 ± 0,750 <sup>d</sup>  |            |
| Banano*16×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC | 7,63 ± 0,479 <sup>c</sup>  |            |
| Banano*32×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC | 6,5 ± 1,00 <sup>ab</sup>   |            |
| Papaya*4x10 <sup>3</sup> UA/mL SLC  | 6,88 ± 0,250 <sup>bc</sup> |            |
| Papaya*8×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC  | 6,63 ± 0,250 <sup>b</sup>  |            |
| Papaya*16×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC | 6,5 ± 0,408 <sup>ab</sup>  |            |
| Papaya*32×10 <sup>3</sup> UA/mL SLC | 5,75 ± 0,289 <sup>a</sup>  |            |

*Nota:* Los valores representados (a-c) indican las medias de menor a mayor rango.

**Figura 11.**

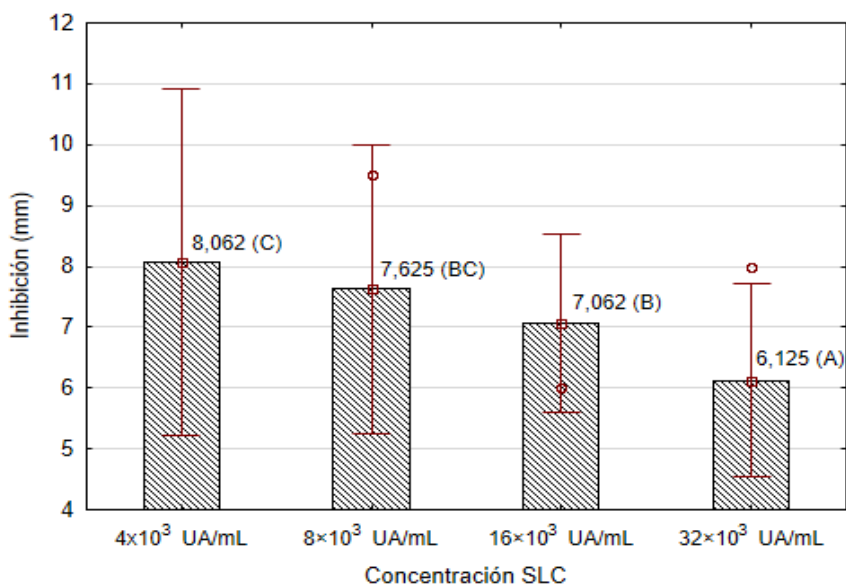
*Resultados de LSD-Fisher para el Factor A (Microbiota de los frutos).*



La figura 11 muestra diferencia significativa para la variable diámetro de inhibición resultando mayor para la microbiota de banano con 8 mm (B) y menor para la microbiota de la papaya con 6,44 mm (A).

**Figura 12.**

*Resultados de LSD-Fisher para el Factor B (Concentración de sustancia bioprotectora).*

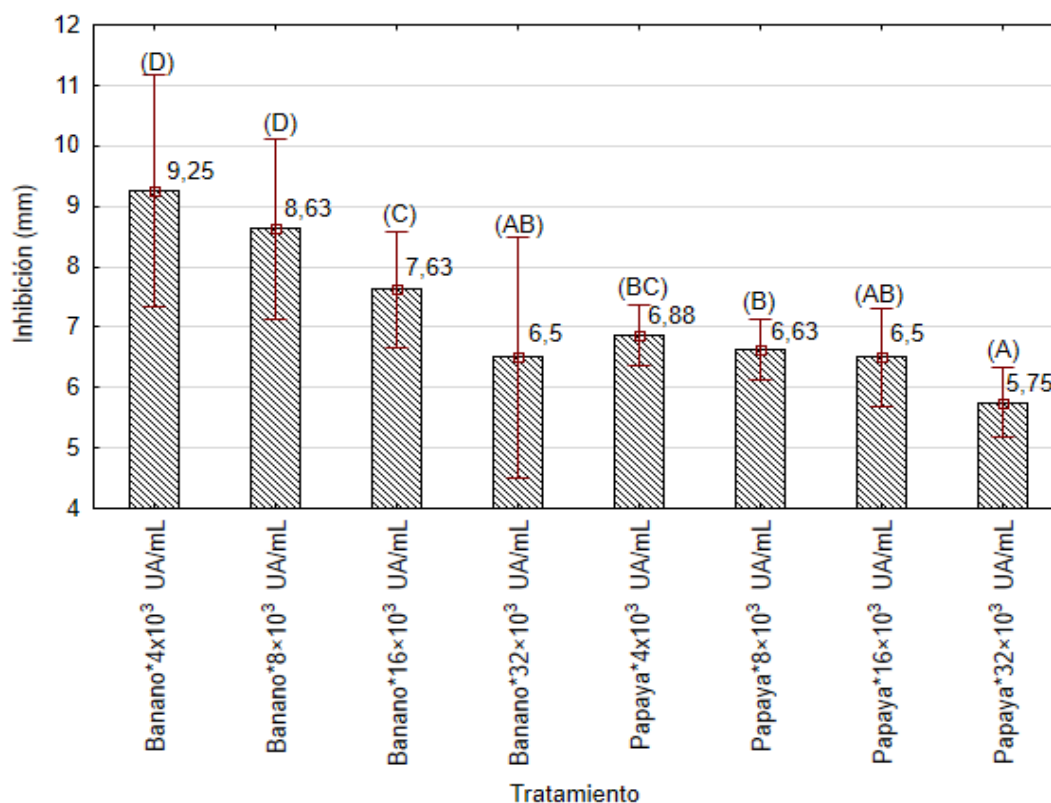




La figura 12 muestra diferencia significativa para la variable diámetro de inhibición, formándose tres grupos homogéneos, siendo mayor para la concentración  $4 \times 10^3$  UA/ml de la solución libre de células con 8,06 mm (C) y menor para la concentración de  $32 \times 10^3$  UA/ml con 6,13 mm (A).

**Figura 13.**

*Resultados de LSD-Fisher para la interacción A\* B.*



En la figura 13 se muestra el análisis de medias mediante la prueba LSD de Fisher para interacción del Factor A\*Factor B, del cual se observó diferencia significativa para la variable diámetro de inhibición y se identificó cuatro grupos homogéneos, siendo mayor el T1 (Microbiota de banano\*Concentración  $4 \times 10^3$  UA/ml de SLC) con 9,25 mm (D) y menor el T8 (microbiota de papaya\*Concentración  $32 \times 10$  UA/ml de SLC) con 5,75 mm (A).

## Análisis de varianza

### *Análisis de varianza para la variable pérdida de banano*

**Tabla 26.**

*Análisis de varianza de la variable pérdida de peso en banano al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 12,168                   | 3                         | 4,056                 | 9,008          | 0,012192       |
| Réplicas                   | 0,815                    | 2                         | 0,408                 | 0,905          | 0,453326       |
| Error                      | 2,702                    | 6                         | 0,450                 |                |                |
| Total                      | 15,69                    | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 4,68                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 26, se observó diferencia significativa en el % de pérdida de peso de banano al evaluar las diferentes concentraciones de SIC. Mientras que réplicas no presenta diferencia significativa.

### *Análisis de varianza para la variable pérdida de peso de papaya*

**Tabla 27.**

*Análisis de varianza de la variable pérdida de peso en papaya al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 12,7241                  | 3                         | 4,2414                | 7,041          | 0,021623       |
| Réplicas                   | 0,2063                   | 2                         | 0,1032                | 0,171          | 0,846595       |
| Error                      | 3,6145                   | 6                         | 0,6024                |                |                |
| Total                      | 16,54                    | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 9,31                     |                           |                       |                |                |

La tabla 27 del análisis de varianza muestra diferencia significativa en el % de pérdida de peso de papaya al evaluar los tratamientos. Mientras que réplicas no presenta diferencia significativa.

***Análisis de varianza para las variables fisicoquímicas de banano***

**Tabla 28.**

*Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 0.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0023                   | 3                         | 0,0008                | 5              | 0,043558       |
| Réplicas                   | 0,0004                   | 2                         | 0,0001                | 1              | 0,530504       |
| Error                      | 0,0009                   | 6                         | 0,0002                |                |                |
| Total                      | 0,0036                   | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 14,04                    |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 28, se observó diferencia significativa en el pH de banano a los 0 días al aplicar 4 tratamientos. En réplicas no se observó diferencia significativa.

**Tabla 29.**

*Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 5.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0333                   | 3                         | 0,0111                | 47             | 0,000146       |
| Réplicas                   | 0,0003                   | 2                         | 0,0002                | 1              | 0,545955       |
| Error                      | 0,0336                   | 6                         | 0,0002                |                |                |
| Total                      | 0,03                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 0,29                     |                           |                       |                |                |

El análisis de varianza de la tabla 29, se observó diferencia significativa en el pH de banano a los 5 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de pH diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Tabla 30.**

*Análisis de varianza de la variable pH en banano al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0252                   | 3                         | 0,0084                | 19,8           | 0,001633       |
| Réplicas                   | 0,0004                   | 2                         | 0,0002                | 0,5            | 0,614125       |
| Error                      | 0,0026                   | 6                         | 0,0004                |                |                |
| Total                      | 0,04                     | 11                        |                       |                |                |
| Coefficiente de variación  | 0,44                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 30, se observó diferencia significativa en el pH de banano a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de pH diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. En cambio, no se evidenció diferencia significativa en réplicas.

**Tabla 31.**

*Prueba de Levene para sólidos solubles en banano al día 0.*

|             | <b>Efecto de Cuadrados medios</b> | <b>Error de cuadrados medios</b> | <b>F</b> | <b>p-Valor</b>  |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------|-----------------|
| <b>Brix</b> | 0,005926                          | 0,001111                         | 5,333333 | <b>0,026000</b> |

**Tabla 32.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 0*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0000                   | 3                         | 0,000                 | 0,0000         | 1,000000       |
| Réplicas                   | 0,03227                  | 2                         | 0,01613               | 0,2000         | 0,823975       |
| Error                      | 0,48400                  | 6                         | 0,08067               |                |                |
| Total                      | 0,51627                  | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 0,27                     |                           |                       |                |                |

En la tabla 31 se muestra la Prueba de homogeneidad de Levene, considerando el nivel de significancia  $p < 0.05$ , se encontró que las varianzas son distintas en la variable sólidos solubles de banano a los 0 días de almacenamiento.

El análisis de varianza de la tabla 32 no se observó diferencia significativa en los sólidos solubles de banano a los 0 días al aplicar 4 tratamientos ni en réplicas.

**Tabla 33.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 5*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 67,339                   | 3                         | 22,446                | 252,21         | 0,000001       |
| Réplicas                   | 0,223                    | 2                         | 0,111                 | 1,25           | 0,351083       |
| Error                      | 0,534                    | 6                         | 0,089                 |                |                |
| Total                      | 68,096                   | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 1,83                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 33 se observó diferencia significativa en sólidos solubles de banano a los 5 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al

menos uno de los tratamientos presenta resultados en % Brix diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Tabla 34.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en banano al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 12,187                   | 3                         | 4,062                 | 45,46          | 0,000161       |
| Réplicas                   | 0,095                    | 2                         | 0,047                 | 0,53           | 0,614136       |
| Error                      | 0,536                    | 6                         | 0,089                 |                |                |
| Total                      | 12,82                    | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 1,33                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 34 se observó diferencia significativa en sólidos solubles de banano a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de % Brix diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. En cambio, no se evidenció diferencia significativa en réplicas.

**Tabla 35.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 0.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,000007                 | 3                         | 0,000002              | 0,25           | 0,860150       |
| Réplicas                   | 0,000020                 | 2                         | 0,000010              | 1,10           | 0,390735       |
| Error                      | 0,000054                 | 6                         | 0,000009              |                |                |
| Total                      | 0,000081                 | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 2,55                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 35, considerando el nivel de significancia  $p < 0.05$ , no se observó diferencia significativa en la acidez titulable de banano a los 0 días, al aplicar distintas concentraciones de SLC como tratamientos. Con respecto a las réplicas, de igual forma, no presentó diferencia significativa.

**Tabla 36.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 5.*

| Fuente de Variación       | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P  |
|---------------------------|-------------------|--------------------|----------------|---------|----------|
| Tratamiento               | 0,000397          | 3                  | 0,000132       | 34,7    | 0,000345 |
| Réplicas                  | 0,000025          | 2                  | 0,000012       | 3,3     | 0,109903 |
| Error                     | 0,000023          | 6                  | 0,000004       |         |          |
| Total                     | 0,00044           | 11                 |                |         |          |
| Coefficiente de variación | 0,80              |                    |                |         |          |

En el análisis de varianza de la tabla 36 se observó diferencia significativa en acidez titulable de banano a los 5 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de acidez titulable diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Tabla 37.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en banano al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,000847                 | 3                         | 0,000282              | 46,6           | 0,000150       |
| Réplicas                   | 0,000009                 | 2                         | 0,000005              | 0,8            | 0,506359       |
| Error                      | 0,000036                 | 6                         | 0,000006              |                |                |
| Total                      | 0,00089                  | 11                        |                       |                |                |
| Coefficiente de variación  | 0,65                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 37, se observó diferencia significativa en acidez titulable de banano a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de acidez titulable diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. En réplicas no se observó diferencia significativa.

***Análisis de varianza para las variables fisicoquímicas de papaya***

**Tabla 38.**

*Prueba de Levene para pH en al día 0.*

|           | <b>Efecto de Cuadrados medios</b> | <b>Error de cuadrados medios</b> | <b>F</b> | <b>p-Valor</b>  |
|-----------|-----------------------------------|----------------------------------|----------|-----------------|
| <b>pH</b> | 0,000059                          | 0,000011                         | 5,333333 | <b>0,026000</b> |



**Tabla 39.**

*Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 0.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0014                   | 3                         | 0,0005                | 4              | 0,058769       |
| Réplicas                   | 0,0002                   | 2                         | 0,0001                | 1              | 0,536377       |
| Error                      | 0,0007                   | 6                         | 0,0001                |                |                |
| Total                      | 0,022                    | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 0,27                     |                           |                       |                |                |

En la tabla 38 se muestra la Prueba de homogeneidad de Levene, considerando el nivel de significancia  $p < 0.05$ , se encontró que las varianzas son distintas en la variable pH de papaya a los 0 días de almacenamiento.

En el análisis de varianza de la tabla 39, no se observó diferencia significativa en el pH de papaya a los 0 días al aplicar 4 tratamientos, ni en réplicas.

**Tabla 40.**

*Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 5.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,2242                   | 3                         | 0,0747                | 79,8           | 0,000032       |
| Réplicas                   | 0,0011                   | 2                         | 0,0006                | 0,6            | 0,580424       |
| Error                      | 0,0056                   | 6                         | 0,0009                |                |                |
| Total                      | 0,23                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 0,56                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 40, se observó diferencia significativa en el pH de papaya a los 5 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de

los tratamientos presenta resultados de pH diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Tabla 41.**

*Análisis de varianza de la variable pH en papaya al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,1432                   | 3                         | 0,0477                | 521            | 0,000000       |
| Réplicas                   | 0,0015                   | 2                         | 0,0008                | 8              | 0,018848       |
| Error                      | 0,0006                   | 6                         | 0,0001                |                |                |
| Total                      | 0,15                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 0,56                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 41, se observó diferencia significativa en el pH de papaya a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de pH diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. No se evidenció diferencia significativa en réplicas.

**Tabla 42.**

*Prueba de Levene para sólidos solubles en papaya al día 0.*

|             | <b>Efecto de Cuadrados medios</b> | <b>Error de cuadrados medios</b> | <b>F</b> | <b>p-Valor</b>  |
|-------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------|-----------------|
| <b>Brix</b> | 0,005926                          | 0,001111                         | 5,333333 | <b>0,026000</b> |

**Tabla 43.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 0.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,0067                   | 3                         | 0,0022                | 0,25           | 0,858711       |
| Réplicas                   | 0,0267                   | 2                         | 0,0133                | 1,50           | 0,296296       |
| Error                      | 0,0533                   | 6                         | 0,0089                |                |                |
| Total                      | 0,09                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 1,63                     |                           |                       |                |                |

En la tabla 42 se muestra la Prueba de homogeneidad de Levene, considerando el nivel de significancia  $p < 0.05$ , se encontró que las varianzas son distintas en la variable sólidos solubles de papaya a los 0 días de almacenamiento.

El análisis de varianza de la tabla 43, no se observó diferencia significativa en los sólidos solubles de banano a los 0 días al aplicar 4 tratamientos ni en réplicas.

**Tabla 44.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 5.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 1,8158                   | 3                         | 0,6053                | 18,95          | 0,001834       |
| Réplicas                   | 0,0950                   | 2                         | 0,0475                | 1,49           | 0,298888       |
| Error                      | 0,1917                   | 6                         | 0,0319                |                |                |
| Total                      | 2,10                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 2,39                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 44, se observó diferencia significativa en los sólidos solubles de papaya a los 5 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al

menos uno de los tratamientos presenta resultados de % °Brix diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Tabla 45.**

*Análisis de varianza de la variable sólidos solubles en papaya al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 6,109                    | 3                         | 2,036                 | 103,25         | 0,000015       |
| Réplicas                   | 0,002                    | 2                         | 0,001                 | 0,04           | 0,958909       |
| Error                      | 0,118                    | 6                         | 0,020                 |                |                |
| Total                      | 6,23                     | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 1,50                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 45, se observó diferencia significativa en sólidos solubles de papaya a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de %° Brix diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. En cambio, no se encontró diferencia significativa en réplicas.

**Tabla 46.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 0.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,000040                 | 3                         | 0,000013              | 27,05          | 0,000695       |
| Réplicas                   | 0,000000                 | 2                         | 0,000000              | 0,04           | 0,965177       |
| Error                      | 0,000003                 | 6                         | 0,000000              |                |                |
| Total                      | 0,000043                 | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 1,18                     |                           |                       |                |                |

La tabla 46 muestra el análisis de varianza de la variable acidez titulable----, se observó diferencia significativa en acidez titulable de papaya a los 0 días al aplicar 4 tratamientos. En réplicas no se observó diferencia significativa.

**Tabla 47.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 5.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,000730                 | 3                         | 0,000243              | 122,75         | 0,000009       |
| Réplicas                   | 0,000005                 | 2                         | 0,000002              | 1,21           | 0,361386       |
| Error                      | 0,000012                 | 6                         | 0,000002              |                |                |
| Total                      | 0,000012                 | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 2,96                     |                           |                       |                |                |

En la tabla 47, se observó diferencia significativa en acidez titulable de papaya a los 5 días de tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de acidez titulable diferentes. En réplicas no se evidenció diferencia.

**Tabla 48.**

*Análisis de varianza de la variable acidez titulable en papaya al día 10.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 0,000477                 | 3                         | 0,000159              | 12,266         | 0,005701       |
| Réplicas                   | 0,000009                 | 2                         | 0,000005              | 0,348          | 0,719218       |
| Error                      | 0,000078                 | 6                         | 0,000013              |                |                |
| Total                      | 0,00056                  | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 8,78                     |                           |                       |                |                |

En el análisis de varianza de la tabla 48, se observó diferencia significativa en acidez titulable de papaya a los 10 días al aplicar 4 tratamientos, se considera que al menos uno de los tratamientos presenta resultados de acidez titulable diferentes en este periodo de almacenamiento de los frutos. En cambio, no se evidenció diferencia significativa en réplicas.

***Análisis de varianza para la variable vida útil de banano***

**Tabla 49.**

*Análisis de varianza de la variable vida útil de banano.*

| <b>Fuente de Variación</b> | <b>Suma de cuadrados</b> | <b>Grados de libertad</b> | <b>Cuadrado medio</b> | <b>Razón-F</b> | <b>Valor-P</b> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------|----------------|----------------|
| Tratamiento                | 18,917                   | 3                         | 6,306                 | 13,353         | 0,004593       |
| Réplicas                   | 0,500                    | 2                         | 0,250                 | 0,529          | 0,614125       |
| Error                      | 2,833                    | 6                         | 0,472                 |                |                |
| Total                      | 22,25                    | 11                        |                       |                |                |
| Coeficiente de variación   | 5,39                     |                           |                       |                |                |

En base al análisis de varianza de la tabla 49, se encontró diferencia significativa en los tratamientos al evaluar la variable vida útil de banano durante el periodo de almacenamiento de los frutos, se considera que al menos uno de los tratamientos difiere en los resultados de vida útil de los frutos. Mientras, que en réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Análisis de varianza para la variable vida útil de papaya**

**Tabla 50.**

*Análisis de varianza de la variable vida útil de papaya.*

| Fuente de Variación       | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrado medio | Razón-F | Valor-P  |
|---------------------------|-------------------|--------------------|----------------|---------|----------|
| Tratamiento               | 27,667            | 3                  | 9,222          | 14,435  | 0,003758 |
| Réplicas                  | 0,167             | 2                  | 0,083          | 0,130   | 0,880136 |
| Error                     | 3,833             | 6                  | 0,639          |         |          |
| Total                     | 31,67             | 11                 |                |         |          |
| Coefficiente de variación | 7,38              |                    |                |         |          |

En base al análisis de varianza de la tabla 50, se encontró diferencia significativa en los tratamientos al evaluar la variable vida útil de papaya durante el periodo de almacenamiento de los frutos, se considera que al menos uno de los tratamientos difiere en los resultados de vida útil de papaya. Mientras, que en réplicas no se evidenció diferencia significativa.

**Pruebas de significancia LSD-Fisher**

***Prueba LSD-Fisher para la pérdida de peso de banano***

**Tabla 51.**

*Prueba de significancia LSD-Fisher para la pérdida de peso de banano.*

|     | T1                         | T2                        | T3                         | T4                        | LSD (p<0.05) |
|-----|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------|
| %PP | 12,87 ± 1,091 <sup>a</sup> | 14,35± 0,347 <sup>b</sup> | 14,47± 0,321 <sup>bc</sup> | 15,71± 0,577 <sup>c</sup> | 1,34066      |

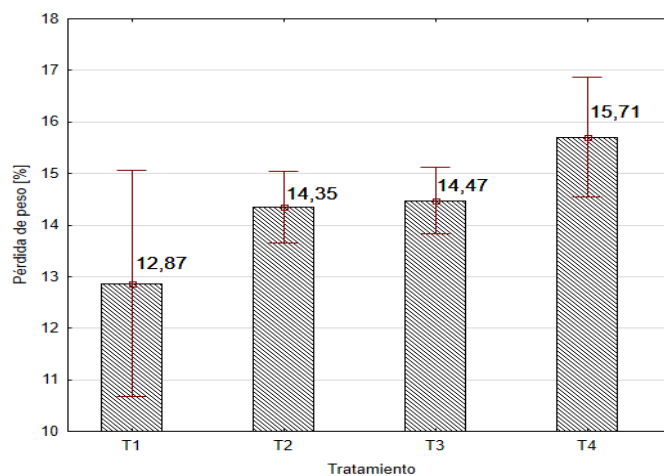
*Nota:* Cada valor corresponde a la media del % de pérdida de peso de tres frutos (n=3).

Los valores (a-c) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC ( $4 \times 10^3$  UA/mL);

T2: SLC ( $8 \times 10^3$  UA/mL); T3: SLC ( $16 \times 10^3$  UA/mL); T4: control (sin SLC).

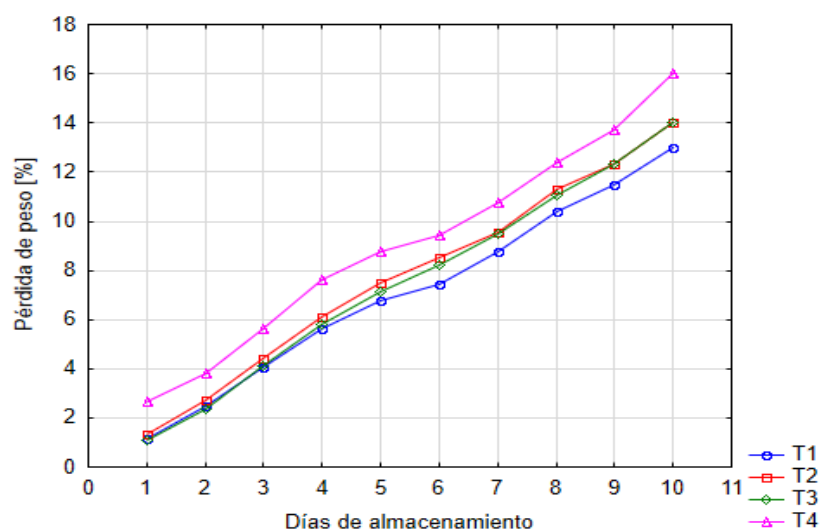
### Figura 14.

*Resultados de LSD-Fisher para la pérdida de peso de banano a los 10 días del almacenamiento*



### Figura 15.

*Pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento de banano.*



Durante el transcurso del almacenamiento, se observó que la pérdida de peso fue menor a medida que la concentración de SLC fue mayor. En la figura 14 se encontró



diferencia significativa para la variable pérdida de peso de la fruta de banano, las frutas tratadas con SLC mostraron una disminución en el valor de pérdida de peso a comparación con las frutas control T4 (Grupo C). A los 10 días de almacenamiento, la fruta tratada con T1:  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC (Grupo A) presentó una menor pérdida de peso (12,87%) con respecto al control, que mostró un 15,71%.

### **Prueba LSD-Fisher para la pérdida de papaya**

**Tabla 52.**

*Prueba de significancia LSD-Fisher para la pérdida de peso de papaya.*

|     | T1                          | T2                           | T3                            | T4                           | LSD<br>( $p < 0.05$ ) |
|-----|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| %PP | 6,91±<br>0,868 <sup>a</sup> | 7,93±<br>0,894 <sup>ab</sup> | 8,83 ±<br>0,005 <sup>bc</sup> | 9,68 ±<br>0,597 <sup>c</sup> | 1,55067               |

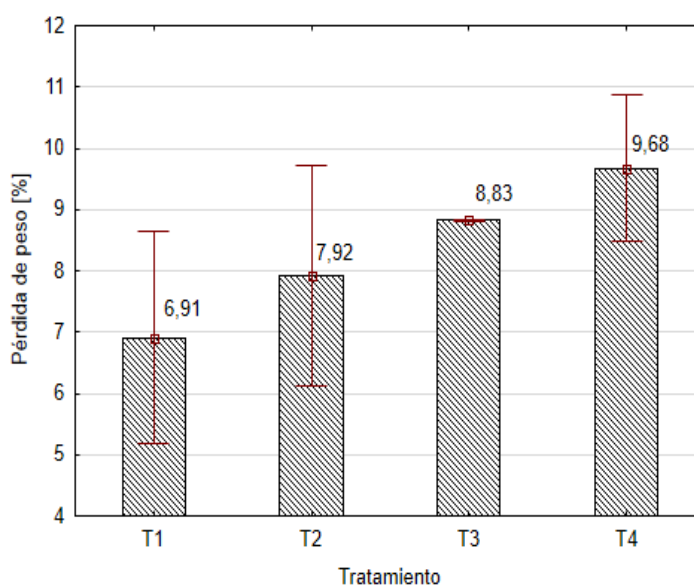
Nota: Cada valor corresponde a la media del % de pérdida de peso de tres frutos (n=3).

Los valores (a-c) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC ( $4 \times 10^3$  UA/mL);

T2: SLC ( $8 \times 10^3$  UA/mL); T3: SLC ( $16 \times 10^3$  UA/mL); T4: control (sin SLC).

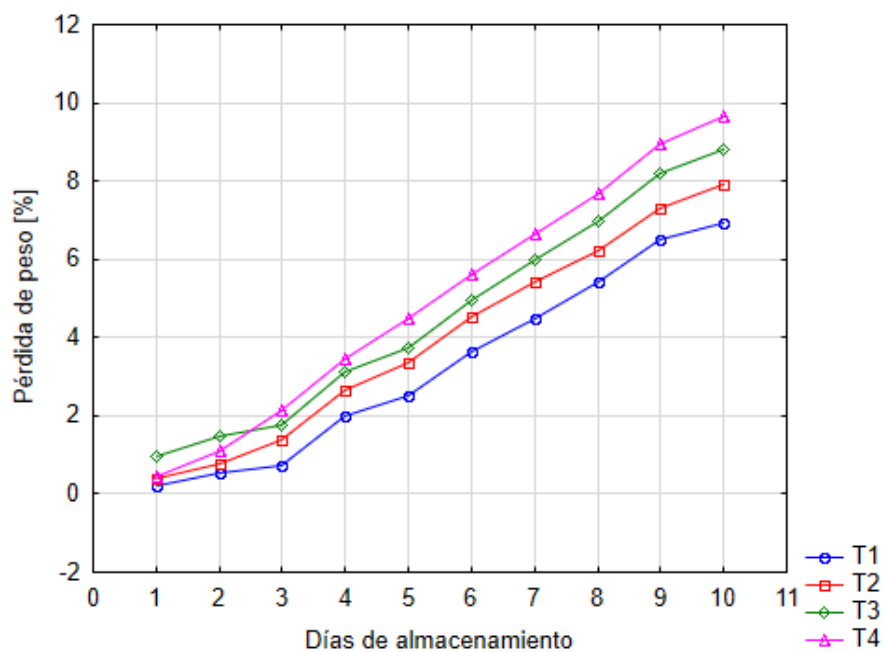
**Figura 16.**

*Resultados de LSD-Fisher para la pérdida de peso de papaya a los 10 días del almacenamiento*



**Figura 17.**

*Pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento de papaya.*



La figura 16 muestra diferencia significativa para la variable pérdida de peso de la fruta de papaya, se encontró que los tratamientos de frutas de papaya con SLC mostraron una disminución en el valor de pérdida de peso en comparación con la fruta control T4 (Grupo C). A los 10 días de almacenamiento, la fruta del tratamiento T1:  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC (Grupo A) presentó una menor pérdida de peso (6,91) con respecto al control, que mostró un 9,68%.

**Prueba LSD-Fisher para las variables fisicoquímicas de banano**

**Tabla 53.**

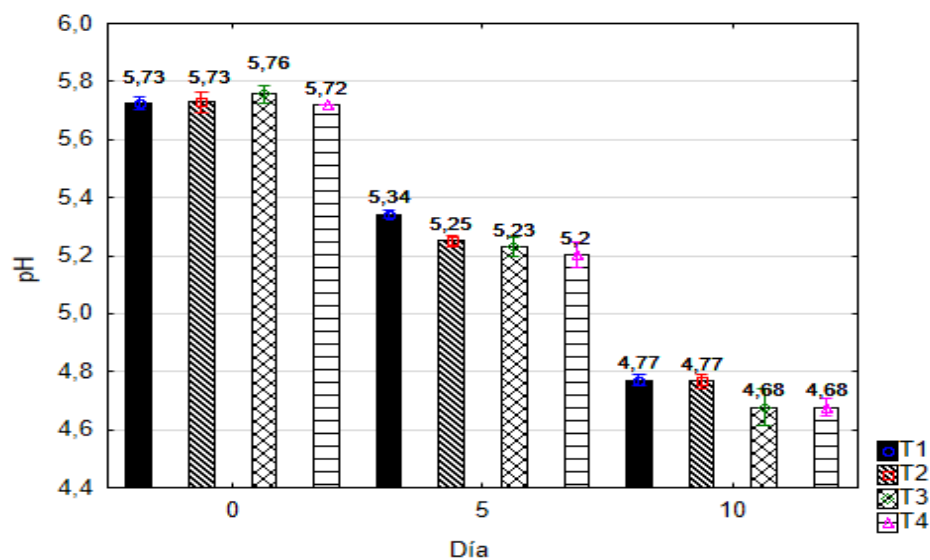
*Prueba de significancia LSD-Fisher para pH, sólidos solubles y acidez titulable durante el almacenamiento de banano.*

| Días             | T1                            | T2                            | T3                            | T4                            | LSD<br>(p<0.05) |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| pH               |                               |                               |                               |                               |                 |
| 0                | 5,73 ±<br>0,012 <sup>a</sup>  | 5,73 ±<br>0,017 <sup>a</sup>  | 5,76±<br>0,015 <sup>b</sup>   | 5,72 ±<br>0,00 <sup>a</sup>   | 0,02469         |
| 5                | 5,34 ±<br>0,006 <sup>c</sup>  | 5,25 ±<br>0,010 <sup>b</sup>  | 5,23 ±<br>0,017 <sup>ab</sup> | 5,2 ±<br>0,021 <sup>a</sup>   | 0,03070         |
| 10               | 4,77 ±<br>0,010 <sup>b</sup>  | 4,77 ±<br>0,012 <sup>b</sup>  | 4,68 ±<br>0,032 <sup>a</sup>  | 4,68 ±<br>0,015 <sup>a</sup>  | 0,04119         |
| Sólidos solubles |                               |                               |                               |                               |                 |
| 0                | 2,02 ±<br>0,250 <sup>a</sup>  | 2,02 ±<br>0,250 <sup>a</sup>  | 2,02 ±<br>0,250 <sup>a</sup>  | 2,02 ±<br>0,250 <sup>a</sup>  | 0,56744         |
| 5                | 12,42 ±<br>0,250 <sup>a</sup> | 16,76±<br>0,250 <sup>b</sup>  | 17,33 ±<br>0,00 <sup>b</sup>  | 18,78 ±<br>0,500 <sup>c</sup> | 0,59602         |
| 10               | 21,67±<br>0,00 <sup>a</sup>   | 21,67±<br>0,433 <sup>a</sup>  | 22,24±<br>0,250 <sup>a</sup>  | 24,12±<br>0,250 <sup>b</sup>  | 0,59725         |
| Acidez titulable |                               |                               |                               |                               |                 |
| 0                | 0,117 ±<br>0,002 <sup>a</sup> | 0,117 ±<br>0,005 <sup>a</sup> | 0,119 ±<br>0,002 <sup>a</sup> | 0,118 ±<br>0,001 <sup>a</sup> | 0,00618         |
| 5                | 0,233 ±<br>0,00 <sup>a</sup>  | 0,244 ±<br>0,002 <sup>b</sup> | 0,245±<br>0,001 <sup>b</sup>  | 0,248 ±<br>0,005 <sup>b</sup> | 0,00404         |
| 10               | 0,367 ±<br>0,002 <sup>a</sup> | 0,368 ±<br>0,00 <sup>a</sup>  | 0,384±<br>0,002 <sup>b</sup>  | 0,384 ±<br>0,004 <sup>b</sup> | 0,00506         |

*Nota:* Las medias con letras iguales en las filas no son significativamente diferentes (LSD de Fisher, p>0.05). La media corresponde a tres repeticiones (n=3). Los valores representados (a-d) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC (4×10<sup>3</sup> UA/mL); T2: SLC (8×10<sup>3</sup> UA/mL); T3: SLC (16×10<sup>3</sup>UA/mL); T4: control (sin SLC).

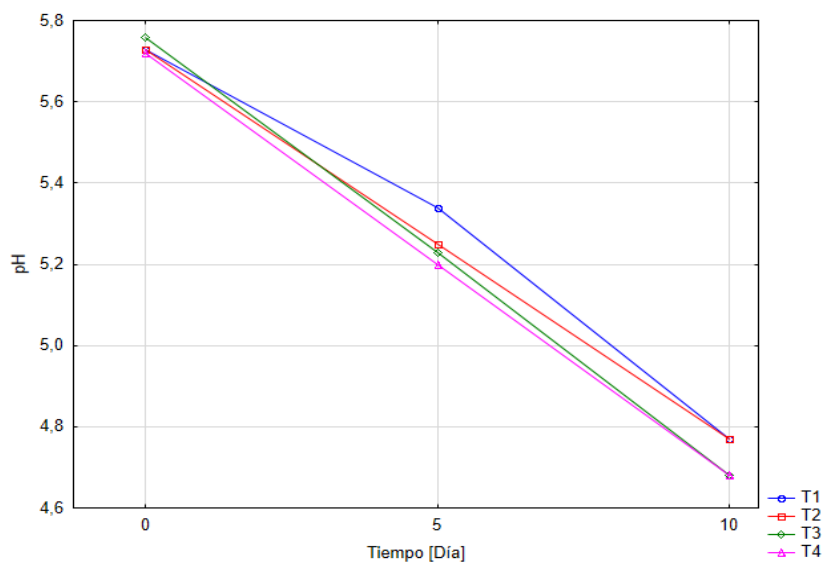
**Figura 18.**

*Resultados de LSD-Fisher para pH de banano a los 0, 5 y 10 días del almacenamiento*



**Figura 19.**

*Variación de pH durante el almacenamiento de banano*

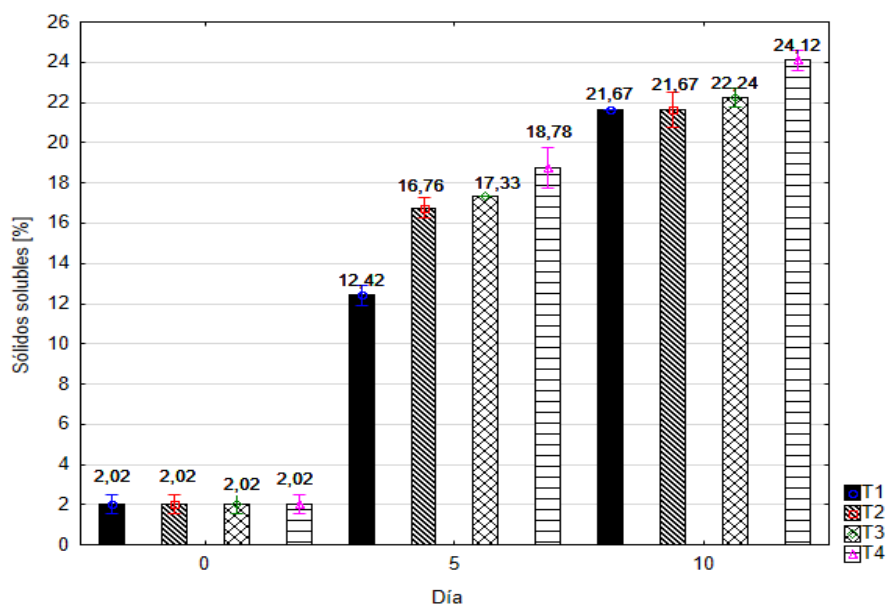


La tabla 53 muestra las diferencias entre las medias y la formación de los grupos independiente o homogéneos según el nivel de significancia  $p < 0.05$  de la prueba LSD-Fisher en el análisis de pH, sólidos solubles y acidez titulable durante el almacenamiento de banano.

En la figura 18 se encontró diferencia significativa para la variable pH a los 0, 5 y 10 días del almacenamiento de banano; observándose en el día 0 la formación de dos grupos independientes, el valor más alto (5,76) fue para T3 que pertenece al grupo B y los tratamientos T1, T2 y T4 que pertenecen al grupo A, presentaron un valor más bajo (5,73, 5,73 Y 572). En el día 5, se identificaron tres grupos homogéneos, el valor más alto (5,34) fue para T1 del grupo C y el valor más bajo (5,2) corresponde al T1 del grupo A. En el día 10 se identificó dos grupos independientes, el mayor valor de pH (64,77) se identificó en T1 y T2 que pertenecen al grupo B y el menor valor (4,68) fue para T3 y T4 que pertenecen al grupo A.

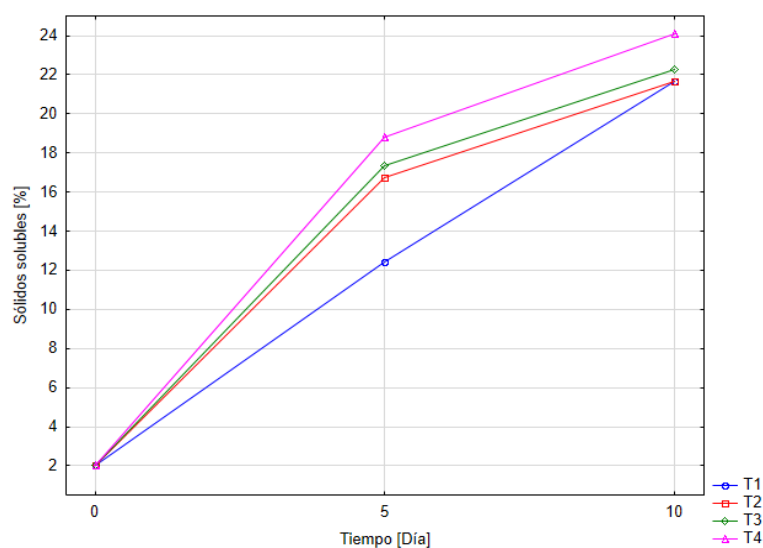
**Figura 20.**

*Resultados de LSD-Fisher para sólidos solubles de banano a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento*



**Figura 21.**

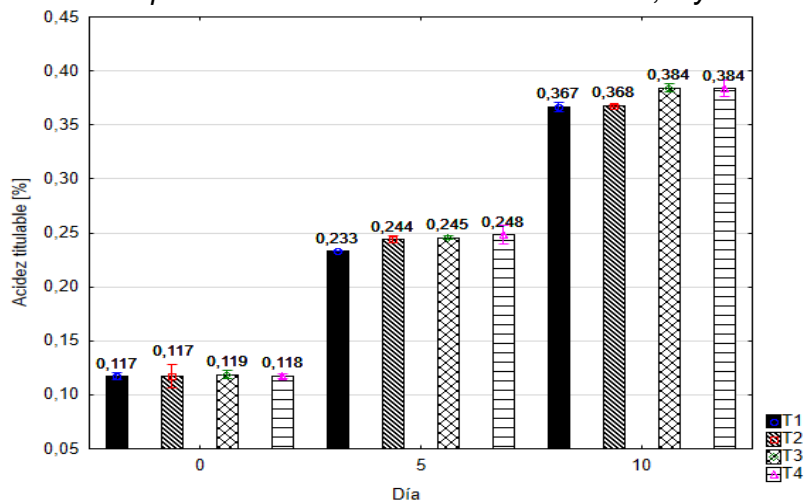
*Variación de sólidos solubles durante el almacenamiento de banano*



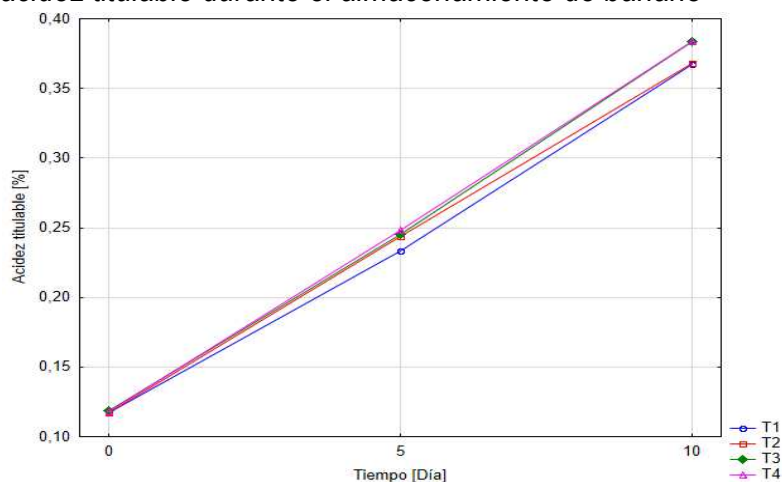
La figura 20 muestra la existencia de diferencia significativa para la variable sólidos solubles de banano en los días 5 y 10, mientras que en el día 0 no se encontró diferencia significativa, se identificó que los tratamientos pertenecen a un mismo grupo. En el día 5, se identificó tres grupos independientes, el T4 que pertenece al grupo C, mostró un valor más alto (18,78%) y T1 del grupo A presentó el valor más bajo (12,42%). A los 10 días, se formó dos grupos independientes; el T4 del grupo B, presentó el valor más alto (24,12%), mientras que T1, T2 y T3 que pertenecen al grupo A presentaron valores más bajos (21,67; 21,67 y 22,24 %).

**Figura 22.**

*Resultados de LSD-Fisher para acidez titulable de banano a los 0, 5 y 10 días*

**Figura 23.**

*Variación de acidez titulable durante el almacenamiento de banano*



En la figura 22 se encontró diferencia significativa para la variable acidez titulable a los 5 y 10 días del almacenamiento de banano, mientras que en el día 0 no se encontró diferencia. En el día 5 se formaron dos grupos independientes, los tratamientos T2, T3 y T4 que pertenecen al grupo B, presentaron valores más altos (0,244, 0,245 y 0,248) y el valor más bajo (0,233) presentó el T1 que pertenece al grupo A. En el día 10 se identificó la formación de dos grupos independientes, el valor más alto (0,384) fue para T3 y T4 que pertenecen al grupo B y los valores más bajos (0,367 y 0,368) fueron para T1 y T2 del grupo A.

**Prueba LSD-Fisher para las variables fisicoquímicas de papaya**

**Tabla 54.**

*Prueba de significancia LSD-Fisher para pH, sólidos solubles y acidez titulable durante el almacenamiento de papaya.*

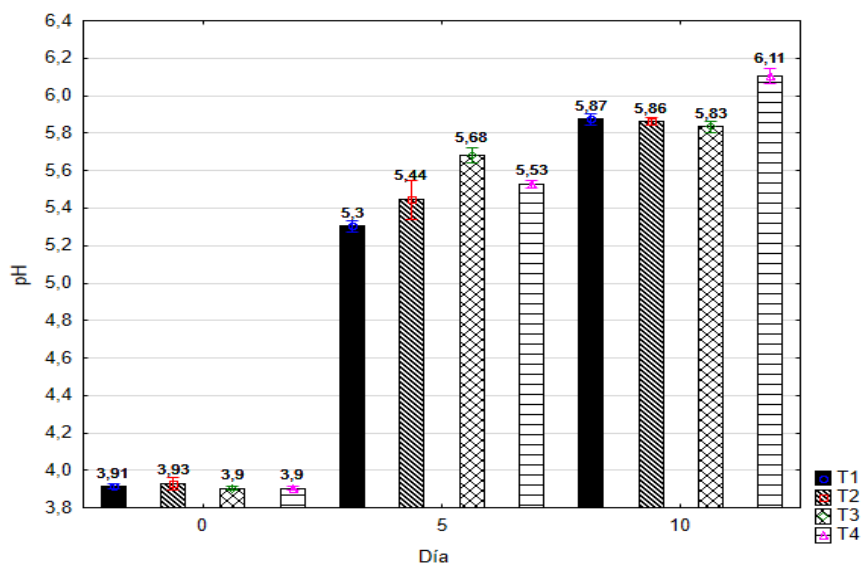
| Días             | T1                            | T2                            | T3                           | T4                            | LSD<br>(p<0.05) |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| pH               |                               |                               |                              |                               |                 |
| 0                | 3,91 ±<br>0,006 <sup>ab</sup> | 3,93 ±<br>0,017 <sup>b</sup>  | 3,9 ±<br>0,006 <sup>a</sup>  | 3,9 ±<br>0,006 <sup>a</sup>   | 0,02079         |
| 5                | 5,3 ±<br>0,015 <sup>a</sup>   | 5,44 ±<br>0,051 <sup>b</sup>  | 5,68±<br>0,020 <sup>d</sup>  | 5,53 ±<br>0,010 <sup>c</sup>  | 0,06113         |
| 10               | 5,87 ±<br>0,015 <sup>b</sup>  | 5,86 ±<br>0,012 <sup>b</sup>  | 5,83±<br>0,015 <sup>a</sup>  | 6,11 ±<br>0,021 <sup>c</sup>  | 0,01913         |
| Sólidos solubles |                               |                               |                              |                               |                 |
| 0                | 5,77 ±<br>0,058 <sup>a</sup>  | 5,73 ±<br>0,058 <sup>a</sup>  | 5,8 ±<br>0,173 <sup>a</sup>  | 5,77 ±<br>0,058 <sup>a</sup>  | 0,18836         |
| 5                | 6,83 ±<br>0,153 <sup>a</sup>  | 7,67 ±<br>0,306 <sup>b</sup>  | 7,53±<br>0,115 <sup>b</sup>  | 7,87±<br>0,115 <sup>b</sup>   | 0,35708         |
| 10               | 8,43±<br>0,153 <sup>a</sup>   | 9,07 ±<br>0,115 <sup>b</sup>  | 9,47±<br>0,115 <sup>c</sup>  | 10,4 ±<br>0,100 <sup>d</sup>  | 0,28058         |
| Acidez titulable |                               |                               |                              |                               |                 |
| 0                | 0,061 ±<br>0,001 <sup>b</sup> | 0,057 ±<br>0,001 <sup>a</sup> | 0,058±<br>0,00 <sup>a</sup>  | 0,062±<br>0,00 <sup>b</sup>   | 0,00163         |
| 5                | 0,060 ±<br>0,001 <sup>c</sup> | 0,046 ±<br>0,002 <sup>b</sup> | 0,046±<br>0,00 <sup>b</sup>  | 0,038 ±<br>0,002 <sup>a</sup> | 0,00312         |
| 10               | 0,047 ±<br>0,004 <sup>b</sup> | 0,045 ±<br>0,004 <sup>b</sup> | 0,042±<br>0,003 <sup>b</sup> | 0,030±0,00<br><sub>a</sub>    | 0,00742         |

*Nota:* Las medias con letras iguales en las filas no son significativamente diferentes (LSD de Fisher, p>0.05). La media corresponde a tres repeticiones (n=3). Los valores representados (a-d) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC (4×10<sup>3</sup> UA/mL); T2: SLC (8×10<sup>3</sup> UA/mL); T3: SLC (16×10<sup>3</sup>UA/mL); T4: control (sin SLC).



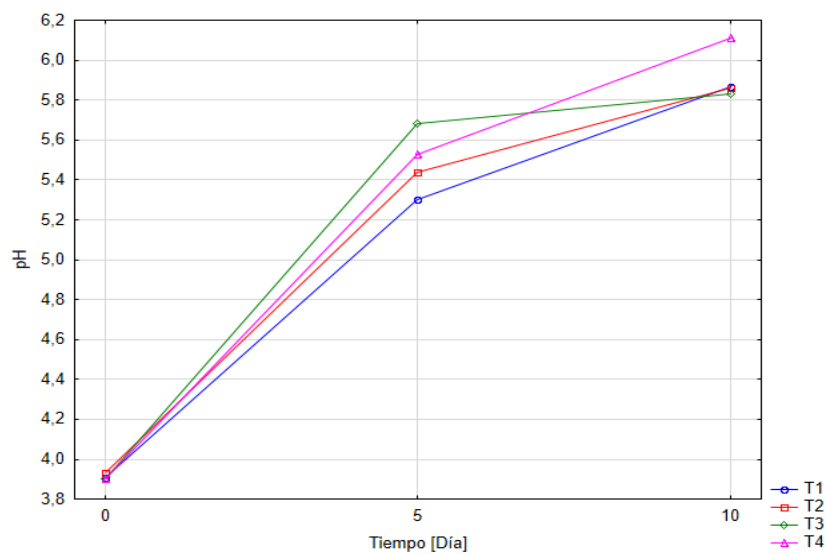
**Figura 24.**

*Resultados de LSD-Fisher para pH de papaya a los 0, 5 y 10 días del almacenamiento*



**Figura 25.**

*Variación de pH durante el almacenamiento de papaya*

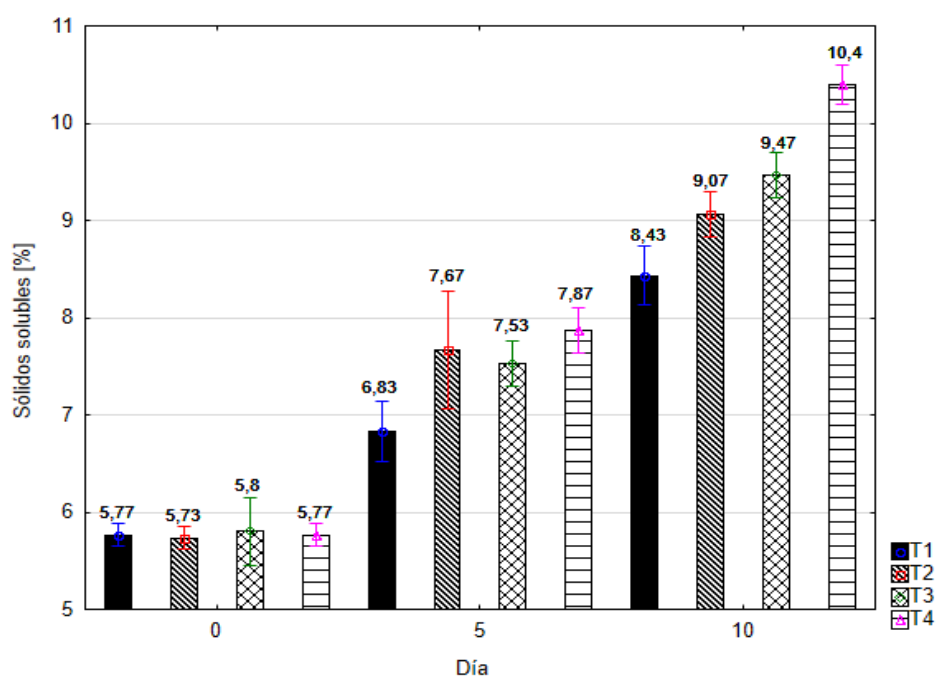


La figura 24 muestra diferencia significativa para la variable pH a los 0, 5 y 10 días del almacenamiento de papaya. En el día 0 se identificó la formación de dos grupos homogéneos, el valor más alto (3,93) de pH corresponde a T2 del grupo B y el valor más bajo (3,9) presentó T3 y T4 que pertenecen al grupo A. En el día 5 se

formaron cuatro grupos independientes, el valor mayor (5,68) fue para T3 que pertenece al grupo D y el valor menor (5,3) fue para T1 que pertenece al grupo A. En el día 10 se observó tres grupos independientes, el pH fue mayor (6,11) para T4 del grupo C y menor (5,83) para T3 que pertenece al grupo A.

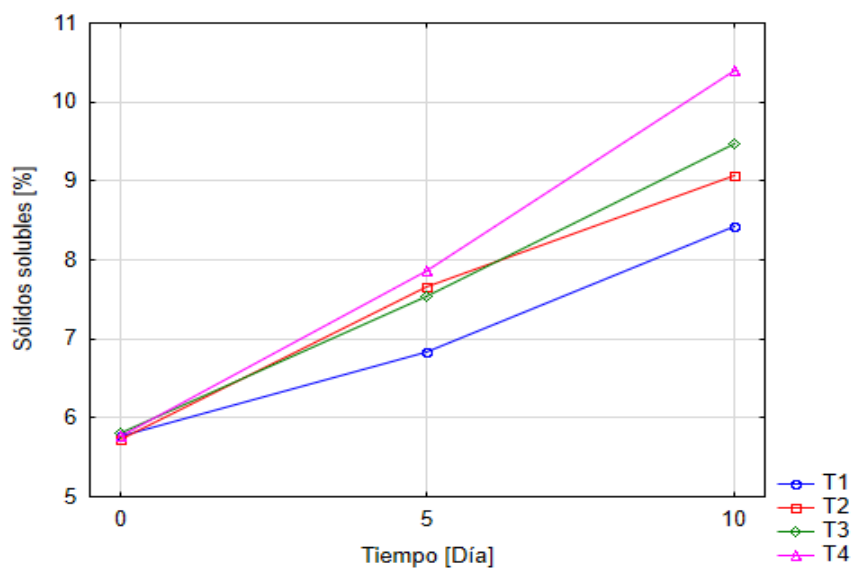
### Figura 26.

*Resultados de LSD-Fisher para sólidos solubles de papaya a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento*



**Figura 27.**

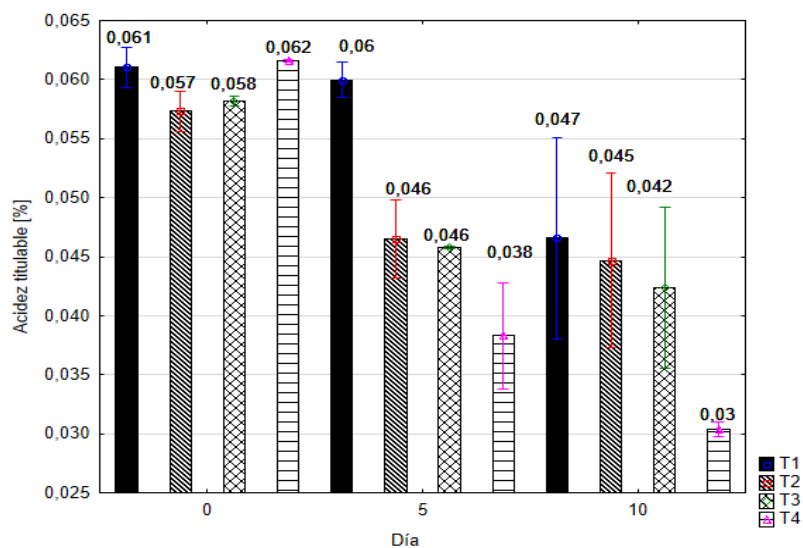
*Variación de sólidos solubles durante el almacenamiento de papaya*



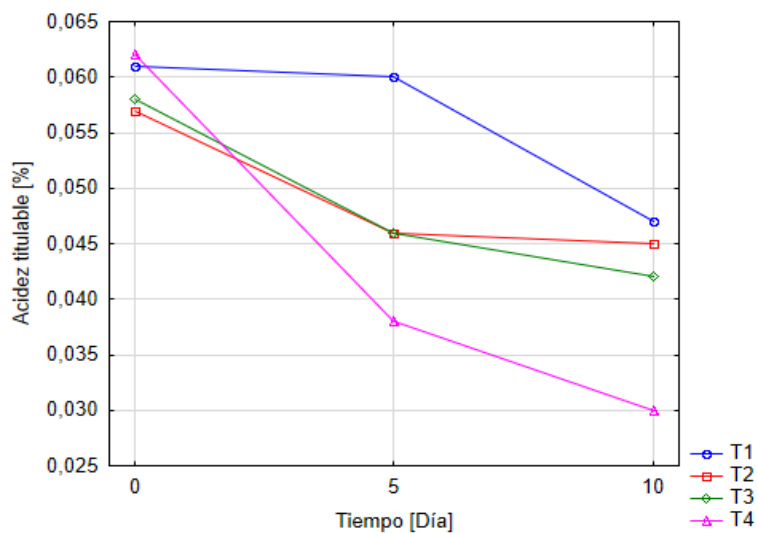
En la figura 26 se encontró diferencia significativa para la variable sólidos solubles a los 5 y 10 días del almacenamiento de papaya, mientras que en el día 0 no se encontró diferencia significativa. En el día 5 se formaron dos grupos independientes, los tratamientos T3, T2 y T4 que pertenecen al grupo B, presentaron mayor valor (7,53; 7,67 y 7,87), mientras que T1 presentó un menor valor (6,83). En el día 10 se identificó cuatro grupos independientes, el valor más alto (10,4) fue para T4 que pertenecen al grupo D y el valor más bajo (8,43) fue para T1 que pertenece al grupo A.

**Figura 28.**

*Resultados de LSD-Fisher para acidez titulable de papaya a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento*

**Figura 29.**

*Variación de acidez titulable durante el almacenamiento de papaya*



En la figura 28 se encontró diferencia significativa para la variable acidez titulable a los 0, 5 y 10 días de almacenamiento de papaya. En el día 0 se identificó dos grupos independientes, los tratamientos T1 y T4 (grupo B) presentaron mayor valor de

acidez titulable con 0,061 y 0,062%, respectivamente; mientras que T2 y T3 (grupo A) presentaron un menor valor de acidez con 0,057 y 0,058%. En el día 5 se distinguieron tres grupos independientes, el valor más alto (0,060) fue para T1 que pertenecen al grupo C y el valor más bajo (0,038) fue para T4 que pertenece al grupo A. En el día 10, se identificó dos grupos independientes, los tratamientos T1, T2 y T3 que pertenecen al grupo B, presentaron mayor valor de acidez titulable (0,047, 0,045, 0,042), mientras que T4 que pertenece al grupo A presentó un menor valor (0,030).

### ***Prueba LSD-Fisher para la vida útil de banano***

**Tabla 55.**

*Prueba de significancia LSD-Fisher para la vida útil de banano.*

|                   | <b>T1</b>                  | <b>T2</b>                 | <b>T3</b>                  | <b>T4</b>                  | <b>LSD<br/>(p&lt;0.05)</b> |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Días de vida útil | 14,00 ± 1,000 <sup>b</sup> | 13,33± 0,577 <sup>b</sup> | 13,00 ± 0,000 <sup>b</sup> | 10,67 ± 0,577 <sup>a</sup> | 1,37292                    |



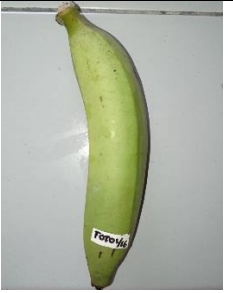













*Nota:* Cada valor corresponde a la media de los días de vida útil de tres frutos (n=3).

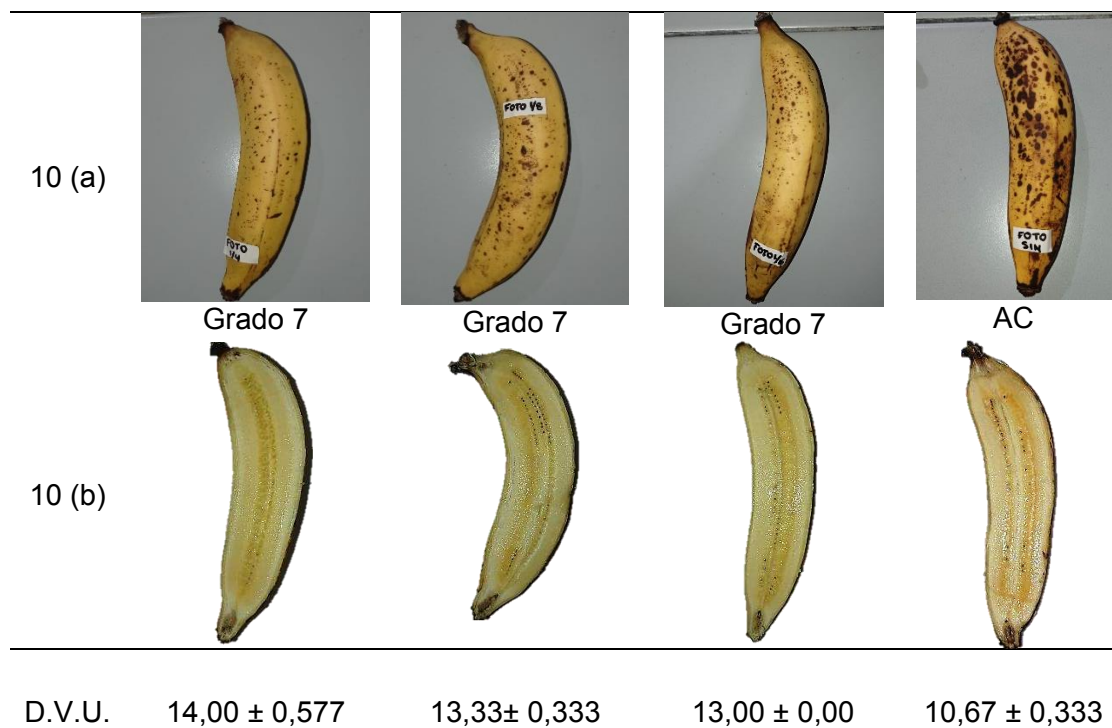
Los valores (a-b) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC (4×10<sup>3</sup> UA/mL);

T2: SLC (8×10<sup>3</sup> UA/mL); T3: SLC (16×10<sup>3</sup>UA/mL); T4: control (sin SLC).

Tabla 56.

*Efecto del recubrimiento sobre la vida útil y maduración del banano.*

| Días | T1   | T2   | T3  | T4   |
|------|--|--|---|--|
| 1    | <br>Grado 2   | <br>Grado 2   | <br>Grado 2   | <br>Grado 2   |
| 3    | <br>Grado 3  | <br>Grado 3  | <br>Grado 3  | <br>Grado 3  |
| 5    | <br>Grado 3 | <br>Grado 3 | <br>Grado 3 | <br>Grado 4 |
| 7    | <br>Grado 4 | <br>Grado 5 | <br>Grado 6 | <br>Grado 7 |

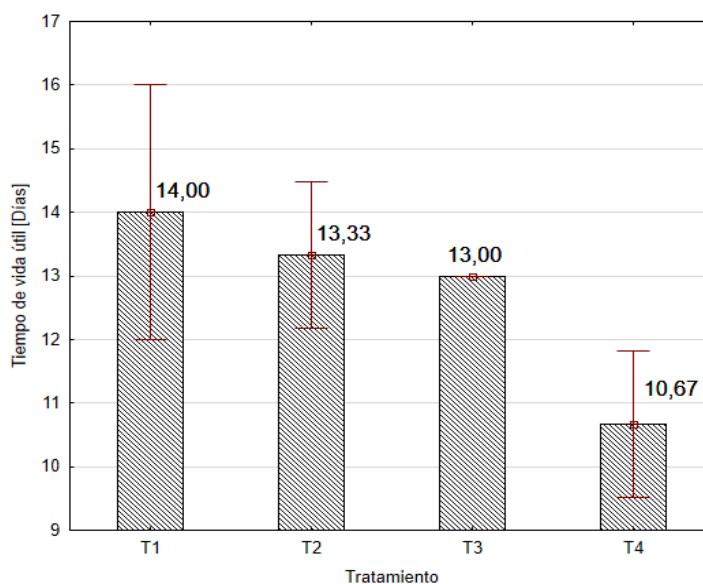


*Nota:* Registro fotográfico de la maduración de los tratamientos: T1: SLC ( $4 \times 10^3$  UA/mL); T2: SLC ( $8 \times 10^3$  UA/mL); T3: SLC ( $16 \times 10^3$  UA/mL); T4: Sin SLC; durante diez días de conservación de banano. 10 (a): Registro fotográfico externo del fruto; 10 (b) Registro fotográfico interno del fruto. Banano poscomercial aceptable para consumo (A.C); Días de vida útil (D.V.U.) correspondiente al valor promedio de tres frutos.

El grado 7 de maduración de banano se considera comercialmente aceptable y con mayor valor nutritivo para consumo. En la Tabla 56 se observa que los frutos tratados con SLC  $4 \times 10^3$  UA/mL,  $8 \times 10^3$  UA/mL y  $16 \times 10^3$  UA/mL alcanzaron este grado de maduración a los 10 días, a diferencia del T4: sin SLC que lo alcanzó a los 7 días.

**Figura 30.**

*Resultados de LSD-Fisher para la vida útil de banano*



La figura 30 muestra diferencia significativa para la variable vida útil en el almacenamiento de banano, identificando dos grupos independientes. Se encontró que los bananos tratados con la sustancia bioprotectora: T1, T2 y T3 (Grupo B), presentaron una mayor extensión de su vida útil, hasta 14; 13,33 y 13 días, respectivamente; mientras que el control T4 (Grupo A), presentó una vida útil de 10,67 días.

***Prueba LSD-Fisher para la vida útil de papaya***

**Tabla 57.**

*Prueba de significancia LSD-Fisher para la vida útil de papaya.*

|                   | T1                         | T2                         | T3                         | T4                        | LSD (p<0.05) |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------|
| Días de vida útil | 12,33 ± 0,577 <sup>b</sup> | 11,67 ± 0,577 <sup>b</sup> | 11,00 ± 1,000 <sup>b</sup> | 8,33 ± 0,577 <sup>a</sup> | 1,59693      |

*Nota:* Cada valor corresponde a la media de los días de vida útil de tres frutos (n=3).















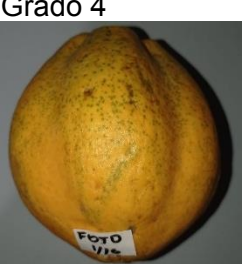





Los valores (a-b) indican las medias de menor a mayor rango. T1: SLC (4×10<sup>3</sup> UA/mL);

T2: SLC (8×10<sup>3</sup> UA/mL); T3: SLC (16×10<sup>3</sup>UA/mL); T4: control (sin SLC).



Tabla 58.

*Efecto del recubrimiento sobre la vida útil y maduración de la papaya.*

| Días   | T1   | T2   | T3   | T4   |
|--------|--|--|--|--|
| 1      |  FOTO 1/4   |  FOTO 1/8   |  FOTO 1/16   |  FOTO SIN   |
|        | Grado 3  | Grado 3  | Grado 3  | Grado 3  |
| 3      |  FOTO 1/4   |  FOTO 1/8   |  FOTO 1/16   |  FOTO SIN   |
|        | Grado 4  | Grado 4  | Grado 4  | Grado 4  |
| 5      |  FOTO 1/4  |  FOTO 1/8  |  FOTO 1/16  |  FOTO SIN  |
|        | Grado 4  | Grado 4  | Grado 4  | Grado 5  |
| 7      |  FOTO 1/4 |  FOTO 1/8 |  FOTO 1/16 |  FOTO SIN |
|        | Grado 5  | Grado 5  | Grado 5  | Grado 5  |
| 10 (a) |  FOTO 1/4 |  FOTO 1/8 |  FOTO 1/16 |  FOTO SIN |
|        | Grado 6  | Grado 6  | Grado 6  | NO AC  |



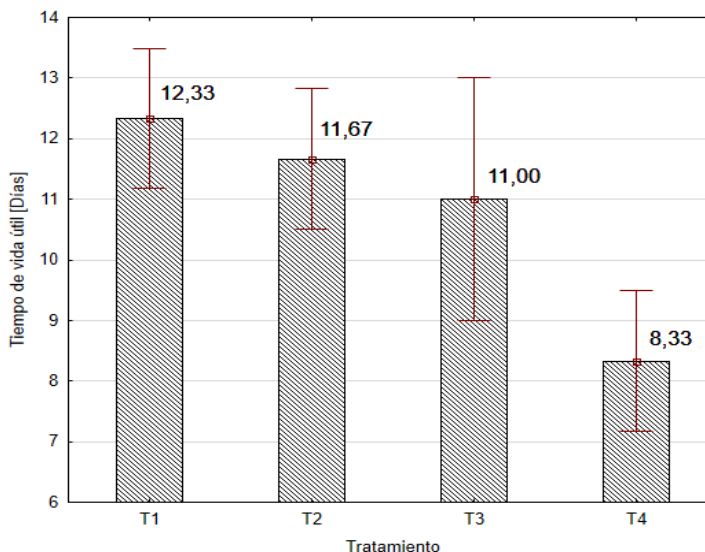
|       |               |               |               |              |
|-------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| D.V.U | 12,33 ± 0,577 | 11,67 ± 0,577 | 11,00 ± 1,000 | 8,33 ± 0,577 |
|-------|---------------|---------------|---------------|--------------|

*Nota:* Registro fotográfico y grado de maduración de los tratamientos: T1: SLC ( $4 \times 10^3$  UA/mL); T2: SLC ( $8 \times 10^3$  UA/mL); T3: SLC ( $16 \times 10^3$  UA/mL); T4: Sin SLC; durante diez días de conservación de papaya. 10 (a): Registro fotográfico externo del fruto; 10 (b) Registro fotográfico interno del fruto. Papaya NO aceptable para consumo (NO AC). Días de vida útil (D.V.U.) corresponde al valor promedio de tres frutos.

Los frutos de papaya con grado 6 tienen características similares al grado 5, la intensidad del color naranja en la superficie es mayor, la pulpa y piel son de gran suavidad y se considera aún adecuado para el consumo. En la tabla 58 se observó que el tratamiento T4 alcanzó esta maduración aproximadamente a los 8 días de conservación a diferencia de las papayas tratadas con SLC  $4 \times 10^3$  UA/mL,  $8 \times 10^3$  UA/mL y  $16 \times 10^3$  UA/mL que alcanzaron la escala 6 de maduración a los 10 días.

**Figura 31.**

*Resultados de LSD-Fisher para la vida útil de papaya*



La figura 31 muestra diferencia significativa para la variable vida útil en el almacenamiento de papaya, identificando dos grupos independientes. Se encontró que las papayas tratadas con la sustancia bioprotectora: T1, T2 y T3 (Grupo B), presentaron una extensión mayor de su vida útil, de hasta 12,33; 11,67 y 11 días, respectivamente; mientras el control T4 (Grupo A), presentó menor vida útil de 8,33 días.

### **Análisis de la calidad microbiológica de los frutos**

#### ***Calidad microbiológica de banano***

**Tabla 59.**

*Análisis de la calidad microbiológica de banano.*

| <b>Microorganismo</b> | <b>T1</b>             | <b>T2</b>             | <b>T3</b>             | <b>T4</b>             |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Aerobios (UFC/mL)     | $1,06 \times 10^{11}$ | $1,14 \times 10^{11}$ | $1,44 \times 10^{11}$ | $2,58 \times 10^{11}$ |
| Mohos (UFC/mL)        | 0                     | $3 \times 10^8$       | $2 \times 10^8$       | $7 \times 10^8$       |
| Levaduras (UFC/mL)    | 0                     | 0                     | $4 \times 10^8$       | $2,04 \times 10^{11}$ |

Como se muestra en la tabla 59 los resultados obtenidos a los días de almacenamiento del fruto de banano, indican una mayor carga bacteriana y fúngica en el fruto control (T4). Mientras que los frutos tratados con SLC (T1, T2 y T3) obtuvieron una carga bacteriana menor.

### ***Calidad microbiológica de papaya***

**Tabla 60.**

*Análisis de la calidad microbiológica de papaya.*

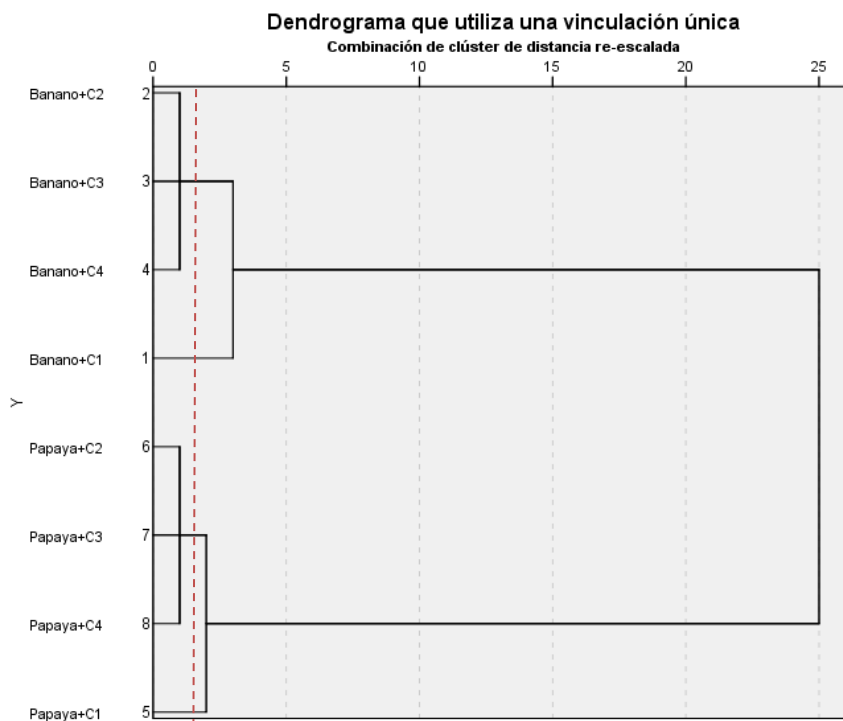
| <b>Microorganismo</b> | <b>T1</b> | <b>T2</b>       | <b>T3</b>         | <b>T4</b>            |
|-----------------------|-----------|-----------------|-------------------|----------------------|
| Aerobios (UFC/mL)     | 0         | 0               | $2,2 \times 10^9$ | $5,8 \times 10^{10}$ |
| Mohos (UFC/mL)        | 0         | $2 \times 10^8$ | $1 \times 10^8$   | $3 \times 10^8$      |
| Levaduras (UFC/mL)    | 0         | $1 \times 10^8$ | $4 \times 10^8$   | $4 \times 10^8$      |

La tabla 60 muestra los resultados obtenidos a los días de almacenamiento del fruto de papaya, se observa una mayor carga bacteriana y fúngica en el fruto control (T4) con respecto a los frutos tratados con SLC (T1, T2 y T3). Por otro lado, el T1 mostró un nulo crecimiento tanto de bacterias como de hongos y levaduras.

## Resultados de análisis de conglomerados en banano y papaya

**Figura 32.**

*Dendrograma para los factores de estudio en banano y papaya*



*Nota:* Los valores (1, 2, 3, 4) corresponden a los tratamientos aplicados en banano; y los valores (5, 6, 7, 8) corresponden a los tratamientos en papaya; C1:  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC; C2:  $8 \times 10^3$  UA/mL de SLC; C3:  $16 \times 10^3$  UA/mL de SLC; C4: Control sin SLC.

En la figura 32 se observa la formación de conglomerados por el método jerárquico aglomerativo, al analizar las variables evaluadas (Acidez titulable, pH, sólidos solubles y pérdida de peso) en frutos de papaya y banano. En la línea de corte en 5, se identificó la formación de dos clusters principales G1(2,3,4 y 1) y G2 (6, 7, 8 y 5), observándose una similitud más lejana entre los tratamientos aplicados en banano con los tratamientos aplicados en papaya. En una línea de corte menor (línea roja), se identificó cuatro clusters G1 (2,3 y 4), G2 (1), G3(6, 7 y 8) y G4 (5),

Identificándose estrecha similitud en G1 (Banano+8×10<sup>3</sup>UA/mL SLC; Banano+16×10<sup>3</sup>UA/mL SLC; Banano+sin SLC) y G3 (Papaya+8×10<sup>3</sup>UA/mL SLC; Papaya +16×10<sup>3</sup>UA/mL SLC; Papaya +sin SLC).

### Análisis de componentes principales en banano

**Tabla 61.**

*Matriz de correlaciones de componentes principales en banano*

|             |                 | Acidez<br>día 10 | Acidez<br>día 5 | Acidez<br>día 0 | SST<br>día10 | SST<br>día 5 | SST<br>Día 0 | pH<br>día10 | pH<br>día 5 | pH<br>día10 | PP<br>día10 |
|-------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Correlación | Acidez<br>día10 | 1                | 0,720           | 0,378           | 0,737        | 0,706        | 0,014        | -0,926      | -0,738      | 0,263       | 0,640       |
|             | Acidez<br>día5  | 0,720            | 1               | 0,345           | 0,610        | 0,918        | 0,029        | -0,608      | -0,901      | 0,148       | 0,822       |
|             | Acidez<br>día0  | 0,378            | 0,345           | 1               | 0,081        | 0,217        | 0,400        | -0,410      | -0,239      | 0,432       | 0,044       |
|             | SST<br>día10    | 0,737            | 0,610           | 0,081           | 1            | 0,660        | -0,001       | -0,707      | -0,665      | -0,361      | 0,739       |
|             | SST<br>día5     | 0,706            | 0,918           | 0,217           | 0,660        | 1            | -0,010       | -0,709      | -0,979      | 0,106       | 0,849       |
|             | SST<br>día0     | 0,014            | 0,029           | 0,400           | -0,001       | -0,010       | 1            | -0,146      | 0,087       | 0,135       | 0,276       |
|             | pH<br>día10     | -0,926           | -0,608          | -0,410          | -0,707       | -0,709       | -0,146       | 1           | 0,741       | -0,226      | -0,617      |
|             | pH<br>día5      | -0,738           | -0,901          | -0,239          | -0,665       | -0,979       | 0,087        | 0,741       | 1           | -0,068      | -0,803      |
|             | pH<br>día 0     | 0,263            | 0,148           | 0,432           | -0,361       | 0,106        | 0,135        | -0,226      | -0,068      | 1           | -0,075      |
|             | PP<br>día10     | 0,640            | 0,822           | 0,044           | 0,739        | 0,849        | 0,276        | -0,617      | -0,803      | -0,075      | 1           |

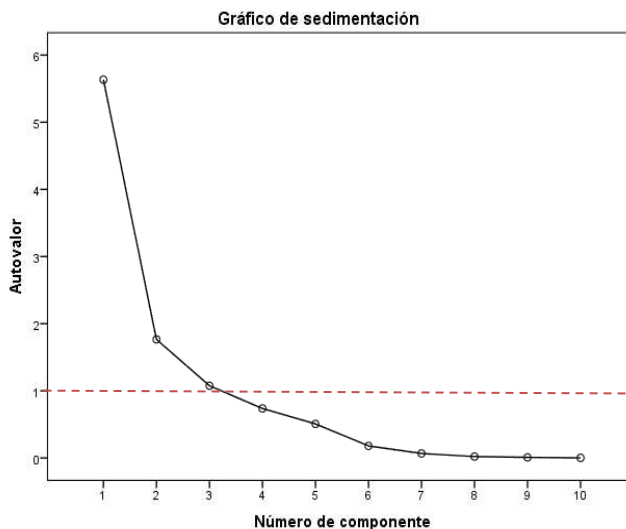
*Nota:* Acrónimos: PP (pérdida de peso), SST (sólidos solubles totales).

En la tabla 61 se presenta la existencia de una correlación positiva de la acidez a los 10 días con la acidez a los 5 días, sólidos solubles a los 5 y 10 días (0,720, 0,737 y 0,706) y una leve correlación con la pérdida de peso (0,640); la variable acidez del día 5 se correlaciona positivamente con sólidos solubles al día 5 y 10 (0,918 y 0,610); la pérdida de peso al día 10 se correlaciona con la acidez día 5 y los sólidos solubles de los días 5 y 10 (0,822, 0,739 y 0,849). También existió una leve correlación de la acidez con sólidos solubles día 0 y pH día 0 (0,400 y 0,432). Estas correlaciones indican la

relación entre azúcares, acidez y pérdida de peso ocasionado por los cambios bioquímico que se producen durante la maduración del banano.

**Figura 33.**

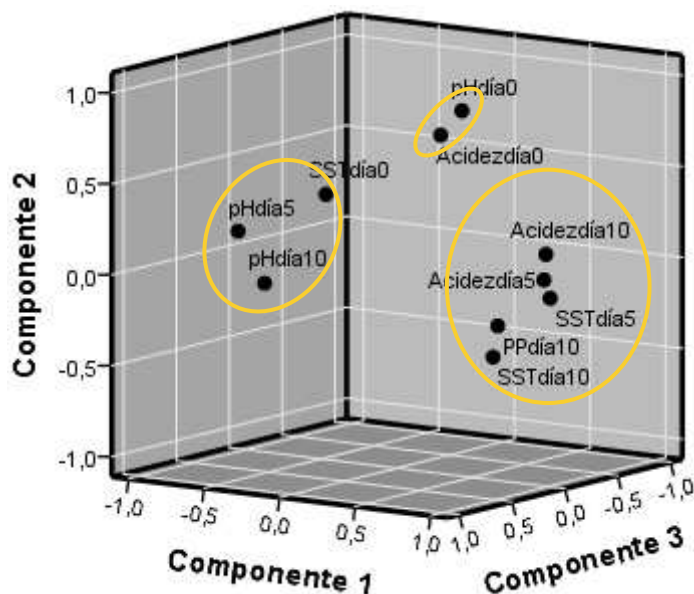
*Sedimentación del análisis de componentes principales en banano*



Se evaluó un total de 10 variables, en base a las variables con autovalores mayores a 1, visualizadas en la figura 33; se identificó tres componentes principales que tienen mayor porcentaje de explicación de la varianza, las cuales corresponden a las variables: acidez titulable a los 10 días (56,339%), acidez titulable a los 5 días (17,663%) y acidez titulable al día 0 (10,762%) mientras que, a partir de la tercera variable del gráfico, se observan autovalores menores a 1 y no se consideran relevantes en el estudio.

**Tabla 62.***Matriz de componentes en banano*

|               | Componentes |        |        |
|---------------|-------------|--------|--------|
|               | 1           | 2      | 3      |
| Acidez día 10 | 0,886       | 0,133  | -0,142 |
| Acidez día 5  | 0,907       | 0,001  | -0,094 |
| Acidez día 0  | 0,350       | 0,767  | 0,088  |
| SST día 10    | 0,795       | -0,387 | 0,228  |
| STT día 5     | 0,936       | -0,100 | -0,112 |
| SST día 0     | 0,101       | 0,522  | 0,816  |
| pH día 10     | -0,865      | -0,180 | 0,018  |
| pH día 5      | -0,935      | 0,121  | 0,168  |
| pH día 0      | 0,116       | 0,800  | -0,447 |
| PP día 10     | 0,866       | -0,201 | 0,285  |

**Figura 34.***Gráfico del análisis de componentes principales en banano*

En la tabla 62 se puede observar las agrupaciones de las variables en tres componentes. La figura 34 muestra la composición de las componentes, el primer componente está conformado por las variables acidez día 5, acidez día 10, SST día 5, SST día 10 y pérdida de peso día 10; todas estas variables convergen en una única



componente puesto que constituyen un grupo diferente de la matriz de correlación. El segundo componente se constituye de las variables de acidez día 0 y pH en día 0. Con respecto al componente 3 recoge las variables de sólidos solubles día 0 y menor correlación con pH día 10 y pH día 5.

### **Análisis de componentes principales en papaya**

**Tabla 63.**

*Matriz de correlaciones de variables medidas en los frutos de papaya*

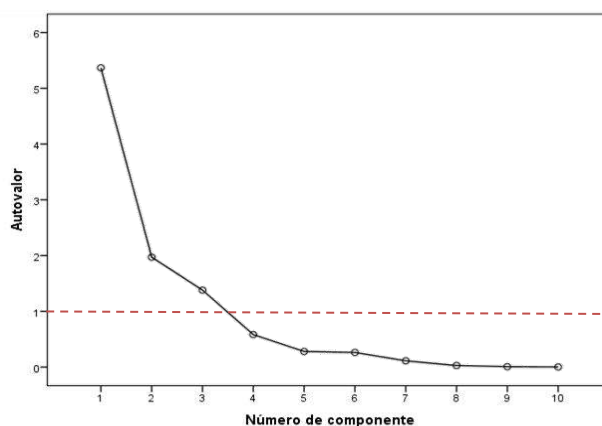
|             |                 | PP<br>día10 | SST<br>día10 | SST<br>día 5 | SST<br>día 0 | Acidez<br>día10 | Acidez<br>día 5 | Acidez<br>día0 | pH<br>día10 | pH<br>día 5 | pH<br>día10 |
|-------------|-----------------|-------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|----------------|-------------|-------------|-------------|
| Correlación | PP<br>día 10    | 1           | 0,880        | 0,647        | 0,247        | -0,693          | -0,880          | 0,035          | 0,585       | 0,634       | -0,448      |
|             | SST<br>día 10   | 0,880       | 1            | 0,761        | 0,009        | -0,868          | -0,922          | 0,267          | 0,778       | 0,616       | -0,418      |
|             | SST<br>día 5    | 0,647       | 0,761        | 1            | -0,023       | -0,593          | -0,896          | -0,126         | 0,484       | 0,585       | -0,135      |
|             | SST<br>día0     | 0,247       | 0,009        | -0,023       | 1            | 0,000           | -0,029          | -0,046         | -0,074      | 0,203       | -0,360      |
|             | Acidez<br>día10 | -0,693      | -0,868       | -0,593       | 0,000        | 1               | 0,740           | -0,507         | -0,855      | -0,335      | 0,540       |
|             | Acidez<br>día 5 | -0,880      | -0,922       | -0,896       | -0,029       | 0,740           | 1               | 0,039          | -0,605      | -0,657      | 0,217       |
|             | Acidez<br>día0  | 0,035       | 0,267        | -0,126       | -0,046       | -0,507          | 0,039           | 1              | 0,699       | -0,276      | -0,386      |
|             | pH<br>día10     | 0,585       | 0,778        | 0,484        | -0,074       | -0,855          | -0,605          | 0,699          | 1           | 0,034       | -0,349      |
|             | pH<br>día5      | 0,634       | 0,616        | 0,585        | 0,203        | -0,335          | -0,657          | -0,276         | 0,034       | 1           | -0,347      |
|             | pH<br>día 0     | -0,448      | -0,418       | -0,135       | -0,360       | 0,540           | 0,217           | -0,386         | -0,349      | -0,347      | 1           |

*Nota:* Acrónimos: PP (pérdida de peso), SST (sólidos solubles totales).

En la tabla 63 se observa una correlación de pérdida de peso día 10 con sólidos solubles (0,880) y una leve correlación con sólidos solubles día 5, pH día 5 y pH día 10 (0,647; 0,585 y 0,634); también, existió correlación de los sólidos solubles al día 5 con pH al día 5 y pH día 10 (0,585 y 0,484), del mismo modo los sólidos solubles al día 10 con pH en los días 5 y 10 (0,616 y 0,778). Además, una leve correlación entre la acidez del día 10 con el pH del día 0 (0,540).

**Figura 35.**

*Sedimentación del análisis de componentes principales en papaya*



Se evaluó un total de 10 variables, en base a las variables con autovalores mayores a 1, visualizadas en la figura 35; se identificó tres componentes principales que tienen mayor porcentaje de explicación de la varianza, las cuales corresponden a las variables: pérdida de peso a los 10 días (53,681%), sólidos solubles a los 10 días (19,724%) y sólidos solubles a los 5 días (13,810), mientras que el resto de variables evaluadas forman una caída poco inclinada en el gráfico de sedimentación y presentan autovalores menores a 1.

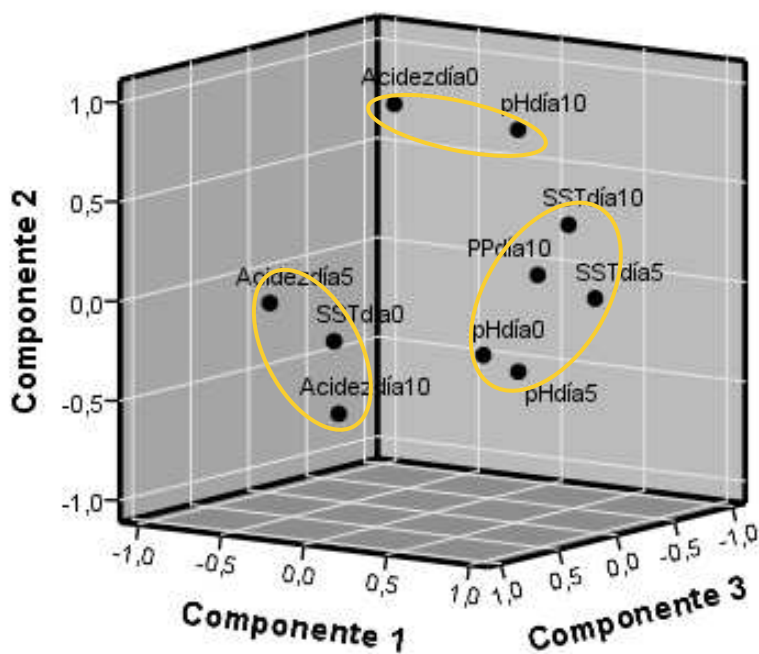
**Tabla 64.**

*Matriz de componentes en papaya*

|               | Componentes |        |        |
|---------------|-------------|--------|--------|
|               | 1           | 2      | 3      |
| PP día 10     | 0,849       | 0,213  | 0,306  |
| SST día 10    | 0,880       | 0,437  | 0,084  |
| SST día 5     | 0,904       | 0,041  | -0,111 |
| SST día 0     | 0,004       | -0,125 | 0,857  |
| Acidez día 10 | -0,645      | -0,695 | -,111  |
| Acidez día 5  | -0,978      | -0,155 | 0,009  |
| Acidez día 0  | -0,180      | 0,935  | 0,073  |
| pH día 10     | 0,467       | 0,851  | -0,070 |
| pH día 5      | 0,765       | -0,274 | 0,353  |
| pH día 0      | -0,202      | -0,445 | -0,727 |

**Figura 36.**

*Gráfico del análisis de componentes principales en papaya*



La tabla 64 muestra las agrupaciones de las variables en tres componentes. La figura 36 muestra la composición de las componentes, el primer componente estuvo conformado por las variables pérdida de peso día 10, SST día 5, SST día 10, pH día 0 y pH día 5. El segundo componente constituye las variables acidez día 0 y pH en el día 10. El componente 3 estuvo conformada por sólidos solubles día 0 y menor correlación con las variables acidez día 10 y acidez día 5.

## CAPÍTULO V

### Discusión

#### Microbiota de los frutos (Factor A)

Con respecto al diámetro de inhibición de la flora bacteriana de los frutos (Banano y Papaya) frente a la SLC, Jahan et al. (2018) manifiesta que en banano y papaya la carga microbiana predominante son las bacterias y hongos hasta  $10^7$  ufc/g y  $10^3$  ufc/g, respectivamente. En este trabajo, transcurridas 24 h de cultivo la zona de inhibición en Banano presentó un valor de  $8,00 \pm 1,304$  mm, mientras que para la microbiota de la Papaya se obtuvo un menor diámetro de inhibición de  $6,44 \pm 0,512$  mm. Varios trabajos informan de la potencial actividad antimicrobiana de la SLC producida por BAL contra patógenos contaminantes en frutos, como *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* Dhundale, 2018) (Ołdak et al., 2019) (Kim et al., 2020). Lo anterior, demuestra la capacidad de las BAL con propiedades probióticas para retrasar o inhibir el crecimiento de bacterias causantes de contaminación en los alimentos.

#### Concentración de la sustancia bioprotectora (Factor B)

La variable diámetro de inhibición con respecto a las cuatro concentraciones estudiadas de la sustancia bioprotectora obtenidas a partir de BAL, fue mayor para  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC con 8.06 mm a diferencia de la concentración  $32 \times 10^3$  UA/mL de SLC que presentó menor diámetro de inhibición 6,13 mm. Vanegas et al. (2017) reporta que los SLC presentan variables actividades antimicrobianas, las cuales se encuentran influenciadas por la microbiota bacteriana de los frutos, informa que a una concentración de  $64 \times 10^3$  UA/mL de SLC se llega a generar halos de inhibición frente a *L. monocytogenes*, esta capacidad de actividades antimicrobianas es representativa de *L. lactis subsp. lactis*. A su vez se identificó que a  $32 \times 10^3$  UA/mL de SLC obtenida

de *L. mesenteroides*, aislados de alimentos lácteos como queso o leche, presenta esta actividad inhibitoria frente a *L. monocytogenes*, sin embargo, frente a *S. typhimurium*, su efecto inhibitorio solo se consigue a  $2 \times 10^3$  UA/mL de SLC.

### **Interacción A\*B**

En la interacción Microbiota del fruto\*Concentración de SLC, se encontró un mayor diámetro de inhibición para los tratamientos compuestos por la microbiota de banano\*  $4 \times 10^3$  UA/ml de SLC y la Microbiota de banano\*  $8 \times 10^3$  UA/ml de SLC, siendo este valor respectivamente de 8.63 y 9.25 mm; a diferencia del tratamiento microbiota de papaya\*  $32 \times 10^3$  UA/ml de SLC, donde se evidencia una menor zona de inhibición con 5,75 mm.

Lobo, et al. (2009) describe que la microbiota que deteriora a los frutos mínimos procesados se componen principalmente de bacterias, mohos y levaduras. Entre los grupos bacterianos del fruto se encuentran *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Vibrio spp.* y *Shigella* (Jahan et al., 2018) y *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* (Rida & Deeba, 2018). Según Lobo, et al. (2009) la concentración microbiana de la piel de estos frutos depende del cultivo en campo y de la condición climatológica. En el estudio de Dhundale et al (2018) evaluaron la actividad antibacteriana enfrentadas a bacterias patógenas de frutos encontraron fuertes zonas inhibitorias causadas por los metabolitos producidas por *Lactobacillus equigenersi*, *Paenibacillus thailandensis*, *Paenibacillus cineris* y *Bacilo isabeliae* frente a *Pseudomonas*, los halos de inhibición respectivos fueron 15, 13, 10 y 10 mm. Otros estudios, evaluaron el potencial inhibitorio de dos cepas de bacterias ácido lácticas aisladas de la cuajada, identificando que una de las cepas frente a *Staphylococcus aureus* genera una zona inhibitoria de 22 mm (Shaikh & Shah, 2013); mientras que Mendez (2016), reporta valores de inhibición menor para *L. brevis*, *L. plantarum* y *L.*

*lactis frente a S. aureus*, estos halos corresponden a 9, 9 y 7 mm, siendo estos reportes de Méndez similares a los obtenidos en este estudio.

En este trabajo se evalúa la capacidad inhibitoria de la interacción de distintas concentraciones SLC frente a la microbiota de dos frutos. De acuerdo a Shruthy et al. (2011), el efecto probiótico y la actividad inhibitoria contra bacterias diarreicas son características de bacterias ácido lácticas aisladas de la cuajada, pertenecientes al género *Lactobacillus spp.*; además, las BAL y/o sus metabolitos pueden emplearse como bioconservantes (Linares-Morales et al., 2018).

### **Sustancia bioprotectora en banano y papaya**

#### ***Pérdida de peso***

La pérdida de peso en los frutos durante el periodo de almacenamiento puede estar relacionada a los procesos metabólicos activos del fruto, que generan pérdida de humedad y sustrato por la respiración de la fruta (Abbasi et al., 2011). En este trabajo, a los 10 días de almacenamiento, los frutos de bananos tratados a concentración de  $4 \times 10^3$  presentaron un porcentaje de pérdida de peso menor con 12.87% en comparación con los frutos sin tratar con 15.71%. El retardo en la pérdida de peso posiblemente es resultado de los efectos de sustancia libre de células como recubrimiento semipermeable que modifica la atmósfera interna del fruto, reduciendo la tasa de respiración, pérdida de agua y pérdida de peso (Ali et al., 2010).

El porcentaje de pérdida de peso en papayas tratadas con SLC fue menor con un 6.91% en aquellas con concentración de  $4 \times 10^3$  de SLC a diferencia de los frutos control que presentaron 9,68%. Ali et al. (2014), Narsaiah et al. (2015) indican que las papayas con recubrimientos comestibles pueden sellar parcialmente los poros de la cáscara del fruto formando una barrera semipermeable y crean una atmósfera modificada, limitando el intercambio gaseoso en el fruto. Sin embargo, este parámetro

puede verse afectado por diversos factores externos fuera de la cubierta de SLC alrededor de los frutos, incluyendo la temperatura y humedad relativa (Sucheta et al., 2019).

### ***pH***

En esta investigación se observó una disminución del pH al transcurrir el tiempo de conservación de banano, tanto de los frutos evaluados con SLC como de los frutos sin tratar. Estos resultados, difieren de los presentados por (Neeta & Rao, 2011); donde evaluaron 9 tipos de recubrimiento, identificando una tendencia de aumento en los valores de pH durante el almacenamiento del fruto. Sin embargo, se relacionan con los resultados reportados por otros estudios. Se identificó que la pulpa de los frutos control (sin SLC), presenta una rápida disminución de pH, Velásquez & Cardona (2012), en su estudio mencionan que esta disminución durante el periodo poscosecha se da en respuesta al incremento de acidez; en una etapa inicial de madurez verde, el pH debe ser alto, sin embargo, llega a decaer, debido a la disminución de ácidos orgánicos y su conversión en azúcar durante el proceso de maduración del fruto de banano. Esta disminución de pH en el aumento del grado de madurez del fruto es confirmada por Torres et al. (2013), ya que el almidón es degradado en azúcares reductores y convertido en ácido pirúvico.

Se encontró que, a los 10 días de almacenamiento, los frutos recubiertos con mayor concentración de SLC: T1 (SLC:  $4 \times 10^3$  UA/mL y T2 (SLC:  $8 \times 10^3$  UA/mL), presentaron un valor de pH (4.77) más alto, resultados similares se observaron en estudios, donde los bananos tratados con 1 y 2% de quitosano tuvieron un pH más alto (Karimi et al., 2018).

La variación de pH a partir de 0 a 10 días de conservación de papaya, presentó valores de entre 3.9 a 6.11, mientras que en el estudio de (Miranda et al., 2014),

evaluaron dos tipos de recubrimientos a base de almidón de yuca, reportan valores de pH de entre 5.1 a 5.6 durante 9 días de almacenamiento. A partir de los 0 a 6 días de conservación del fruto, Castro et al. (2011) reportan valores de entre 4.2 a 5.5. A diferencia del estudio de Erazo et al (2020), que emplean BAL como agentes de conservación de papaya y reportan valores de entre 5.33 a 7.50 de pH durante 14 días.

Con respecto a las papayas tratadas con SLC se observó que presentan un menor pH en comparación con el grupo control sin SLC, siendo el T3 (SLC:16×10<sup>3</sup> UA/mL), el que presenta el valor más bajo al transcurrir los 10 días de conservación del fruto. Resultados similares se encontraron en las investigaciones de Erazo Solórzano et al. (2020) y Salazar (2020). Pinto et al. (2006) manifiesta, que el incremento de pH observado en los frutos sin tratamiento; puede deberse al pico climatérico que alcanza el fruto de papaya, intensificando su actividad metabólica y la producción de ácidos; a su vez, Erazo Solórzano et al. (2020) menciona que una reducción metabólica, probablemente se deba a la menor difusión de O<sub>2</sub> provocada en los frutos.

Según (Linares-Morales et al., 2018); la aplicación de ácidos orgánicos como como recubrimiento en frutos, genera una disminución de las poblaciones microbianas en frutos, causando una reducción del pH de los frutos y vegetales.

### **Sólidos solubles**

Los sólidos solubles en los bananos de control (sin SLC) aumentaron durante el periodo de almacenamiento, mientras que los frutos tratados con SLC presentaron un aumento más lento. El cambio del porcentaje de sólidos solubles se debe a la hidrólisis del almidón a azúcares, como la sacarosa, glucosa y fructosa a medida que la fruta madura (Moreno-Alzate et al., 2016). El catabolismo de los azúcares puede estar influenciados por diversos factores, como las condiciones de maduración, almacenamiento y manejo poscosecha (Bapat et al., 2010). De acuerdo a Silva et al.



(2006) los valores bajos de sólidos solubles se deben al efecto del recubrimiento, que retrasa la maduración del fruto por disminución de la actividad metabólica.

Los sólidos solubles de papaya aumentaron durante los días de almacenamiento, el aumento fue mayor en los frutos sin tratamiento con respecto a las tratadas, como resultado de la conversión de almidón en azúcares más simples. De acuerdo a Narsaiah et al. (2015) este efecto se produce por la maduración natural de los frutos sin recubierta en condiciones de laboratorio (aprox. 24°C). Estos resultados variaron con respecto a los obtenidos por Salazar (2020), quien en su investigación con recubiertas de BAL indica una disminución del porcentaje de sólidos solubles durante el almacenamiento. Sin embargo, este parámetro coincide con los resultados obtenidos en otras investigaciones con recubiertas de almidón y propóleo (Barrera et al., 2012) (Miranda et al., 2014).

### ***Acidez titulable***

Los resultados indicaron que todos los tratamientos incluyendo el tratamiento sin recubrimiento con SLC aumentan la acidez titulable (% ácido málico) durante el periodo de conservación de banano, esto difiere con lo expuesto por Li et al., (2019), donde la acidez titulable (ácido málico/100 g) de los recubrimientos tratados con bionanocompuesto, disminuyeron significativamente a los 7 días de conservación. Mientras Karimi (2018) identificó un incremento de ácidos orgánicos durante el almacenamiento de banano, además determinó que los frutos de bananos tratados con recubrimiento en el último día de conservación, presentan tanto valores de acidez como de sólidos solubles más bajos; resultados similares a los observados en el presente estudio, siendo T1 (SLC:4×10<sup>3</sup> UA/mL) y T2 (SLC:8×10<sup>3</sup> UA/mL) con valores más bajos de acidez titulable, 0.367 y 0.368, respectivamente. Velásquez & Cardona (2012) consideran que el aumento de acidez titulable de la pulpa de banano se da con una

maduración progresiva del fruto, debido a que los ácidos orgánicos predominantes, disminuyen durante este periodo por su conversión en azúcar.

Los tratamientos evaluados presentaron una tendencia a disminuir en la variable acidez titulable (% ácido cítrico); resultados similares se describen en el estudio de Torres et al., (2013), quien detalla la tendencia de estos valores como propiedades físico químicas de la papaya hawaiana. Otros autores difieren de esta tendencia, indicando que los valores de acidez son oscilatorios durante el periodo de maduración del fruto. Castricini (2009) informa que un aumento hasta el sexto día de la aplicación del tratamiento puede estar relacionada a la respiración en la etapa climatérica de este fruto y su grado de madurez. En el presente estudio se determinó que al finalizar el periodo de almacenamiento los frutos tratados con SLC presentan un valor de acidez titulable mayor con respecto a los frutos sin tratamiento, resultados similares se observaron en las investigaciones de Castricini (2009) y Salazar (2020).

Castricini (2009) menciona que un aumento de la actividad enzimática y una reducción de la firmeza, llegan a generar una degradación de pared celular, siendo estos procesos capaces de favorecer aumento de acidez en el periodo final de la conservación de papaya, debido a la liberación de ácidos con las reacciones enzimáticas; un resultado enzimático detallado por la autora, es la degradación de pectina que forma ácido galacturónico. Salazar (2020) detalla resultados similares, estableciendo que la liberación de ácidos orgánicos a partir de reacciones enzimáticas induce a un incremento de acidez.

### ***Vida útil***

La vida útil de los frutos de banano evaluados con la SLC mostró una extensión del periodo de almacenamiento, reduciendo este efecto a medida que reduce la concentración de SLC aplicada a los frutos. Los tratamientos con  $4 \times 10^3$ ,  $8 \times 10^3$  y  $16 \times 10^3$

UA/ml de SLC promovieron la extensión de la vida útil de los frutos de banano en 14.0, 13.33 y 13 días respectivamente, en contraste con los frutos control (10.67 días). Este retraso en la maduración puede estar relacionado con la reducción de la tasa de ablandamiento, el desarrollo de color amarillo de la piel del fruto y la humedad del fruto (Castellanos et al., 2011) por efecto de la recubierta formada por SLC (Ali et al., 2010).

En los frutos de papaya el periodo de vida útil presentó una relación positiva a una mayor concentración, se presentó una extensión de hasta 4 días más en los frutos de evaluados con SLC con respecto a los frutos del T4 (sin SLC). El tratamiento T1 incremento la vida útil del fruto hasta 12,33 días. Los resultados obtenidos fueron menores a los de Salazar (2020), quién en su trabajo indica que las papayas a los 14 días de conservación presentaron propiedades organolépticas, como el sabor que influye en la aceptabilidad por parte del consumidor.

### ***Calidad microbiológica***

Con respecto al crecimiento de aerobios, los bananos tratados con SLC muestran una reducción microbiana en comparación al grupo que no recibió tratamiento con SLC. Respecto a los mohos y levaduras, se observa un efecto bioprotector al recubrir los frutos con  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC, presentando una ausencia total de microorganismos causantes del deterioro del fruto de banano durante el periodo de almacenamiento, a diferencia de los frutos control, sin tratamiento con SLC que presentaron mayor carga microbiana para aerobios, mohos y levaduras. Los resultados presentados en el estudio son similares a los reportados por Rocha, et al (2011), donde observaron mayor recuento de aerobios en placa y menor recuentos de mohos y levaduras, al recubrir los bananos Cavendish con carragenina en atmósfera controlada durante nueve días de almacenamiento del fruto. Sugiere una mejor

capacidad antimicrobiana al aplicar el recubrimiento por inmersión química en bananos recién cortados.

Los frutos de papaya recubiertas con  $4 \times 10^3$  UA/mL de SLC, mostraron un efecto protector no solo en la maduración sino también en la reducción de senescencia del fruto, favoreciendo su inocuidad para su consumo con la ausencia del crecimiento de microorganismos causantes del deterioro de la papaya durante el periodo de conservación. Los frutos evaluados a concentraciones menores de SLC ( $8 \times 10^3$  UA/mL de SLC y  $16 \times 10^3$  UA/mL) mostraron menor carga microbiana (UFC/mL) en comparación a los frutos que no recibieron tratamiento con SLC, que presentaron mayor concentración de aerobios, mohos y levaduras durante el almacenamiento. La reducción o ausencia de microorganismos causantes del deterioro de frutos climatéricos, De Simone et al. (2021) menciona que se debe a la capacidad de las bacterias ácido lácticas de sintetizar diversos metabolitos con efectos antimicrobianos, a su vez sugiere la aplicación de estas sustancias en la industria alimentaria como un recurso sustentable contra el crecimiento de mohos en frutos y vegetales.

## CAPÍTULO VI

### Conclusiones y Recomendaciones

#### Conclusiones

##### ***Microbiota de los frutos (Factor A)***

Los bioensayos en placa muestran que la actividad antimicrobiana de la SLC depende del patógeno, se presenta un mayor efecto de inhibición del crecimiento de la microbiota de banano con un diámetro inhibitorio de 8,00 mm, en cambio la microbiota de papaya muestra un menor valor (6,44 mm).

En base a los resultados mostrados en el Factor A, se acepta la hipótesis alternativa bajo el argumento de que los microorganismos contaminantes de los frutos influyen en el diámetro de inhibición, y se concluye que el mejor efecto inhibitorio se obtiene al emplear la SLC en la microbiota procedente de banano.

##### ***Concentración de la sustancia bioprotectora (Factor B)***

La concentración  $4 \times 10^3$  UA/ml de SLC generó un mayor diámetro de inhibición con 8.06 mm, mientras que  $32 \times 10^3$  UA/ml de SLC produjo una menor zona de inhibición con 6,13 mm.

En base a los datos obtenidos, se acepta la hipótesis alternativa para el Factor B, y se identifica que la concentración de la sustancia bioprotectora influye en la inhibición de la microbiota causante de contaminación y deterioro de banano y papaya; concluyendo que la concentración menos diluida de SLC ( $4 \times 10^3$  UA/ml), genera una máxima zona inhibitoria frente a la microbiota de los frutos.

##### ***Interacción A\*B***

En la interacción, se concluye que los tratamientos T1 (Microbiota de banano \*  $4 \times 10^3$  UA/ml de SLC) y T2 (Microbiota de banano \*  $8 \times 10^3$  UA/ml) presentaron mejores

efectos inhibitorios con 8.63 mm y 9.25 mm; mientras que el tratamiento T8 (microbiota de papaya\*  $32 \times 10^3$  UA/ml de SLC) presenta menor halo inhibitorio con 5,75 mm. Por lo tanto, se concluye que la SLC en mayor concentración presenta un mejor efecto antimicrobiano frente a los microorganismos causantes del deterioro de los frutos de banano.

### ***Sustancia bioprotectora en banano***

Se concluye que la aplicación de SLC influyo en la conservación y calidad de los frutos de banano, la sustancia con mayor concentración T1 ( $4 \times 10^3$  UA/mL) genera mejores características fisicoquímicas, microbiológicas y de peso en los frutos, lo cual permite que las propiedades fisicoquímicas sean óptimas para retrasar la maduración de banano, a los 10 días de almacenamiento se evidencia que los frutos tienen un mayor pH (4.77), menor cantidad de solidos solubles (21.67 %), menor valor de acidez titulable (0.367%); con respecto a la calidad microbiológica se evidencia una baja carga microbiana (bacterias aerobias) sobre su cobertura y una ausencia total de mohos y levaduras. Y finalmente, la variable vida útil indica que los bananos son aceptables para el consumo hasta los  $14 \pm 0.577$  días.

Con respecto al análisis de componentes principales se observó que las variables que mejor explican la varianza total del estudio en banano son: acidez titulable a los 10 días, 5 días y 0 días. La maduración del banano durante un periodo de almacenamiento de 10 días está relacionada principalmente con la variación de la acidez titulable en los 5 y 10 días, lo cual reduce la actividad metabólica del fruto, evitando su maduración temprana y retardando su deterioro.

En base a los resultados obtenidos por la aplicación de SLC en bananos, en las que se encontró diferencia significativa en todas las variables, se concluye que se

acepta la hipótesis alternativa con el argumento de que la aplicación de SLC sobre los frutos si influye en la conservación y calidad del banano.

### ***Sustancia bioprotectora en papaya***

Se concluye que la concentración de  $4 \times 10^3$  UA/mL (T1) de SLC influye en la conservación de la papaya. Se evidencia que además de retardar la maduración del fruto, logra extender significativamente su vida útil hasta los  $12.33 \pm 0.577$  días, a los 10 días de conservación se observa una menor de pérdida de peso (6.91%), una reducción del valor de pH (5.87), menor porcentaje de sólidos solubles (8,43%) y una mayor acidez titulable (0.047%), considerando la calidad microbiológica se observa una ausencia total de aerobios, mohos y levaduras.

Con respecto al análisis de componentes principales se evidenció que las variables: pérdida de peso al día 10, sólidos solubles tanto al día 10 como al día 5, explican la varianza total del estudio en papaya; además durante el periodo de almacenamiento del fruto, se identificó que la pérdida de peso al día 10 presenta una fuerte correlación con sólidos solubles al día 10 y una leve correlación con sólidos solubles al día 5 y con pH al día 10 y día 5.

En base a los resultados obtenidos de las variables evaluadas y los efectos producidos al aplicar SLC como recubierta en los frutos; se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que la concentración de la sustancia bioprotectora a diferentes concentraciones influye en la conservación y calidad del fruto de papaya.

## Recomendaciones

Se recomienda obtener bacterias ácido lácticas productoras de sustancias antimicrobianas a partir de la cuajada y de medios de cultivos enriquecidos para su crecimiento. Además, realizar una caracterización molecular de las bacterias aisladas.

Se recomienda realizar ensayos in vitro de la sustancia bioprotectora producida por BAL sobre la microbiota de banano para analizar a profundidad su efecto inhibitorio. Además, evaluar dicha actividad antimicrobiana en otros frutos climatéricos de importancia económica.

Se recomienda el uso de la solución bioprotectora producida por BAL probióticas en altas concentraciones para lograr inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos de banano y papaya.

Se recomienda aplicar la SLC a la concentración  $4 \times 10^3$  UA/ml para prolongar el período de vida útil en bananos y papayas. Posterior a su conservación realizar un análisis sensorial para identificar las cualidades organolépticas aceptadas por los consumidores.



## CAPÍTULO VII

### Bibliografía

- Abbasi, K. S., Anjum, N., Sammi, S., Masud, T., & Sartaj, A. (2011). Effect of Coatings and Packaging Material on the Keeping Quality of Mangoes (*Mangifera indica* L.) Stored at Low Temperature. *Pakistan Journal of Nutrition*. Obtenido de <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012062833>
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M., & Varzakas, T. (2020). Lactic Acid Bacteria as Antibacterial Agents to Extend the Shelf Life of Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: Quality and Safety Aspects. *Microorganisms*, 8(6), 952. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>
- Agurto Sáenz, T., & Ramos Gorbeña, J. (2008). Bacterias ácido lácticas: Biopreservantes de los alimentos. *Biotempo*, 8, 54-64. doi:10.31381/biotempo.v8i0.865
- Ali, A., Cheong, C. K., & Zahid, N. (2014). Composite effect of propolis and gum arabic to control postharvest anthracnose and maintain quality of papaya during storage. *Int. J. Agric. Biol*, 1117–1122. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Noosheen-Zahid-4/publication/328576414\\_Composite\\_Effect\\_of\\_Propolis\\_and\\_Gum\\_Arabic\\_to\\_Control\\_Postharvest\\_Anthracnose\\_and\\_Maintain\\_Quality\\_of\\_Papaya\\_during\\_Storage/links/5bd680ffa6fdcc3a8dad71a7/Composite-Effect-of-Pro](https://www.researchgate.net/profile/Noosheen-Zahid-4/publication/328576414_Composite_Effect_of_Propolis_and_Gum_Arabic_to_Control_Postharvest_Anthracnose_and_Maintain_Quality_of_Papaya_during_Storage/links/5bd680ffa6fdcc3a8dad71a7/Composite-Effect-of-Pro)
- Ali, A., Maqbool, M., Ramachandran, S., & Alderson, P. G. (2010). Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 58(1), 42-47. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.05.005>
- Arias, L. (2016). *Efectos de los tratamientos térmicos sobre las propiedades nutricionales de las frutas y las verduras*. [Tesis grado, Corporación Universitaria Lasallista], Caldas-Antioquia. Obtenido de [http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1763/1/Tratamientos\\_termicos\\_propiedades\\_frutas\\_verduras.pdf](http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1763/1/Tratamientos_termicos_propiedades_frutas_verduras.pdf)
- Arreaga, L. (2017). *La producción y exportación de las principales frutas no tradicionales y su importancia en las exportaciones totales del Ecuador, periodo 2012-2016*.

- [Tesis grado, Universidad de Guayaquil], Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/23040/1/TESIS%20FINAL.pdf>
- Asociación de Exportadores de Banano del Ecuador, [. (Mayo de 2021). Más Ecuador en el mundo. (148). Obtenido de [https://f4cd675b-3f71-47d5-8daa-725c5f8789e5.usrfiles.com/ugd/f4cd67\\_c4cc6da3eb34416daf1824fee7364308.pdf](https://f4cd675b-3f71-47d5-8daa-725c5f8789e5.usrfiles.com/ugd/f4cd67_c4cc6da3eb34416daf1824fee7364308.pdf)
- Balamurugan, R., Chandragunasekaran, A. S., Chellappan, G., Rajaram, K., Ramamoorthi, G., & Ramakrishna, B. S. (2014). Probiotic potential of lactic acid bacteria present in home made curd in southern India. *The Indian Journal of Medical Research*, 345-355. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4248380/>
- Bapat, V. A., Trivedi, P. K., Ghosh, A., Sane, V., Ganapathi, T. R., & Nath, P. (2010). Ripening of fleshy fruit: Molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology Advances*, 28(1), 94-107. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0734975009001803>
- Barrera Bello, E., Gil Loaiza, M., García Pajón, C., & Durango Restrepo, D. (2012). *Empleo de un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo poscosecha de frutos de papaya (carica papaya l. cv. hawaiana)*. doi:<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/41485>
- Barrett, D. M., & Lloyd, B. (2011). Advanced preservation methods and nutrient retention in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 7-22. Obtenido de <https://doi.org/10.1002/jsfa.4718>
- Cabo, M. L., Braber, A. F., & Koenraad, P. M. (2002). Apparent Antifungal Activity of Several Lactic Acid Bacteria against *Penicillium discolor* Is Due to Acetic Acid in the Medium. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1309-136. Obtenido de <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.8.1309>
- Cachay, L. (2017). *Maduración controlada y color en bananos*. [Tesis Grado, Universidad Nacional de San Martín-Tarapoto], Tarapoto, Perú. Obtenido de [http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2499/MADURACION%20CONTROLADA%20Y%20COLOR%20EN%20BANANOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20Mart%C3%ADn%20del%20Campo%20M.,%20C.%20I.,%20G%C3%B3mez%20H.,%20H.%20E.,%20&%20Alan%C3%ADz%20de%20la%20O.,%20R.%20\(2](http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2499/MADURACION%20CONTROLADA%20Y%20COLOR%20EN%20BANANOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20Mart%C3%ADn%20del%20Campo%20M.,%20C.%20I.,%20G%C3%B3mez%20H.,%20H.%20E.,%20&%20Alan%C3%ADz%20de%20la%20O.,%20R.%20(2)

- CANILEC. (2011). *El libro blanco de la leche y los productos lácteos*. México: Cámara Nacional de Industriales de la Leche.
- Cartaya Díaz, N., Domínguez Palarea, E., Buena, A., Díaz, P., Manolo, A., Yanes, D., . . . Hernández Hernández, J. (2011). Evaluación de eficacia de productos naturales para el control de la pudrición de corona (crown rot) en plátano. Obtenido de [https://www.agrocabildo.org/publica/publicaciones/subt\\_393\\_ensayo\\_postcosecha\\_platano.pdf](https://www.agrocabildo.org/publica/publicaciones/subt_393_ensayo_postcosecha_platano.pdf)
- Castellanos, D. A., Algecira, N. A., & Villota, C. P. (2011). Aspectos relevantes en el almacenamiento de banano en empaques con atmósferas modificadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 12(2), 114-134. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81320900002>
- Castricini, A. (2009). *Aplicação de Revestimentos Comestíveis para Conservação de Mamões (Carica papaya L.) 'Golden'*. Obtenido de Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro [Pós-Graduação Em Fitotecnia]: <https://tede.ufrj.br/jspui/bitstream/tede/555/1/2009%20-%20Ariane%20Castricini.pdf>
- Castro, A., Delane, J., Pimentel, R., & Souza, D. (2011). Estudio de la conservación de la papaya (*Carica papaya L.*) asociado a la aplicación de películas comestibles Study of preservation of papaya (*Carica papaya L.*) associated with the application of edible films. *Revista Venezolana de Ciencia Y Tecnología de Alimentos*, 2(1), 49-60. Obtenido de <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495326952.pdf>
- Conabio. (2003). *Carica papaya*. Obtenido de [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/23-caric1m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/23-caric1m.pdf)
- Corbo, M., Campaniello, D., Speranza, B., Bevilacqua, A., & Sinigaglia, M. (2015). Non-Conventional Tools to Preserve and Prolong the Quality of Minimally-Processed Fruits and Vegetables. *Coatings*, 5(4). Obtenido de <https://doi.org/10.3390/coatings5040931>
- De Simone, N., Capozzi, V., De Chiara, M., Amodio, M., Brami, S., Colelli, G., . . . Russo, P. (2021). Screening of Lactic Acid Bacteria for the Bio-Control of *Botrytis cinerea* and the Potential of *Lactiplantibacillus plantarum* for Eco-Friendly

- Preservation of Fresh-Cut Kiwifruit. *Microorganisms*, 9(4), 773. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040773>
- Delavenne, E., Ismail, R., Pawtowski, A., Mounier, J., Barbier, G., & Le Bay, G. (2013). Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures. (C. Elsevier, Ed.) *Food Control*. Obtenido de Food Control: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-5848ff5f-fc10-3848-afde-6cb10fe8cb46>
- Dhundale, V., Hemke, V., Desai, D., & Dhundale, P. (2018). Evaluation and Exploration of Lactic Acid Bacteria for Preservation and Extending the Shelf Life of Fruit. *International Journal of Fruit Science*, 18(4). doi:<https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1435331>
- El Comercio. (2012). La papaya nacional tiene su espacio en el extranjero. *Revista líderes*. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/papaya-nacional-espacio-extranjero.html>
- Erazo Solórzano, C., Salazar Daza, D., Vera Chang, J., & Tuárez García, D. (2021). Application of lactic acid bacteria from cocoa mucilage as a preservative agent for papaya. *Universidad Ciencia y Tecnología*. Obtenido de <https://www.uctunexpo.autanabooks.com/index.php/uct/article/view/412/815>
- Guimarães, A., Venancio, A., & Abrunhosa, L. (2018). Antifungal effect of organic acids from lactic acid bacteria on *Penicillium nordicum*. *Food Additives & Contaminants*, 35(9), 803-188. Obtenido de <https://doi.org/10.1080/19440049.2018.1500718>
- Hernández, L., & Vit, P. (2009). El plátano. Un cultivo tradicional con importancia nutricional. *Revista del Colegio de Farmacéuticos del Estado Mérida*, 2, 11-14. Obtenido de [http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/30260/ff2009\\_iiplatano.pdf?sequence=2&isAllowed=y](http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/30260/ff2009_iiplatano.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Jahan, N., Noor, R., & Munshi, S. K. (2019). Microbiological analysis and determination of antimicrobial traits of green banana (*Musa spp.*) and papaya (*Carica papaya*). *Stamford Journal of Microbiology*, 8(1), 41-45. doi:[doi:10.3329/sjm.v8i1.42439](https://doi.org/10.3329/sjm.v8i1.42439)
- Karimi, M., Hosseini, M., & Zahedi, S. M. (2018). The Effect of Postharvest Chitosan Treatment on the Quality Maintenance of Banana (*Musa acuminata* cv. Cavendish) during Cold Storage. *Journal of Crop Production and Processing*, 8(1), 1-14. Obtenido de <https://doi.org/10.29252/jcpp.8.1.1>

- Kim, S. W., Kang, S. I., Shin, D. H., Oh, S. Y., Lee, C. W., Yang, Y., . . . Bang, W. Y. (2020). Potential of Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus plantarum* NIBR97, Including Novel Bacteriocins, as a Natural Alternative to Chemical Disinfectants. *Productos farmacéuticos*, 13(10), 266. Obtenido de <https://doi.org/10.3390/ph13100266>
- Kumar, P., Lee, J.-H., Beyenal, H., & Lee, J. (2020). Fatty Acids as Antibiofilm and Antivirulence Agents. *Trends in Microbiology*, 28(9), 753-768. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.014>
- Langa, S., Martín-Cabrejas, I., Montiel, R., Landete, J., Medina, M., & Arqués, J. (2014). Short communication: Combined antimicrobial activity of reuterin and diacetyl against foodborne pathogens. *Journal of Dairy Science*, 97(10), 6116-6121. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030214005268>
- Li, J., Sun, Q., Sun, Y., Chen, B., Wu, X., & Le, T. (2019). Improvement of banana postharvest quality using a novel soybean protein isolate/cinnamaldehyde/zinc oxide bionanocomposite coating strategy. *Scientia Horticulturae*, 258. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108786>
- Linares-Morales, J. R., Gutiérrez-Méndez, N., Rivera-Chavira, B. E., Pérez-Vega, S. B., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2018). Procesos de biocontrol en frutas y productos frescos, el uso de bacterias del ácido láctico como opción sostenible. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. doi:DOI: 10.3389 / fsufs.2018.00050
- Lobo, G., Hernández, Y., & Gonzalez, M. (2009). Cambios microbiológicos y sensoriales de frutos frescos cortados de origen tropical: piña, papaya y mango. En *Aspectos Nutricionales y Sensoriales de Vegetales Frescos Cortados* (págs. 154-195). Trillas.
- Maeda, C., & Nelson, S. (2014). Plant Disease Anthracnose of Papaya in Hawai'i. *UH-CTAHR* . Obtenido de <https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/PD-103.pdf>
- Mendez, M. (2016). *Identificación bioquímica y evaluación de la capacidad bacteriocinogénica de las bacterias ácido lácticas aisladas de quesillos artesanales*. [Tesis Pregrado, Universidad del Azuay], Cuenca, Ecuador. Obtenido de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5725/1/12045.pdf>
- Ministerio de Comercio Exterior, [. (2017). *Informe sector bananero ecuatoriano*. Quito. Obtenido de <https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-esp%C3%B1ol-04dic17.pdf>

- Miranda, A. D., Alvis, A., & Arrázola, G. S. (2014). Efectos de dos recubrimientos sobre la calidad de la papaya (carica papaya) variedad tainung. *Temas agrarios*, 19(1), 7-18. doi:<https://doi.org/https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4994550.pdf>
- Moreno-Alzate, J. L., Lopez-Lopez, K., & Dufour, D. (2016). Cambios bioquímicos durante la maduración de diferentes variedades de bananos cultivadas en Colombia. CIBB-BA-EO-066. *Agritrop*. Obtenido de <https://agritrop.cirad.fr/582024/>
- Narsaiah, K., Wilson, R. A., Gokul, K., Mandge, H. M., Jha, S. N., Bhadwal, S., . . . R.K. Malik, S. V. (2015). Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 100, 212-218. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.10.003>.
- Neeta, B. G., & Rao, T. R. (2011). Banana Fruit Ripening as Influenced by Edible Coatings. *International Journal of Fruit Science*, 11(2), 119-135. doi:DOI: 10.1080/15538362.2011.578512
- Nobmann, P., Smith, A., Dunne, J., Henehan, G., & Bourke, P. (2009). The antimicrobial efficacy and structure activity relationship of novel carbohydrate fatty acid derivatives against *Listeria* spp. and food spoilage microorganisms. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), 440-445. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.10.008>
- NTE INEN 389. (1985). Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ion hidrógeno.
- NTE INEN, 380. (1985). Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico.
- NTE INEN, 381. (1985). Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico de referencia.
- O'Connor, P. M., Ross, R. P., Hill, C., & D, C. P. (2015). Antimicrobial antagonists against food pathogens: a bacteriocin perspective. *Current Opinion in Food Science*, 51-57. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.01.004>
- Oldak, A., Zielińska, D., Łepecka, A., Długosz, E., & Kolożyn-Krajewska, D. (2019). *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Polish Regional Cheeses Exhibit Anti-Staphylococcal Activity and Selected Probiotic Properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(3), 1025-1038. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09587-w>

- Parra Huertas, R. (2010). Review. Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&tlng=es)
- Pinto, L. K., & et al. (2006). Influência da atmosfera modificada por filmes plásticos sobre a qualidade do mamão armazenado sob refrigeração. *Food Science and Technology*, 26(4), 744-748. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000400005>
- Quiceno, M., Giraldo, G., & Villamizar, R. (2014). Caracterización fisicoquímica del plátano (*Musa paradisiaca* sp. AAB, Simmonds) para la industrialización. *UGCiencia*, 48-54. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/268087837.pdf>
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS microbiology reviews*, 37(5), 664-698. Obtenido de <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Rida, B., & Deeba, F. (2018). Microbiological Safety Assessment of Fresh Fruits and Vegetables Collected from Main Markets of Multan, Pakistan. *Journal of Bioresource Management*, 5(2). Obtenido de <https://doi.org/10.35691/JBM.8102.0085>
- Rocha, M., Vaz, A. L., Raposo, M., Nieto Almeida, G., & Morais, A. (2011). Preservation of fresh-cut "Cavendish" banana coated with carrageenan and in controlled atmosphere. *International Journal of Postharvest Technology and Innovation*, 2(2). Obtenido de <https://www.inderscienceonline.com/doi/abs/10.1504/IJPTI.2011.041038>
- Roman, Y. (2017). *Evaluación sensorial de frutos de papaya (Carica papaya Linnaeus)*. [Tesis Maestría, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco], Guadalajara. Obtenido de <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/376/1/Yvonne%20Roman%20Maldonado.pdf>
- Ruiz, M. (2019). *Aislamiento e identificación de bacterias ácido lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos*. [Tesis Doctoral, UNICEN], Argentina. Obtenido de [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/103805/CONICET\\_Digital\\_Nro.8cef83fa-2860-4649-a04a-afc9e5f8660b\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/103805/CONICET_Digital_Nro.8cef83fa-2860-4649-a04a-afc9e5f8660b_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

- Sabir, A., Sabir, F. K., & Kara, Z. (2011). Effects of modified atmosphere packing and honey dip treatments on quality maintenance of minimally processed grape cv. Razaki (*V. vinifera* L.) during cold storage. *Journal of Food Science and Technology*, 48(3), 312-318. Obtenido de <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0237-z>
- Salazar, D. (2020). *Conservación de la papaya (Carica papaya L.) con aplicación de bacterias ácido lácticas provenientes del mucilago de cacao (Theobroma cacao L.)*. [Tesis-Grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo], Los Ríos, Ecuador. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/5262/1/T-UTEQ%20-0100.pdf>
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Cháfer, M., & Chiralt, A. (2008). Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. *VII Congreso SEAE Bullas*. Obtenido de [https://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2009/eventos-seae/cds/congresos/actas-bullas/seae\\_bullas/verd/posters/5%20P.%20CALIDAD/calidad3.pdf](https://www.agroecologia.net/recursos/publicaciones/publicaciones-online/2009/eventos-seae/cds/congresos/actas-bullas/seae_bullas/verd/posters/5%20P.%20CALIDAD/calidad3.pdf)
- Santamaría Basulto, F., Sauri Duch, E., Espadas, F., Díaz Plaza, R., Larqué Saavedra, A., & Santamaría, J. (2009). ostharvest ripening and maturity indices for maradol papaya. *Interciencia*, 34(8), 583-588. Obtenido de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009000800012&lng=es&tlng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000800012&lng=es&tlng=en).
- Shaikh, M., & Shah, G. (2013). Determination of probiotic properties of lactic acid bacteria from curd. *Global Journal of Biology, Agriculture & Health Sciences*, 119-122. doi:<https://www.longdom.org/articles/determination-of-probiotic-properties-of-lactic-acid-bacteria-from-curd.pdf>
- Shruthy, V., Pavithra, M., Ghosh, A., & Asit, R. (2011). Probiotic potentials among lactic acid bacteria isolated from curd. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 22. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/281583921\\_PROBIOTIC\\_POTENTIAL\\_S\\_AMONG\\_LACTIC\\_ACID\\_BACTERIA\\_ISOLATED\\_FROM\\_CURD](https://www.researchgate.net/publication/281583921_PROBIOTIC_POTENTIAL_S_AMONG_LACTIC_ACID_BACTERIA_ISOLATED_FROM_CURD)
- Silva, C., Lima, L. C., Santos, H. S., Camili, E. C., Vieira, C. R., Martin, C., & Vieites, R. L. (2006). Amadurecimento da banana-prata climatizada em diferentes dias após a colheita. *Ciência E Agrotecnologia*, 30(1), 103-111. Obtenido de <https://doi.org/10.1590/s1413-70542006000100015>



- Soto, M. (2017). *Bananos. Manejo poscosecha y comercialización* (III ed.). San José, Costa Rica: Litografía e Imprenta LIL.
- Sucheta, C. K., Sharma, N., & Yadav, S. K. (2019). Composite edible coatings from commercial pectin, corn flour and beetroot powder minimize post-harvest decay, reduces ripening and improves sensory liking of tomatoes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133, 284-293. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.132>
- Tello, P. (2014). Proyecto de evaluación de pérdidas físicas en poscosecha de productos agrícolas en etapa de mercadeo y elaboración de estrategias para mejoras del mercado municipal La Carolina. Quito, Pichincha. [Tesis grado, Universidad Central del Ecuador]. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2501/1/T-UCE-0004-73.pdf>
- Titan Biotech Ltd. (s.f.). *LACTOBACILLUS MRS AGAR (MRS AGAR) TM 146*. Obtenido de TMMEDIA: [https://www.tmmedia.in/sites/default/files/TM-146\\_Lactobacillus\\_Mrs\\_Agar\\_TD.pdf](https://www.tmmedia.in/sites/default/files/TM-146_Lactobacillus_Mrs_Agar_TD.pdf)
- Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., & Andrade, R. D. (2013). Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51-56. Obtenido de <https://doi.org/10.4067/s0718-07642013000300007>
- Velásquez, H. J., & Cardona, L. (2012). Caracterización mecánica y física-química del banano tipo exportación (Cavendish valery). Obtenido de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace//bitstream/10567/136/1/10.%20163-192.pdf>
- Venegas, M. F., Londoño Zapata, A., Durango Zuleta, M., Gutiérrez Buriticá, M., Ochoa Agudelo, S., & Sépulveda Valencia, J. (2017). Capacidad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas autóctonas aisladas de queso doble crema y quesillo colombiano. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15. doi:DOI: 10.18684 / BSAA (15) 45-55
- Wouters, J. T., Ayad, E. H., Hugenholtz, J., & Smit, G. (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12, 91-109. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00151-0)