



EVALUACIÓN DEL EFECTO FUNCIONAL ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO LIOFILIZADO DE CANELA (*Cinnamomum zeylanicum*) COMO INGREDIENTE DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE PARA PIÑA (*Ananas comosus*) MÍNIMAMENTE PROCESADA

Zapata Huebla, Tatiana Lizeth

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Larrea Cedeño Gabriel Alejandro, Mgt.

2022

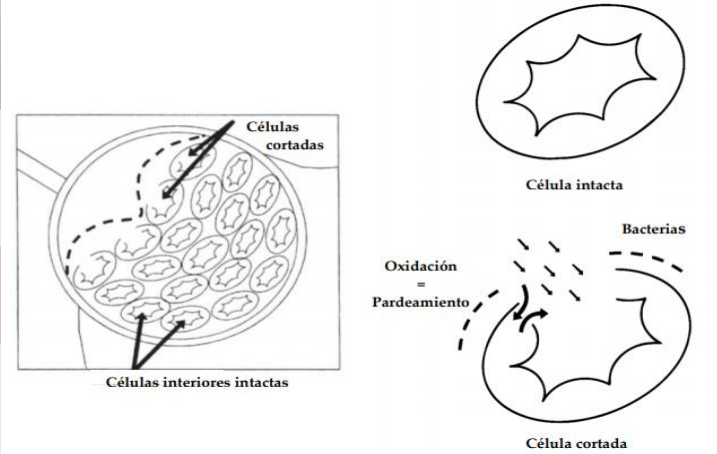


JUSTIFICACIÓN



Se realizó análisis físico, químico y microbiológico para evaluar la influencia del principio activo (PA) de canela sobre la piña mínimamente procesada observando su función antimicrobiana y finalmente sensorial para su aceptabilidad.

Considerar sea mínimo el proceso en productos se modifica: naturaleza metabólica e interfiere en su tasa de respiración normal.



IDEA: incorporar a ellos recubrimientos comestibles (RC) que actúan como una capa adicional: reducir transpiración y pérdida de peso.



Los RC son realizados a base de polisacáridos, proteínas, plastificantes, lípidos o extractos siendo este importante para este estudio.

Piña mínimamente procesada tiene una vida útil corta reducida principalmente por procesos de degradación fisiológicos y microbianos.



OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivo general

Evaluar el efecto funcional antimicrobiano del extracto liofilizado de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) como ingrediente de un recubrimiento comestible para piña (*Ananas comosus*) mínimamente procesada.

Objetivos Específicos

- Desarrollar el método de extracción y liofilización para la obtención del principio activo de la canela (cinamaldehído) a pequeña escala.
- Estudiar el efecto de los recubrimientos comestibles con tres dosis del liofilizado del principio activo de canela adicionados al recubrimiento comestible para piña mínimamente procesada bajo frigoconservación (7°C) en parámetros físico - químicos a los 0, 3, 6, 9 y 12 días y sensoriales al mejor día de respuesta.
- Evaluar el parámetro microbiológico para el efecto antimicrobiano de los recubrimientos comestibles con el principio activo liofilizado mediante un antibiograma y el parámetro sensorial mediante una cata.

Hipótesis

H0: El principio activo de canela (cinamaldehído) incorporado en el recubrimiento comestible (RC) no influye en la actividad microbiana sobre piña mínimamente procesada.

H1: El principio activo de canela (cinamaldehído) incorporado en el recubrimiento comestible (RC) influye en la actividad microbiana sobre piña mínimamente procesada.



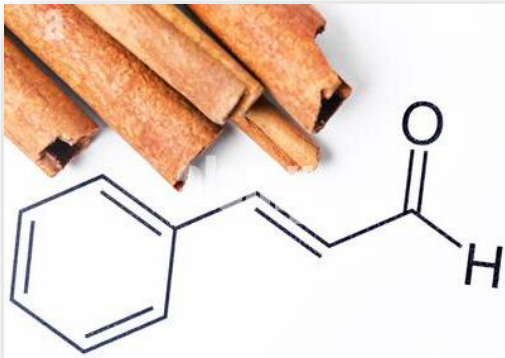
MARCO TEÓRICO



La piña mínimamente procesada (PMP) actualmente tiene un mercado en crecimiento: alimento listo para consumir. Sin embargo, tiene una vida útil de sólo 5-7 días a 1-5°C.

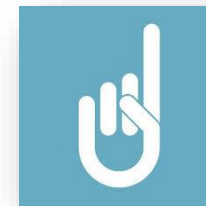


Liofilización: Técnica de conservación cuyo resultado son productos que conservan todas sus propiedades y características organolépticas como aroma y sabor. Difiere de la DESHIDRATACIÓN.

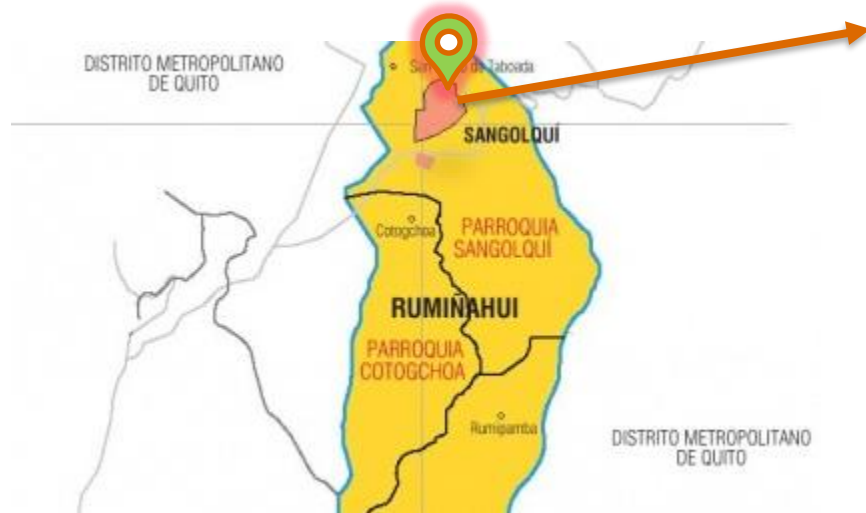


Canela: contiene como componente principal cinamaldehído (75-85%), lo que contribuye con su carácter aromático y características antimicrobianas.

Sin embargo...



Ubicación del área de investigación



Campus de la Carrera de Agropecuaria IASA I.

Ubicación geográfica
Altitud: 2748 msnm
Longitud: 78°24'44"O
Latitud: 0°23'20"S

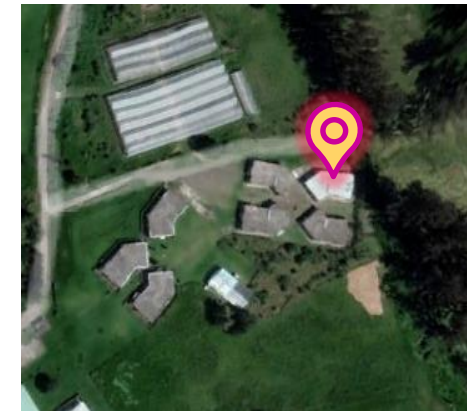
Análisis físico – químico y sensorial

Taller de Poscosecha



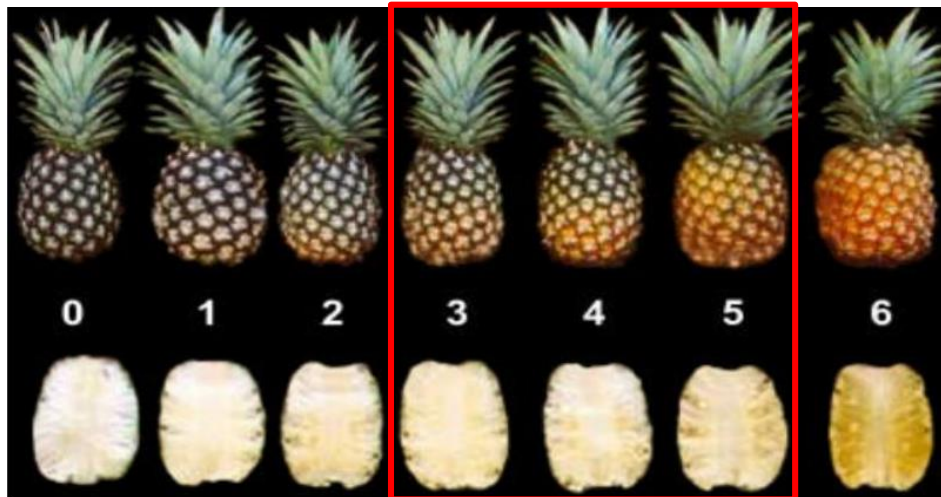
Análisis microbiológico

Laboratorio de Acuicultura



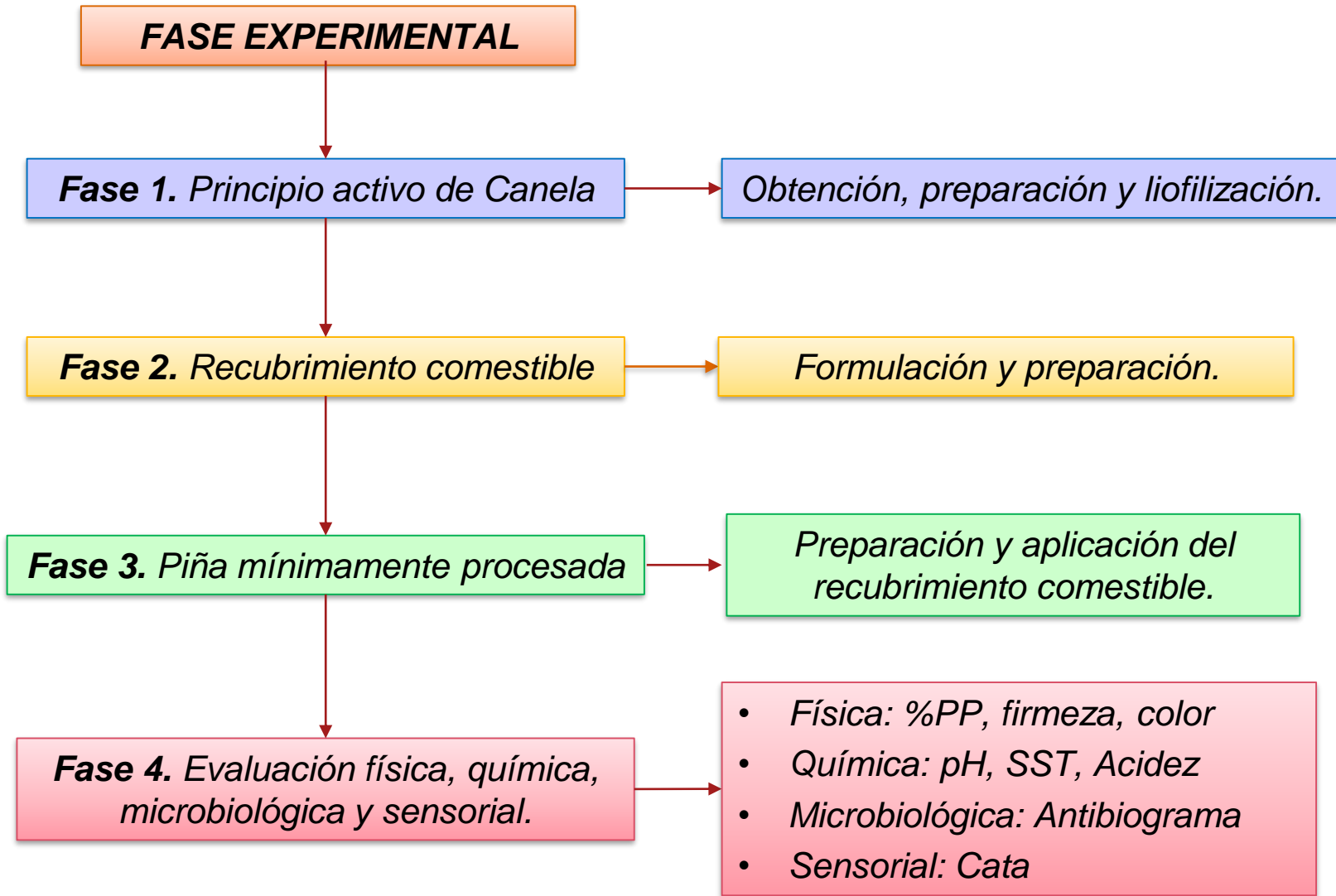
Adquisición del material vegetal

- **Corteza de canela:** Local de venta de especias y aliños, Centro Histórico de Quito. Se almacenó en bolsas plásticas en un lugar fresco hasta su uso.
- **Piña:** Mercado Mayorista ubicado al sur de Quito, provenientes de la provincia de Santo Domingo, variedad MD2 - Golden Sweet, en un estado “pintón”: estado 3 a 5.



Diferentes estados de madurez de Piña.

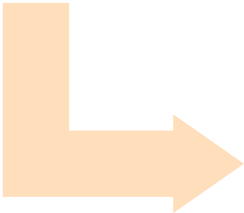
Diagrama de flujo del proceso experimental



Obtención y preparación del principio activo (P.A)

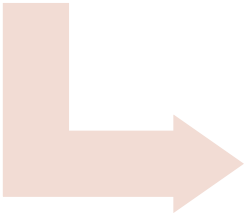
MACERACIÓN

- 3 litros de agua fría + 300 g de canela troceada, reposo 24 horas.



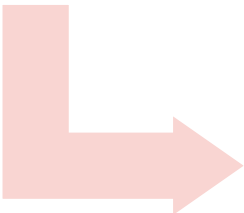
**DESTILACIÓN
ARRASTRE DE
VAPOR**

- Colocar agua reposada + material reposado. Tiempo: 1 – 2 horas.



MEDICIÓN

- Medir producto condensado y adición de 10% de maltodextrina.



CONGELACIÓN

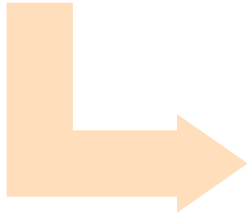
- Colocar en fundas herméticas y llevar a congeladora.



Liofilización del principio activo (P.A)

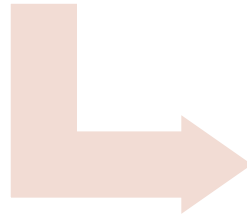
TROCEADO

- Las planchas congeladas se debe reducir su tamaño.



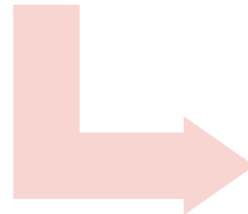
COLOCACIÓN EN BANDEJAS

- Distribución uniforme.



LIOFILIZACIÓN

- Duración del proceso: 20 – 24 horas según volumen.
- Intervalos diarios 5 - 6 horas.



ALMACENAMIENTO

- Colocar en frascos de vidrio cerrados herméticamente.



Preparación y formulación del Recubrimiento Comestible (RC)

Mezclar y homogeneizar: agua, aceite, glicerina, Tween 80 y almidón durante 10 minutos.

Adición P.A: Llevar a estufa hasta alcanzar 60° o gelatinización del almidón.

Almacenamiento: Una vez frío colocar en frascos de vidrio a frigoconservación (6 °C).

Componentes y cantidades para los recubrimientos comestibles

COMPONENTE	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4	
	Peso (g)	(%)	Peso (g)	(%)	Peso (g)	(%)	Peso (g)	(%)
Agua destilada	446	89,3	444	88,9	442	88,5	440	88,1
Aceite vegetal	20	4	20	4	20	4	20	4
Glicerina	12,5	2,5	12,5	2,5	12,5	2,5	12,5	2,5
Tween 80	1,5	0,2	1,5	0,2	1,5	0,2	1,5	0,2
Almidón de maíz	20	4	20	4	20	4	20	4
Principio activo de canela	0	0	2	0,4	4	0,8	6	1,2
TOTAL	500	100	500	100	500	100	500	100

Nota. Pesos y porcentajes de los componentes para la preparación de los recubrimientos comestibles. Énfasis en los porcentajes del principio activo de canela. Elaboración propia.

Preparación de piña mínimamente procesada

DESINFECCIÓN

- Hipoclorito 5% 2 mL/L agua – 5 minutos.



PELADO, DESCORAZADO Y TROCEADO

- Pelar normalmente y realizar trozos triangulares 5x2,5 cm.



ESTERILIZACIÓN

- Colocar trozos en bandejas y llevar a cámara UVc 8 minutos.



Aplicación del recubrimiento comestible

INMERSIÓN

- Sumergir trozos durante 30 segundos.



SECADO

- Colocar sobre rejilla y llevar a estufa a 25 °C.



EMPACADO

- Colocar en recipientes plásticos y almacenar a 7 °C en cuarto frío.



Diseño experimental

Se realizó un diseño completamente al azar (DCA) con estructura de parcelas divididas (5x5) con 3 repeticiones por tratamiento:

Tratamiento	Descripción
T0	Piña mínimamente procesada sin recubrimiento.
T1	Piña mínimamente procesada con recubrimiento 0% P.A
T2	Piña mínimamente procesada con recubrimiento 0.4% P.A
T3	Piña mínimamente procesada con recubrimiento 0.8% P.A
T4	Piña mínimamente procesada con recubrimiento 1.2% P.A

Nota. P.A hace referencia a Principio Activo. Elaboración propia.

Croquis experimental

Parcela grande: Tratamientos

Parcela pequeña: Días



Fase 4. Evaluación física, química, microbiológica y sensorial

Análisis físicos

% Pérdida de peso

$$\%PP = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$



Color (ΔE)



Firmeza (kgF)



Análisis químicos

pH



SST(°Brix)



Acidez titulable (% Ácido cítrico)

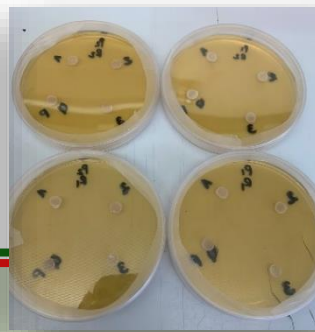
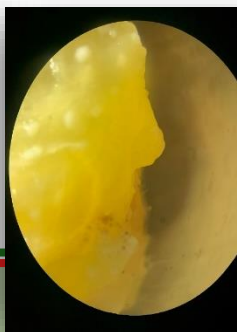
$$A = \frac{V_1 \times N \times M}{V_2}$$



Análisis microbiológico

Antibiograma

(DCA) con 4 repeticiones.



Análisis sensorial

Cata



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

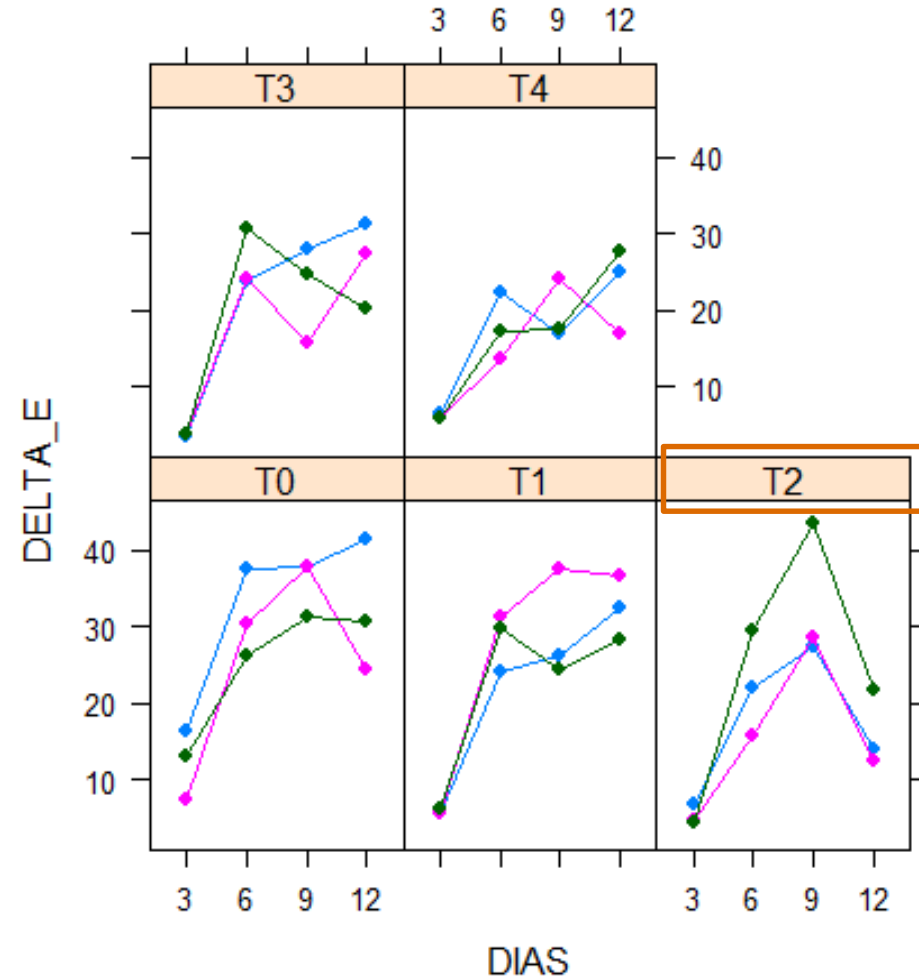
Parámetros físicos

Se analizaron estadísticamente los resultados obtenidos mediante la comparación entre tratamientos según la prueba de Tukey (valor $p < 0.05$) en Infostat y los gráficos fueron realizados en R.

Color (ΔE)

TRATAMIENTO	DÍAS	Medias	n	E.E															
0	9	35,58	3	2,54	A														
2	9	33,19	3	2,54	A	B													
1	12	32,33	3	2,54	A	B													
0	12	32,04	3	2,54	A	B	C												
0	6	31,33	3	2,54	A	B	C	D											
1	9	29,42	3	2,54	A	B	C	D											
1	6	28,4	3	2,54	A	B	C	D											
3	12	26,3	3	2,54	A	B	C	D											
3	6	26,19	3	2,54	A	B	C	D											
4	12	23,31	3	2,54	A	B	C	D	E										
3	9	22,8	3	2,54	A	B	C	D	E										
2	6	22,44	3	2,54	A	B	C	D	E										
4	9	19,68	3	2,54			C	D	E	F									
2	12	18,16	3	2,54			C	D	E	F	G								
4	6	17,73	3	2,54				D	E	F	G								
0	3	12,22	3	2,54					E	F	G	H							
4	3	6,14	3	2,54						F	G	H							
1	3	5,73	3	2,54							G	H							
2	3	5,23	3	2,54							G	H							
3	3	3,77	3	2,54								H							

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



Así mismo, el tratamiento que menores cambios de color presentó de acuerdo a la estabilidad de los datos fue Tratamiento 2.

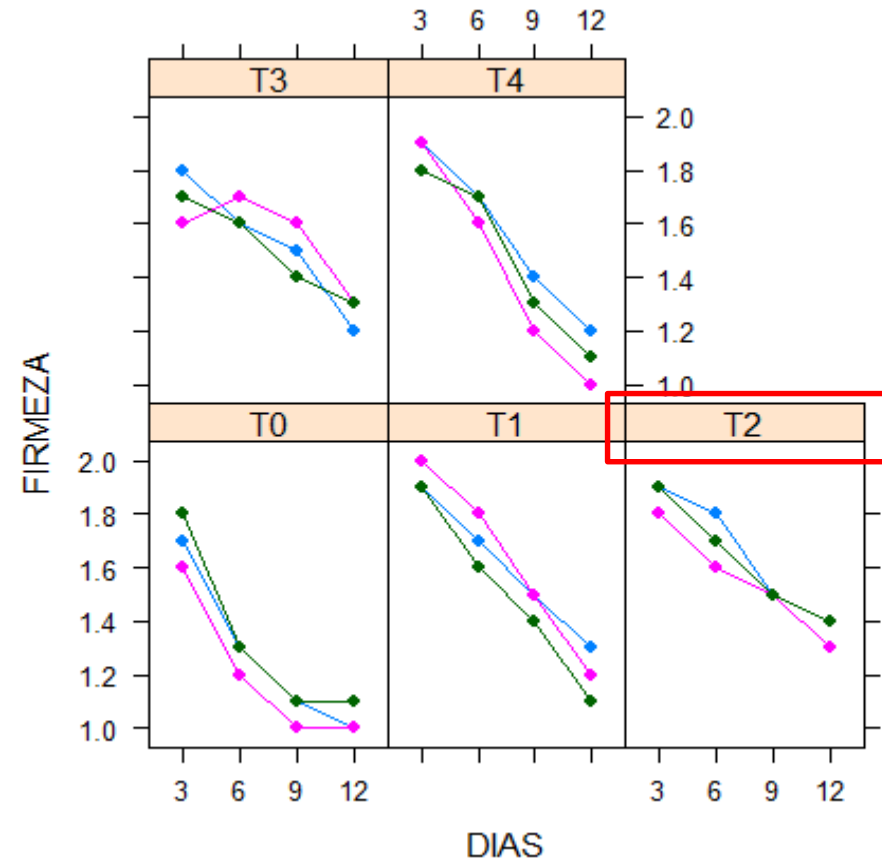


Firmeza (kgF)

TRATAMIENTO	DIAS	Medias	n	E.E															
1	3	1,93	3	0,04	A														
4	3	1,87	3	0,04	A	B													
2	3	1,87	3	0,04	A	B													
2	6	1,70	3	0,04		B	C												
3	3	1,70	3	0,04		B	C												
1	6	1,70	3	0,04		B	C												
0	3	1,70	3	0,04		B	C												
4	6	1,67	3	0,04		B	C	D											
3	6	1,63	3	0,04			C	D											
3	9	1,50	3	0,04			C	D	E										
2	9	1,50	3	0,04			C	D	E										
1	9	1,47	3	0,04				D	E	F									
4	9	1,30	3	0,04					E	F	G								
3	12	1,27	3	0,04						F	G	H							
0	6	1,27	3	0,04						F	G	H							
2	12	1,23	3	0,04							G	H	I						
1	12	1,20	3	0,04							G	H	I						
4	12	1,10	3	0,04							G	H	I						
0	9	1,07	3	0,04								H	I						
0	12	1,03	3	0,04									I						

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

A medida que pasan los días los valores de firmeza disminuyen debido a la pérdida de turgencia traducida en ablandamiento.



(Zambrano et al., 2017): Piña MP con recubrimiento comestible a base de mucílago firmeza presenta degradación durante los siete días de almacenamiento.

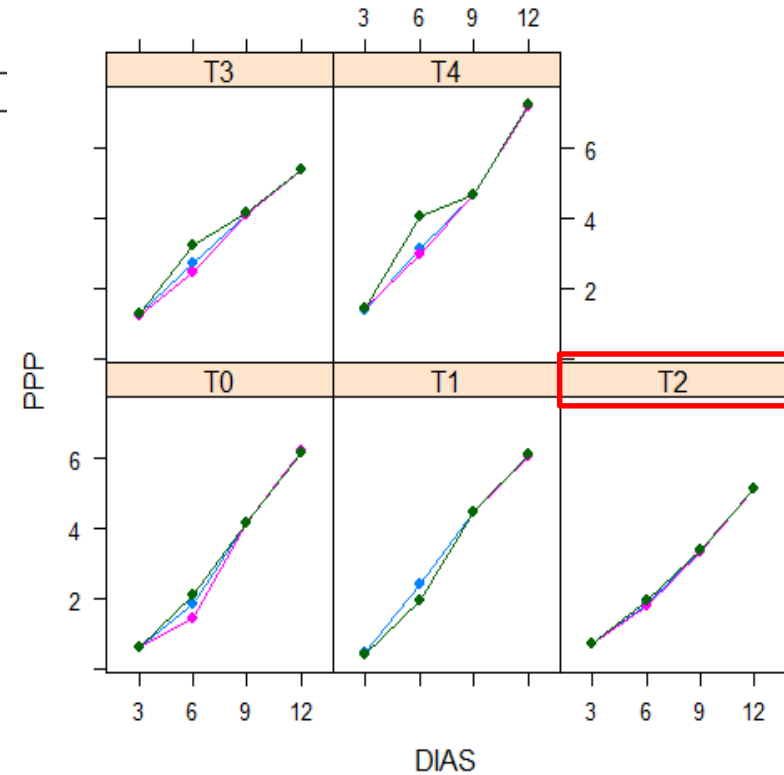


% Pérdida de peso

Resultados Test de Tukey para variable PP (%) entre tratamientos y días

TRATAMIENTO	DÍAS	Medias	n	E.E	
4	12	7,24	3	0,13	A
0	12	6,20	3	0,13	B
1	12	6,11	3	0,13	B C
3	12	5,48	3	0,13	C D
2	12	5,42	3	0,13	D
4	9	4,68	3	0,13	E
1	9	4,47	3	0,13	E
0	9	4,17	3	0,13	E
3	9	4,15	3	0,13	E
4	6	3,39	3	0,13	F
2	9	3,37	3	0,13	F
3	6	2,82	3	0,13	F
1	6	2,12	3	0,13	G
2	6	1,86	3	0,13	G H
0	6	1,80	3	0,13	G H
4	3	1,43	3	0,13	G H
3	3	1,28	3	0,13	H
2	3	0,72	3	0,13	I
0	3	0,62	3	0,13	I J
1	3	0,43	3	0,13	J

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



Tratamiento 2 es el que presenta datos más estables y con menor pérdida de peso al día 12.

(Maldonado, 2016) efectividad de RC depende de componente lipídico, sus interacciones, homogenización y tamaño de partícula.

(Mantilla et al., 2021) reducción PP hasta 40% en piña MP con RC.



Parámetros químicos

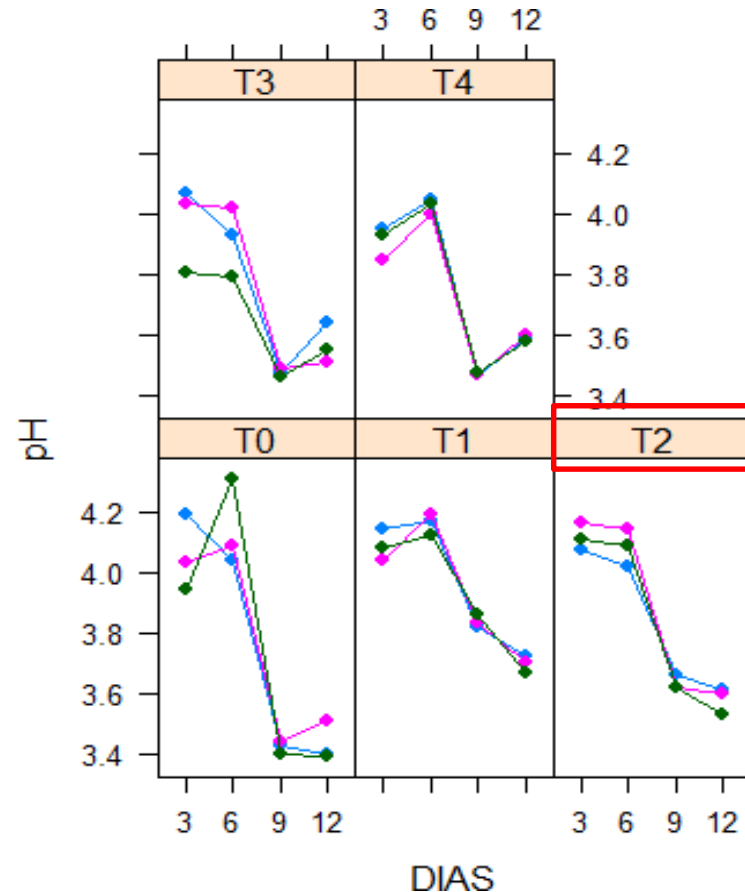
pH

Resultados Test de Tukey para variable pH entre tratamientos y días

TRATAMIENTO	DÍAS	Medias	n	E.E	
0	6	4,16	3	0,04	A
1	6	4,15	3	0,04	A
2	3	4,11	3	0,04	A B
1	3	4,09	3	0,04	A B
2	6	4,08	3	0,04	A B
0	3	4,05	3	0,04	A B C
4	6	4,03	3	0,04	A B C
3	3	3,97	3	0,04	A B C
3	6	3,91	3	0,04	B C D
4	3	3,91	3	0,04	B C D
1	9	3,84	3	0,04	C D E
1	12	3,70	3	0,04	D E F
2	9	3,63	3	0,04	E F G
2	12	3,63	3	0,04	E F G
4	12	3,59	3	0,04	F G
3	12	3,57	3	0,04	F G
3	9	3,48	3	0,04	G
4	9	3,47	3	0,04	G
0	12	3,43	3	0,04	G
0	9	3,42	3	0,04	G

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

Día 3 y 6 > pH
Día 9 y 12 < pH
Aumento y disminución.



(Zambrano et al., 2017) pH tiende a incrementar durante 7 días de almacenamiento incluido control y valores finales adecuados por ser inferiores a 4,0.

(Torri et al., 2010) la oscilación del pH en el tiempo se diferencia en la maduración de la zona basal y apical.



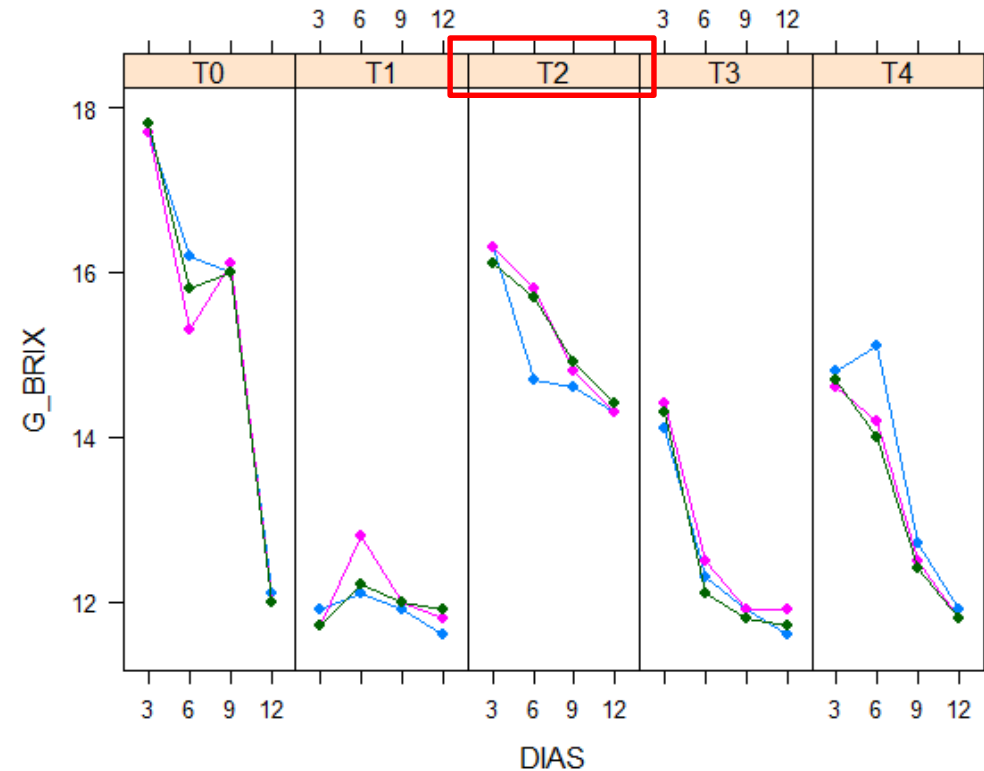
Parámetros químicos

Sólidos solubles totales (°Brix)

Resultados Test de Tukey para variable Sólidos solubles Totales (°Brix) entre tratamientos y días

TRATAMIENTO	DÍAS	Medias	n	E.E	
0	3	17,73	3	0,23	A
2	3	16,23	3	0,23	B
0	9	16,03	3	0,23	B C
0	6	15,77	3	0,23	B C D
2	6	15,40	3	0,23	B C D E
2	9	14,77	3	0,23	C D E F
4	3	14,70	3	0,23	D E F
4	6	14,43	3	0,23	D E F
3	3	14,27	3	0,23	E F
2	12	13,50	3	0,23	F G
4	9	12,53	3	0,23	G H
1	6	12,37	3	0,23	G H
3	6	12,30	3	0,23	G H
0	12	12,03	3	0,23	H
1	9	11,97	3	0,23	H
3	9	11,87	3	0,23	H
4	12	11,83	3	0,23	H
1	12	11,77	3	0,23	H
†	3	11,77	3	0,23	H
3	12	11,73	3	0,23	H

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



(Dussán-Sarria et al., 2014) valor de 9.13 ° al día 16: la reducción de los SS se produce por el continuo proceso respiratorio de la fruta.



Parámetros químicos

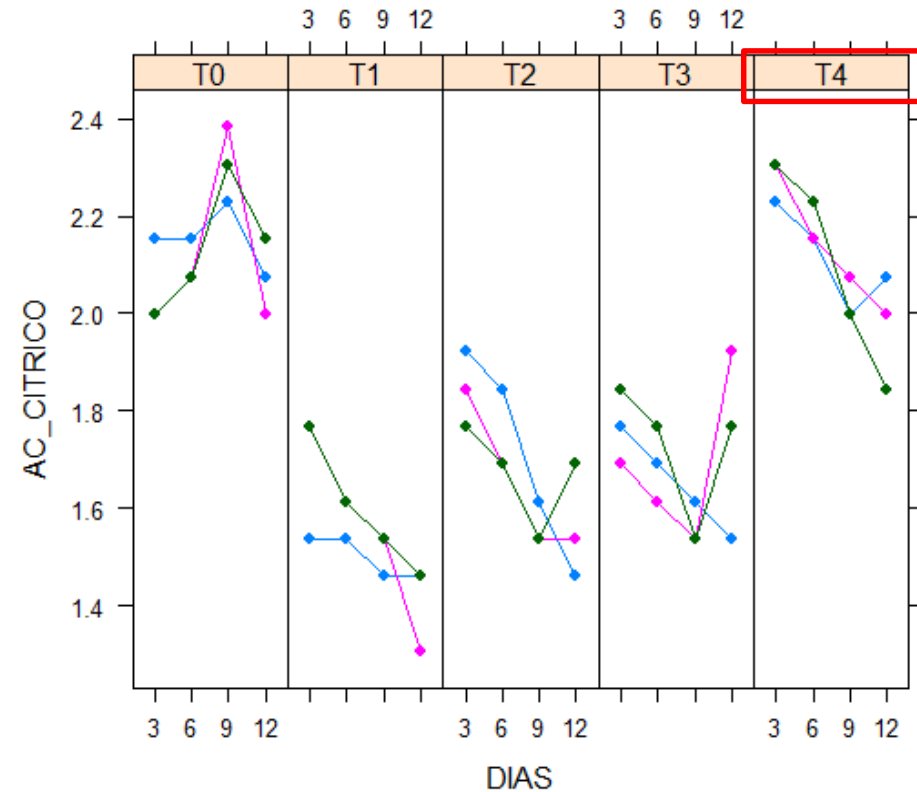
Acidez Titulable (%Ácido cítrico)

Resultados Test de Tukey para variable Acidez titulable (%Ácido cítrico) de tratamientos y días

TRATAMIENTO	DÍAS	Medias	n	E.E					
0	9	2,31	3	0,05	A				
4	3	2,28	3	0,05	A	B			
4	6	2,18	3	0,05	A	B	C		
0	6	2,10	3	0,05	A	B	C	D	
0	12	2,08	3	0,05	A	B	C	D	
0	3	2,05	3	0,05	A	B	C	D	
4	9	2,03	3	0,05		B	C	D	E
4	12	1,97	3	0,05			C	D	E F
2	3	1,84	3	0,05				D	E F G
3	3	1,77	3	0,05				E	F G H
3	12	1,74	3	0,05					F G H I
2	6	1,74	3	0,05					F G H I
1	3	1,69	3	0,05					G H I
3	6	1,69	3	0,05					G H I
1	6	1,59	3	0,05					G H I J
2	9	1,56	3	0,05					H I J
3	9	1,56	3	0,05					H I J
1	9	1,51	3	0,05					H I J
2	12	1,49	3	0,05					I J
1	12	1,41	3	0,05					J

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

Énfasis en T4: Dosis más alta - sustancias antioxidantes dentro del P.A

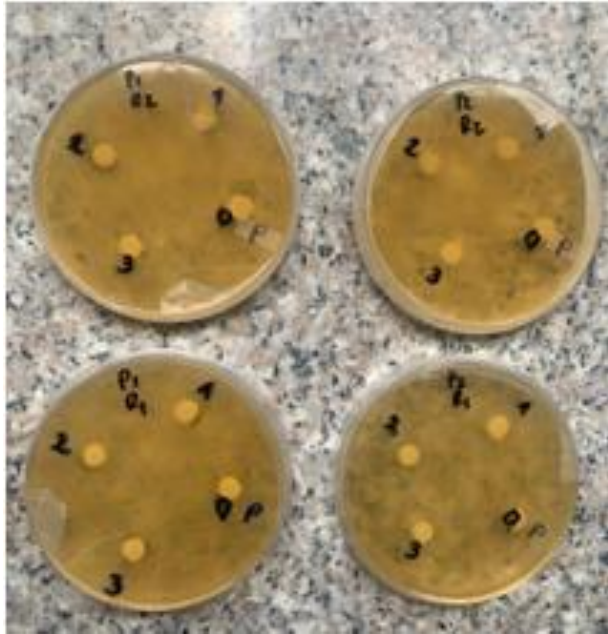


(Zambrano et al., 2017) RC con mucílago de cactus sobre piña MP observaron un descenso de la acidez: incidencia en la degradación de los ácidos orgánicos.

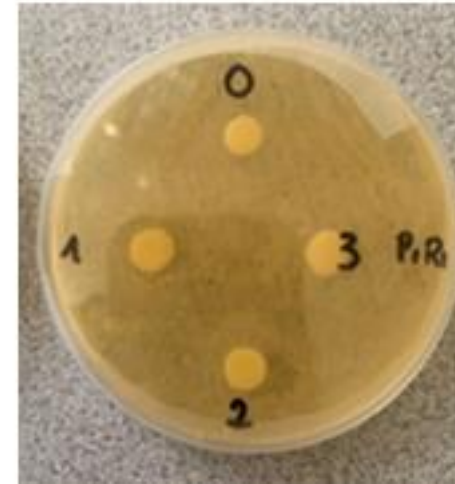
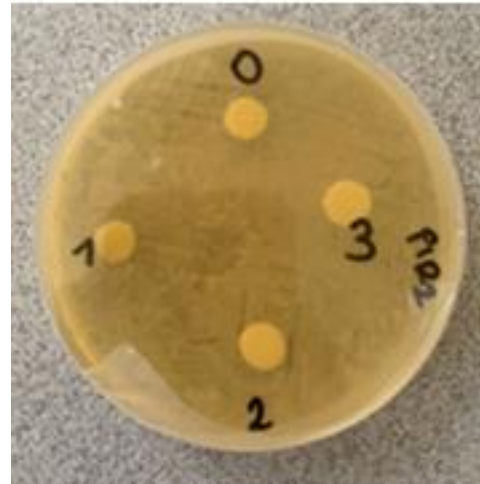
(Maldonado, 2016) acidez titulable junto con el del pH aseguran la aceptabilidad del producto MP.

RESULTADOS

Parámetros microbiológicos



Ausencia de halo de inhibición.



No existe influencia del PA adicionado en el recubrimiento sobre microorganismos.



Colonia bacteriana: bacilos propios de proceso de fermentación.



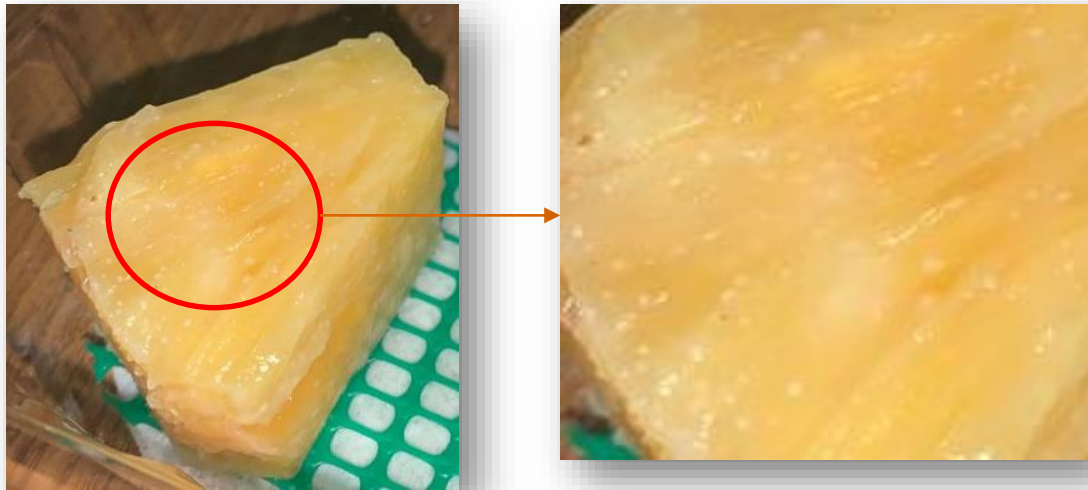
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

(Castro et al., 2017) aceite esencial de canela a 0,05% más quitosano, sí se tuvo efecto sobre la reducción microbiológica, pero en sinergia con este polímero. Los mismos autores señalan también que en otros estudios se ha determinado que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del cinamaldehido se encuentra alrededor de 800 y 1200 ppm.

Observación








A partir del día 6: aparición de pequeñas marcas blancas en todos los tratamientos – colonias de microorganismos



(Rodríguez, 2016) pH menor a 5 el crecimiento de los microorganismos especialmente bacterias queda inhibido y a un pH de 4,5 o menos ya no se multiplican. Así mismo no se constató la presencia de hongos ni levaduras, y esto concuerda con lo mencionado por (Rodríguez, 2016) donde señala que ellos sólo pueden desarrollarse bajo un pH de 3,5.



Cata

NIVEL DE ACEPTABILIDAD	PUNTUACIÓN
Me gusta mucho 	5
Me gusta moderadamente 	4
No me gusta ni me disgusta 	3
Me disgusta moderadamente 	2
Me disgusta mucho 	1

	T0	T1	T2	T3	T4
ATRIBUTO	249	706	505	147	843
Olor					
Color					
Sabor					
Textura					
Apariencia					

Puntuación mayor o igual a 4 para considerar el producto aceptable en al menos un atributo evaluado, tomando en cuenta realización de cata al tercer día de preparada la piña respecto a resultados de variables físico – químicas evaluadas.

Análisis sensorial

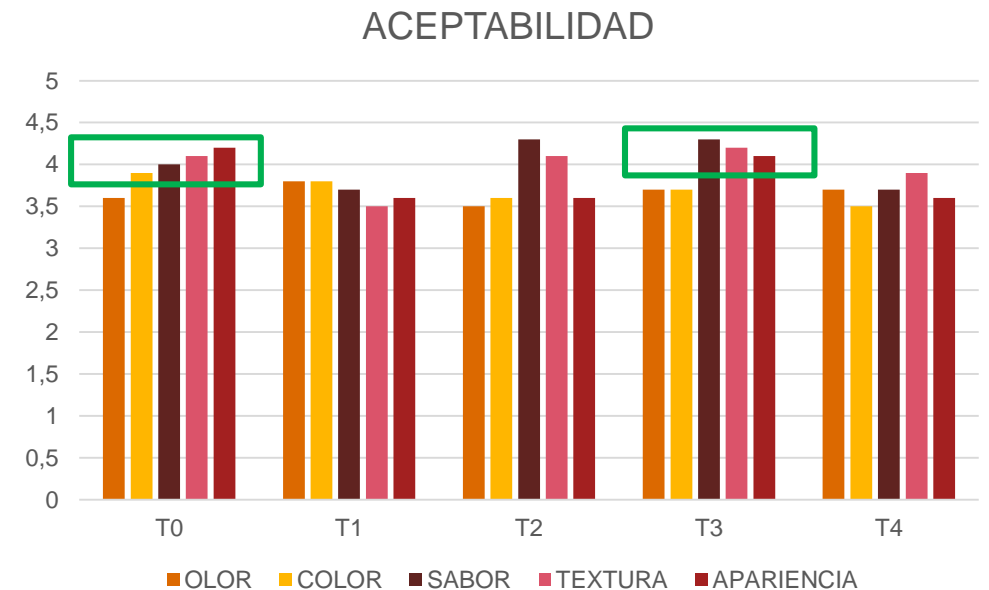
Medias de los resultados obtenidos de las fichas hedónicas para análisis sensorial

Atributo	OLOR	COLOR	SABOR	TEXTURA	APARIENCIA
Tratamiento	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}	\bar{X}
T0	3,6	3,9	4	4,1	4,2
T1	3,8	3,8	3,7	3,5	3,6
T2	3,5	3,6	4,3	4,1	3,6
T3	3,7	3,7	4,3	4,2	4,1
T4	3,7	3,5	3,7	3,9	3,6

Nota. Medias de los resultados de panelistas en análisis sensorial. Elaboración propia

(Dussán-Sarria et al., 2014) tiempo de vida útil para piña MP es de 7 días tratada con cloruros, ácidos y quitosano, difiere con los resultados obtenidos en la presente investigación: RC utilizado no contuvo ninguno ellos, siendo evidente la reducción de la vida útil de la fruta.

Tratamientos no produjeron sensaciones o sabores residuales que hayan podido ser detectados por los panelistas en comparación con el control.



CONCLUSIONES

- Se realizó el método de extracción y liofilización correctamente para la extracción del principio activo de canela obteniendo un volumen de producto condensado de 850 mL y de producto liofilizado con maltodextrina como encapsulante de 83 gramos.
- Se puede concluir que el recubrimiento comestible sí tiene efecto sobre la piña mínimamente procesada tanto en los parámetros físicos y químicos, pues dentro de los físicos de todos los días de evaluación, al día 3 se presentan valores que no difieren mucho del control tanto para % de pérdida de peso y firmeza; la variable color claramente presentó diferencias por la perecibilidad del producto, de lo cual, en estos tres parámetros el Tratamiento 2 presentó datos con menor variabilidad considerando la naturaleza de la fruta. De igual manera sucedió para los parámetros químicos, mismos que están relacionados entre sí en cuanto a pH, acidez (% Ácido cítrico) y sólidos solubles totales (°Brix) observándose un mejor comportamiento de los resultados para el Tratamiento 2, tomando en cuenta la diferencia de maduración natural de la parte basal y apical de la fruta de piña.



- La evaluación sensorial aplicada al día 3 de evaluación permitió concluir que el recubrimiento comestible no produjo sensaciones diferentes a la percepción de los panelistas, por lo que no representa un limitante para ser aplicado en piña mínimamente procesada y tener aceptabilidad, pero se debe considerar que entre más días transcurran, la calidad sensorial disminuirá. Finalmente con respecto a las tres dosis aplicadas del principio activo de canela en el recubrimiento comestible frente al Control mediante el antibiograma, se concluye que éstas no inhiben el crecimiento bacteriano, sin embargo se verificó que entre más días de almacenamiento, se llega a un punto que por el pH y acidez de la fruta las bacterias (en este caso) reducen su velocidad de reproducción, no obstante esto no favorece al producto mínimamente procesado, pues aparte del aspecto no agradable que presenta a los 12 días, también se puede notar que se pierde el aroma típico por el incremento de compuestos azufrados, alcoholes y cetonas produciendo malos olores y sabores.

RECOMENDACIONES

- Realizar análisis de cromatografía de gases del producto destilado para conocer los componentes orgánicos mayoritarios que posee, así como la cuantificación del principio activo obtenido por hidrodestilado.
- Probar el método de aplicación multicapa del recubrimiento comestible con la utilización de cloruro de calcio o alginato de sodio con el principio liofilizado de canela para mejorar la calidad del recubrimiento y determinar si se logra potenciar más la barrera antimicrobiana.
- Aplicar el mismo recubrimiento pero en otras frutas con menor cantidad de humedad para determinar la eficiencia de la formulación del recubrimiento realizado en diferentes medios.
- Probar diferentes tiempos de secado del recubrimiento en la estufa para verificar si existen diferencias en la adhesión del recubrimiento comestible.
- Para futuros trabajos, se recomienda realizar el recubrimiento comestible con el polisacárido quitosano (conocido por su actividad antimicrobiana) y comparar resultados con los de la presente investigación, misma que fue con el polisacárido de almidón de maíz.
- Realizar conteos microbiológicos en los días de evaluación para así tener un amplio panorama sobre cómo es el comportamiento de los microorganismos.
- Se recomienda reducir el intervalo de días para la toma de datos, y así determinar cambios en variables muy sensibles.

¡GRACIAS!



Agradecimiento: Ing. Gabriel Larrea Mgt.
Ing. Ramiro Guerrón.



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA