DESARROLLO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE CELULOSA BACTERIANA COMO RECUBRIMIENTO EN LA VIDA POSTCOSECHA DE LA GUAYABA DULCE (*Psidium guajava)* Y GUAYABA AGRIA *(Psidium friedrichstahlianum)*

MARIA ANGELICA CERPA BALETA

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA
SINCELJO-SUCRE
2017

DESARROLLO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE CELULOSA BACTERIANA COMO RECUBRIMIENTO EN LA VIDA POSTCOSECHA DE LA GUAYABA DULCE (*Psidium guajava)* Y GUAYABA AGRIA *(Psidium friedrichstahlianum)*

MARIA ANGELICA CERPA BALETA

Trabajo de grado presentado para optar el título de Bióloga

Directora:

OLGA PERNA MANRIQUE

Codirector:

RUBEN JARAMILLO LANCHERO

UNIVERSIDAD DE SUCRE
FACULTAD DE EDUCACIÓN Y CIENCIAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA
SINCELJO-SUCRE

DESARROLLO DE UNA PELÍCULA COMESTIBLE A BASE DE CELULOSA BACTERIANA COMO RECUBRIMIENTO EN LA VIDA POSTCOSECHA DE LA GUAYABA DULCE (*Psidium guajava)* Y GUAYABA AGRIA *(Psidium friedrichstahlianum)*

Nota de Aceptación

Jurado

Jurado

Sincelejo, Noviembre de 2017

“PERTENECE AL ESTUDIANTE EL DERECHO MORAL SOBRE LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL QUE REALICE PERSONAL / O CON LA ORIENTACION DE UN ASESOR O TUTOR, EN DESARROLLO DE LAS ACTIVIDADES ACADEMICAS”

Art. 29 Res. 1675 del 2012

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A Dios por su inmensa sabiduría, por siempre tener misericordia conmigo y mis seres queridos y por estos 5 años de entrega y sacrificio que no se pudieron haber alcanzado sin su gracia y bendición.

A mi familia que tanto adoro, que siempre me demuestran su apoyo en las buenas y en las malas, que siempre están conmigo a pesar de mis debilidades y en mis virtudes son una alegría junto a mí.

A mis queridos papas, por sus grandes sacrificios, por los esfuerzos incansables para ayudarme a salir adelante, por su paciencia, amor y comprensión.

A mis herman@s: Mario, María y Adriana, porque siempre han sido un apoyo para mí, siempre me han regalado su sonrisa y sus buenas palabras.

A todas mis tías porque siempre tuvieron algo de su vida para aportarme, el cual siempre recibí con gratitud.

A Fer, porque desde que está en mi vida, siempre ha tenido una palabra para mí cuando sabe que la necesito y por tantos y tantos consejos que hoy son tan valiosos en mi vida.

A mi Profe Olguis, como amablemente le decía, por su paciencia, por estar conmigo incansablemente a cualquier hora y guiarme con sus palabras y consejos.

A mis compañeros que son muchos y no me alcanzaría una hoja para nombrarlos… muchas gracias, pero, quiero especialmente agradecer a Rochy y a Linis, porque aparte de ser mis compañeras, se convirtieron en mis amigas y consejeras… las adoro!

Muchas gracias a todos…

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos

A OLGA PERNA MANRIQUE, Msc. Sublíder del grupo de investigación biología de los microorganismos (GIBM), directora de trabajo de grado. Universidad de Sucre.

A RUBEN JARAMILLO LANCHERO, Ph D. Líder del grupo de investigación biología de los microorganismos (GIBM), codirector de trabajo de grado. Universidad de Sucre.

A LILIANA VITOLA GARRIDO, Msc. Docente del programa Licenciatura en Matemáticas, asesora estadística trabajo de grado. Universidad de Sucre.

GRUPO DE INVESTIGACION DE BIOLOGIA DE LOS MICROORGANISMOS (GIBM), por sus continuas asesorías técnicas, apoyo y suministro de información.

LABORATORIO DE INVESTIGACION EN MICROBIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE SUCRE, por facilitar las instalaciones, equipos y reactivos para el desarrollo de este proyecto.

Expreso de manera muy respetuosa un agradecimiento a diferentes personas por su ayuda en la realización de algunos métodos de experimentación: **Lina Chamorro, María Paulina Torres, Katia Villamizar y Said Márquez.**

A todas aquellas personas que con su apoyo colaboraron en el término de este trabajo…Muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	
INTRODUCCION	**18**
1. OBJETIVOS	**21**
1.1 Objetivo General	**21**
1.2 Objetivos Específicos	**21**
2. ESTADO DEL ARTE DE LA INVESTIGACIÓN	**21**
3. MARCO TEORICO	**27**
3.1 Recubrimientos comestibles	**27**
3.1.1 Materiales empleados como recubrimientos comestibles	**28**
3.1.2 Polisacáridos	**29**
3.1.3 Hidrocoloides, Lípidos/grasas	**29**
3.1.4 Colágeno/Gelatina	**29**
3.2 Biopolímeros	**30**
3.3 Celulosa	**32**
3.3.1 Estructura química de la celulosa	**33**
3.3.2 Celulosa microbiana	**34**
3.3.3 Biosíntesis de la celulosa bacteriana	**35**
3.3.4 Tecnicas de cultivo para la obtención de Celulosa bacteriana	**35**
3.3.5 Función fisiológica	**36**
3.3.6 Fuentes de carbono	**37**
3.3.7 Importancia industrial	**37**
3.4 Importancia de las frutas	**38**
3.4.1 Frutas	**39**
3.4.2 Descripción de la Guayaba Dulce	**39**
3.4.3 Descripción de la Guayaba Agria	**40**
3.4.4 Maduración en planta e índice de madurez	**40**
3.4.5 Nutrición	**40**
3.4.6 Variedades de Guayaba en Colombia	**42**
3.4.7 Cultivo del Guayabo (árbol) en Colombia	**42**

3.5 Atributos de calidad de frutas procesadas **43**
3.5.1 Apariencia y color **43**
3.5.2 Sabor **43**
3.5.3 Textura **44**
3.5.4 Calidad nutrimental **44**
3.5.5 Seguridad microbiana **44**
4. MATERIALES Y METODOS **45**
4.1 Material biológico **45**
4.2 Mantenimiento de la cepa de *Gluconacetobacter Xylinus* IFO 13693 **45**
4.3 Medios y condiciones de cultivo **45**
4.4 Medición de los parámetros fisicoquímicos de las frutas **46**
4.4.1 Medición de los grados Brix **46**
4.4.2 Medición de la acidez titulable **46**
4.4.3 Medición de pH **46**
4.5 Determinaciones y aplicaciones realizadas después de obtenidas las películas de celulosa **47**
4.5.1 Desinfección y purificación de la celulosa bacteriana **47**
4.5.2 Desinfección de las frutas *Psidium guajava* y *Psidium friedrichstahlianum* **47**
4.5.3 Recubrimiento de las frutas **47**
4.6 Evaluación de la formulación optimizada **48**
4.7 Análisis estadístico **48**
5. RESULTADOS **49**
5.1 Efecto de la sacarosa sobre el grosor de las películas de celulosa **49**
5.2 Efecto de las concentraciones de extractos de Guayaba dulce y Guayaba agria sobre el grosor de las películas de celulosa **49**
5.3 Efectos del recubrimiento en la vida postcosecha de las frutas **49**
5.3.1 Formulación de los recubrimiento **51**
5.3.2 Evaluación de los recubrimientos **51**
5.4 Medición de los parámetros fisicoquímicos de las frutas **65**
5.4.1 Determinación de los grados Brix **65**
5.4.2 Determinación del pH **67**

5.4.3 Determinación de la acidez titulable **70**
5.5 Análisis estadístico de cada parámetro fisicoquímico **73**
5.5.1 Análisis estadístico para los grados Brix **74**
5.5.2 Análisis estadístico para pH **78**
5.5.3 Análisis estadístico para Acidez **82**
6. DISCUSIONES **87**
7. CONCLUSIONES **92**
8. BIBLIOGRAFIA **100**
ANEXOS **111**

LISTA DE CUADROS

Pág.

Cuadro 1. Aplicaciones industriales de la celulosa de origen bacteriano **38**

Cuadro 2. Principales atributos de calidad de frutas y vegetales frescos **43**

LISTA DE FIGURAS

Pág.

FIGURA 1. Propiedades funcionales de un Recubrimiento comestible **27**

FIGURA 2. Polímeros naturales y polímeros sintéticos más usados **31**

LISTA DE TABLAS

Pág.

TABLA 1. Clasificación de los polímeros según su origen **32**

TABLA 2. Propiedades de la celulosa bacteriana en comparación con la celulosa vegetal **37**

TABLA 3. Concentraciones y resultados en los diferentes días **50**

TABLA 4. Diferencias de grosor entre sacarosa y extractos a los 3 días de incubación **51**

TABLA 5. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 25° (Experimento 1) **53**

TABLA 6. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura ambiente 25°C (Experimento 1) **54**

TABLA 7. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimento 1) **55**

TABLA 8. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimento 1) **56**

TABLA 9. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 25°C (Experimento 2) **57**

TABLA 10. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba control. Temperatura ambiente 25° C (Experimento 2) **58**

TABLA 11. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimento 2) **59**

TABLA 12. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimento2) **60**

TABLA 13. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 25°C (Experimento 3) **61**

TABLA 14. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura ambiente 25°C (Experimento 3) **62**

TABLA 15. Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimento 3) **63**

TABLA 16. Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria Control. Temperatura refrigeración 6°C (Experimentación 3) **64**

TABLA 17. Determinación de los grados Brix (Experimentación 1) **65**

TABLA 18. Determinación de los grados Brix (Experimentación 2) **66**

TABLA 19. Determinación de los grados Brix (Experimentación 3) **67**

TABLA 20. Determinación del pH (Experimentación 1) **68**

TABLA 21. Determinación del pH (Experimentación 2) **69**

TABLA 22. Determinación del pH (Experimentación 3) **70**

TABLA 23. Determinación de la acidez titulable (Experimentación 1) **71**

TABLA 24. Determinación de la acidez titulable (Experimentación 2) **72**

TABLA 25. Determinación de la acidez titulable (Experimentación 3) **72**

TABLA 26. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente (grados Brix) **74**

TABLA 27. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente (grados Brix) **75**

TABLA 28. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración (grados Brix)**75**

TABLA 29. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración (grados Brix**) 76**

TABLA 30. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente (grados Brix) **76**

TABLA 31. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente (grados Brix) **77**

TABLA 32. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración (grados Brix**) 77**

TABLA 33. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración (grados Brix) **78**

TABLA 34. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente (pH) **78**

TABLA 35. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente (pH) **79**

TABLA 36. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración (pH) **79**

TABLA 37. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración (pH) **80**

TABLA 38. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente (pH) **80**

TABLA 39. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente (pH) **81**

TABLA 40. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración (pH) **81**

TABLA 41. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración (pH) **82**

TABLA 42. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente (Acidez) **82**

TABLA 43. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente (Acidez) **82**

TABLA 44. Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración (Acidez) **82**

TABLA 45. Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración (Acidez) **84**

TABLA 46. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente (Acidez) **84**

TABLA 47. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente (Acidez) **85**

TABLA 48. Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración (Acidez) **85**

TABLA 49. Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración (Acidez**)** **86**

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A: Activación del microorganismo	**110**
ANEXO B: Medios de sacarosa (200 ml)	**110**
ANEXO C: Medios de extractos de Guayaba dulce y guayaba agria (200ml)	**111**
ANEXO D: Películas de 3 días de grosor (sacarosa)	**111**
ANEXO E: Películas de 7 días de grosor (extractos)	**112**
ANEXO F: Desinfección de frutas	**112**
ANEXO G: Recubrimiento de frutas	**113**
ANEXO H: Frutas recubiertas después de 14 días	**113**
ANEXO I: Medición de parámetros fisicoquímicos de las frutas (Herramientas)	**114**
ANEXO J: Grosor de las películas de Guayaba dulce al 40%	**115**
ANEXO K: Grosor de las películas de Guayaba dulce al 20%	**115**
ANEXO L: Grosor de las películas de Guayaba agria al 20% y 40%	**116**
ANEXO M: Preparación de extractos	**116**

RESUMEN

El creciente interés de los consumidores hacia productos sanos, nutritivos, naturales, beneficiosos para la salud y respetuosos con el medio ambiente, ha orientado y motivado en los últimos años investigaciones hacia el desarrollo de películas y recubrimientos comestibles aplicados a productos frutícolas con el fin de extender la vida útil y comercial de las frutas, por esta razón como una alternativa para cubrir estas necesidades se desarrolló una película comestible a base de celulosa bacteriana y se evaluó su efecto como recubrimiento en la vida postcosecha de la Guayaba dulce (*Psidium guajava)* y Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum),* para la obtención de las películas de celulosa se desarrollaron medios de cultivo de 200 ml suplementados con sacarosa y sales dejando en cultivo estático durante 3 días hasta obtener películas con pequeños grosores. Los recubrimientos se realizaron para las dos especies en estudio y se evaluó a tres diferentes temperaturas (6°C, 23°C y 35°C) durante 14 días en 3 experimentaciones, comparándose características cualitativas como textura, maduración, color y contaminación, así mismo que parámetros fisicoquímicos como pH, grados Brix y acidez. Después de cada evaluación se obtuvo que de los dos tratamientos el mejor fue el correspondiente a los 6°C (refrigeración), estas frutas conservaron mejor su apariencia física interna y externa además que sus parámetros fisicoquímicos fueron los mejores en comparación con las frutas control.

PALABRAS CLAVES: recubrimiento, películas, guayaba, vida útil.

ABSTRACT

The growing interest of consumers towards healthy, nutritious, natural products, beneficial for health and respectful with the environment, has oriented and motivated in recent years research towards the development of films and edible coatings applied to fruit products in order to extend the useful and commercial life of the fruits, for this reason as an alternative to cover these needs, an edible film based on bacterial cellulose was developed and its effect as a coating on the post-harvest life of the Guayaba dulce (*Psidium guajava*) was evaluated. Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum*), to obtain the cellulose films, 200 ml culture media supplemented with sucrose and salts were developed leaving in static culture for 3 days until obtaining films with small thicknesses. The coatings were made for the two species under study and evaluated at three different temperatures (6 ° C, 23 ° C and 35 ° C) for 14 days in 3 experiments, comparing qualitative characteristics such as texture, maturation, color and contamination what physicochemical parameters such as pH, Brix degrees and acidity. After each evaluation it was obtained that of the two treatments the best one was the one corresponding to 6 ° C (refrigeration), these fruits conserved better their physical appearance internally and externally, besides that their physicochemical parameters were the best in comparison with the control fruits.

KEYWORDS: Coatings, Films, Useful life, Guavas.

1. INTRODUCCIÓN

Las frutas y vegetales juegan un papel importante en la nutrición humana, ya que son una fuente importante y considerable de vitaminas, minerales, fibra dietética y antioxidantes (Casas, 2011). su consumo mundial registra una tendencia en ascenso, lo cual se explica, además de los cambios en los ingresos y las estructuras poblacionales, en la creciente valoración social y científica de las propiedades nutricionales y funcionales de las frutas (Moncayo, 2013). En Colombia durante las últimas cuatro décadas el área sembrada en frutas expresa una dinámica de constante crecimiento (Lasprilla, 2011), entre esa área se encuentra la equivalente al cultivo nacional de guayaba dulce y guayaba agria, estas especies pertenecen a la familia de las Myrtaceae, la guayaba dulce (*Psidium guajava)* es un fruto estacional, que se encuentra principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo, ésta es consumida principalmente en fresco y exhibe una elevada velocidad de respiración y una rápida maduración, lo cual conlleva a un rápido deterioro durante el almacenamiento (González, R., Cervantes, C. & Caraballo, L. 2016). La especie *Psidium friedrichstahlianum* conocida comúnmente como guayaba agria son frutos ampliamente distribuido en regiones tropicales como Panamá, Brasil, Perú, Ecuador, y Colombia, donde se localizan principalmente en la región Caribe, y se consume directamente la fruta o como jugo (Zapata, K., Cortes, F. & Rojano, B., 2013).

En Colombia para el año 2012 el cultivo de estas frutas presentó un retraso a nivel tecnológico razón que afectó la competitividad del producto lo cual se vio reflejado en bajos rendimientos, altos costos de producción y deficiencia de la calidad (Castillo, 2012), es por eso que es necesario implementar un sistema que brinde mayor competitividad y mayor calidad en la producción de estas especies.

Las frutas frescas como la guayaba dulce y la guayaba agria continúan respirando después de ser cosechadas, por lo tanto, cualquier sistema debe tomar en cuenta la actividad respiratoria, la cual es afectada por numerosas propiedades intrínsecas del producto fresco así como por factores extrínsecos (Velázquez, G., Polo, G., Martínez, R. & Cárdenas, M., 2009).

Hoy día se está trabajando en el desarrollo de activos naturales para la conservación de frutas y vegetales, con el fin de dar respuestas a las continuas y crecientes demandas de los consumidores de productos frescos o con tratamientos mínimos, con las máximas garantías de seguridad y calidad (Catalá, R, Almenar, E. & y Gavara, R., 2007) además de mantener sus propiedades nutricionales y brindar beneficios para la salud así mismo en conjunto con las preocupaciones por el medio ambiente (Baldwin, 1999) ha permitido dirigir los esfuerzos de las investigaciones hacia alternativas para cubrir estas necesidades, desde este punto de vista se ha visto que el aprovechamiento de los recursos naturales como fuente de conservación y reciclaje se convierte en una excelente opción e innovación en el desarrollo de nuevos productos biodegradables (Villada, H., Acosta, H., Velasco, R.,2006. p.5-13) y así mismo como una alternativa para lo antes mencionado.

En los últimos años se ha investigado intensamente el campo de los films y recubrimientos comestibles (Bertuzzi, M., Armada, M. Gottifredi, J., Aparicio, A. & Jiménez, P., 2002) como una estrategia de gran alcance para la obtención de alimentos saludables como frutas con un mínimo procesamiento y libres de aditivos sintéticos (Vásquez, M., Guerrero, J., 2013) en muchos casos, estos recubrimientos o films comestibles se elaboran a partir de materiales abundantes en la naturaleza, e incluso algunos que actualmente se consideran desperdicio (proteínas de suero de leche) (Bertuzzi, *et.al*., 2010) también son utilizados. En tal sentido, es de interés evaluar el uso de películas comestibles para mejorar la calidad de las dos especies de guayaba durante su almacenamiento.

Al definir un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento (Bertuzzi, *et.al*., 2010). Por otra parte una película o film comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo.

Dichas soluciones formadoras de películas o recubrimientos comestibles pueden

estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Vásquez, et. al., 2013) aplicar recubrimientos comestibles en frutas a partir de estas fuentes renovables disminuye su tasa de respiración, retrasan su pérdida de peso por deshidratación y prolongan su pérdida de firmeza y pigmentación causados por microorganismos. (Bertuzzi, *et.al*., 2010).

Cuando se utilizan películas en la conservación de frutos, se modifica la composición de gases que los rodean, elevando la concentración de CO_2 y disminuyendo el O_2 disponible para la respiración del fruto con el objetivo de disminuir la velocidad metabólica y así crear condiciones adecuadas para el almacenamiento prolongado del producto (Velázquez, et. al., 2009, p.54-59). La efectividad del recubrimiento dependerá del control de la humectabilidad y de la capacidad de la matriz para mantener compuestos de diversa funcionalidad (plastificantes, antimicrobianos, antioxidantes, sabores y olores) debido a que la pérdida de los componentes afecta el espesor del recubrimiento y su solubilidad en agua. Las ventajas que exhiben (Vásquez, et. al., 2013) las frutas con un procesamiento mínimo, es que presentan características organolépticas y nutricionales similares a las frutas frescas y son fáciles de manejar por el consumidor.

Un mínimo procesamiento en frutas como papaya, guayaba, piña, mango y melón puede ser considerado como una alternativa a la comida rápida, atendiendo la demanda de alimentos sanos y convenientes[19] además de conservar su calidad, por esta razón en este estudio se desarrolló una película comestible a base de celulosa bacteriana para evaluar su efecto como recubrimiento en la vida postcosecha de la Guayaba dulce (*Psidium guajava)* y Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum).*

1. OBJETIVOS

1.1 GENERAL.

Desarrollar una película comestible a base de celulosa bacteriana y evaluar su efecto como recubrimiento en la vida postcosecha de la Guayaba dulce (*Psidium guajava)* y Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum).*

1.2 ESPECÍFICOS.

- Establecer la concentración de extracto de guayaba dulce y guayaba agria con mayor rendimiento en la producción de celulosa bacteriana.

- Determinar las propiedades fisicoquímicas de las especies *Psidium guajava y Psidium friedrichstahlianum* para evaluar sus condiciones antes y después de recubiertas.

- Establecer el efecto de las películas de celulosa bacteriana comestibles sobre la vida postcosecha de la guayaba dulce (*Psidium guajava*) y (*psidium friedrichstahlianum*).

2. ESTADO DEL ARTE

La celulosa bacteriana fue descrita por primera vez en 1886 por A. J. Browm quien observó que algunos microorganismos usados para la producción de ácido acético eran capaces de producir una película gelatinosa en la superficie del medio de cultivo liquido en presencia de glucosa y oxígeno, y era químicamente igual a la celulosa de la pared celular, (Brown, 1886, p. 432-439), sin embargo fue solo objeto de atención a partir de la segunda mitad del siglo XX debido a su alto grado de cristalinidad, pureza, conformación reticulada y estructura tridimensional (Carreño, L., Caicedo, L. & Martínez, C., 2012, p. 307-335).

La celulosa es sintetizada por bacterias pertenecientes a los géneros Acetobacter, Rhizobium, Agrobacterium y Sarcina. Los productores más eficientes son las bacterias Gram-Negativas del género Acetobacter, Acetobacter xylinum (reclasificadas como Gluconoacetobacter xylinus), que se usan como microorganismos modelo en los estudios básicos y aplicados sobre este producto. (Carreño, 2012, p 307-355).

Para el año 1954 Hestrin y Schramm realizaron uno de los primeros trabajos sobre producción de celulosa bacteriana, empleando Acetobacter xylinum en cultivo estático.[21]En ese estudio se encontró que la producción de celulosa en función del suministro de oxígeno, tanto para cultivo estático como agitado, bajo una atmósfera de nitrógeno no tuvo producción significativa, mientras que la producción óptima se encontró utilizando aire enriquecido. (Carreño, 2012, p 307-355).

Posteriormente desarrollaron un medio compuesto por: glucosa 2% (p/v), peptona 0.5%, extracto de levadura 0.5%, fosfato disódico 0.27% y ácido cítrico 0.115% a pH 6.0; este medio se concoe como H-S y es uno de los más utilizados en estudios de producción de celulosa bacteriana (Hestrin, S. & Schramm, M., 1954, p. 345-352).

Keshk y colaboradores en el año 2006 emplearon melaza de remolacha como fuente de carbono y *Gluconacetobacter xylinus* ATCC 10245 como microorganismo y obtuvieron un aumento en la producción de celulosa de 31% con respecto al uso de glucosa como única fuente de carbono; este aumento se atribuye a la cantidad de micronutrientes adicionales presentes en la melaza, especialmente sulfuros y nitrógeno orgánico, que

favorecen el crecimiento del microorganismo (Keshk, S., Razek, T. & Sameshima, T., 2006, 1517 – 1523).

En el año 2009 Kurosumi y colaboradores compararon el uso de diversos jugos de fruta (naranja, piña, manzana, pera japonesa y uva) como fuente de carbono en un medio H-S modificado con éstos (medio I), con el medio H-S suplementado con glucosa, sacarosa y fructosa ajustados en la proporción en que se encuentran en los respectivos jugos de fruta (medio II), y con un medio compuesto por el jugo de fruta al que solamente se le ajustó el pH inicial (medio III). El microorganismo fue *Acetobacter xylinum*. La mayor producción de celulosa se obtuvo con el medio I para todos los jugos de fruta empleados, lo que, según los autores, se debe a la presencia de las fuentes de nitrógeno propias del medio H-S y a algunos compuestos adicionales presentes en las frutas que favorecen el crecimiento del microorganismo y la producción de celulosa (Kurosumi, A., Sasaki, C., Yamashita, Y. & Nakamura, Y., 2009, p.333-335).

En el siglo XII los chinos formaban películas con ceras para proteger productos cítricos de la perdida de agua. El primer tipo de película desarrollado comercialmente fue la Yuba formada a partir de leche de soya durante el siglo XV en Japón, con fines de conservación. En la Inglaterra del siglo XVI algunos productos se protegían con lardo de cerdo y desde 1930 en Estados Unidos se empezó a utilizar comercialmente la cera para naranjas y manzanas. (Ávila, R. y López, A. 2008, p. 4-13).

Para el año 2005 Miguel Ángel Aguilar estudió las propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. En la primera etapa de la investigación se estudiaron las propiedades mecánicas (resistencia a la ruptura y deformación), de barrera a gases (coeficiente de difusión al vapor de agua y permeabilidad al dióxido de carbono) y térmicas (temperatura de fusión y difusividad térmica) de películas elaboradas a partir de mezclas de gelatina-almidón. En la segunda fase se seleccionaron tres películas de distintas propiedades (mecánica, de barrera a gases y térmicas) para evaluar su efecto sobre la vida postcosecha de frutos de Aguacate (variedad

¨Hass¨). Los frutos recubiertos presentaron menor pérdida de peso, mayor firmeza y menores cambios en el color con relación a los frutos testigo. (Aguilar, M. 2005).

En el año 2009 Velázquez y colaboradores evaluaron el efecto de la temperatura, humedad relativa y tipo de recubrimiento sobre la respiración de la guayaba. En este trabajo, se estudió el efecto de la temperatura (9, 15 y 25 °C), de la humedad relativa (HR= 57, 75 y 90 %) y del tipo de empaque (Metilcelulosa, Etilcelulosa y Polietileno) sobre la respiración de la guayaba (*Psidium guajava* L.). Se encontró un efecto significativo ($P<0.05$) de la temperatura sobre la velocidad de respiración, incrementándose tres veces al variar la temperatura de 9 a 25 °C. Para la producción de CO_2 se encontraron efectos significativos tanto del tipo de película como de la humedad relativa. Estos efectos no se observaron para el consumo de O_2, lo cual se atribuye a una permeabilidad selectiva de las películas a dichos gases (Velázquez, et. al., 2009, p.54-59).

Barco y colaboradores en el año 2011 estudiaron el efecto de un recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. Se empleó un diseño completamente al azar para la valoración de los tratamientos, con tres réplicas y tres repeticiones en cada tratamiento. Se usaron tomates larga vida provenientes del municipio de El Tambo (Cauca), seleccionados y cubiertos con solución de almidón de yuca, ácido cítrico, glicerina, extracto de ajo, aceite esencial de canela y sal, por inmersión. Se usó un diseño completamente al azar y asignando los tratamientos al azar, para las variables de respuesta pérdida de peso, tasa de respiración, firmeza y grados brix a 18ºC y 77% de humedad relativa encontrandose diferencias significativas ($p<0.05$) en el resultado de las variables de respuesta. El tratamiento T4 fue el adecuado, seguido por T3, presentando retraso en la maduración y manteniendo las condiciones de calidad del tomate por un periodo de 4 días y con un 4.64% de pérdida de peso y firmeza entre 2.54 y 8.91 Newton hasta el día 22. El recubrimiento con un 4% de almidón fue el más efectivo en la conservación de tomate de mesa (Barco, P., Burbano, A., Mosquera, S., Villada, H. & Navia, D., 2011, p. 96-103).

Un año después, Aguilar y San Martín realizaron una caracterización y aplicación de películas a base de gelatina-carboximetilcelulosa para la preservación de frutos de guayaba, en este estudio se elaboraron películas comestibles a base de gelatina y carboximetilcelulosa (CMC) estudiando el efecto del contenido de glicerol y pH en sus propiedades fisicoquímicas. Asimismo, se evaluó el efecto de las películas en la vida postcosecha de frutos de guayaba. La caracterización de las películas se realizó a través de la resistencia a la ruptura, coeficiente de difusión al vapor de agua y solubilidad en agua. Estas propiedades estuvieron en función del contenido de glicerol y el pH de la solución formadora de película. Los resultados indicaron que tanto la incorporación de glicerol como el pH influyeron de manera importante en las propiedades evaluadas. Los frutos recubiertos con películas de gelatina-CMC presentaron menores pérdidas de peso y menores pérdidas de firmeza en comparación con los frutos control (Aguilar, M. & San Martin, E., 2012, p.1-7).

En el año 2013, Andrade y colaboradores elaboraron y evaluaron un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol *Cyphomandra betacea* Cav. Send. evaluando la viabilidad de utilizar cera de laurel *Morella pubescens* como materia prima para la elaboración de un recubrimiento comestible con el fin de prolongar la vida útil de los frutos. Para determinar el mejor recubrimiento se estudiaron nueve formulaciones, en las que se mantuvo constante la cantidad de cera y de los aditivos u tilizados, evaluando la proporción de almidón y agua, mediante un diseño de superficie de respuesta factorial 3^2, cuyo análisis llevó a la optimización de la formulación. El recubrimiento obtenido se probó sobre la calidad del tomate de árbol, mediante pruebas fisicoquímicas (Andrade J., Acosta, D., Bucheli, M. & Luna, G., 2013, p.60-72).

El análisis estadístico mostró un mejor comportamiento en pérdida de peso, transpiración, firmeza, índice de madurez y de respiración en las muestras recubiertas con respecto a los testigos, reflejados en un incremento del 25% en el tiempo de vida útil del tomate de árbol, demostrando así la viabilidad de la cera de laurel como un buen componente para la realización de recubrimientos comestibles.

Achipiz y colaboradores para este mismo año (2013) realizaron un estudio sobre el efecto de un recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava)* el objetivo de este estudio fue desarrollar un recubrimiento comestible a partir de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L), aloe vera *(Aloe barbadensis Miller*) y cera de carnauba (*Copernicia cerífera*) y evaluarlo en guayaba (*Psidium guajava*) para prolongar la vida útil a temperatura ambiente. Se evaluó la pérdida de peso, la tasa de respiración, la firmeza, el contenido de vitamina C y ácido predominante. La aplicación del recubrimiento se realizó por inmersión de los frutos en los respectivos tratamientos durante 30 segundos y secado durante 5 minutos a 35 ºC y se dejaron a temperatura ambiente (19°C) Se desarrollaron 4 tratamientos: la muestra testigo sin almidón y los recubrimientos con 2, 3 y 4% de almidón respectivamente obteniendo que el tratamiento 4 fue quien obtuvo los mejores resultados en cada punto de evaluación frente a la muestra testigo (Achipiz, S., Castillo, A., Mosquera, S., Hoyos, José. & Navia, D., 2013, p.92-10).

En el año 2014, se evaluó el efecto de un recubrimiento comestible y de diferentes empaques durante el almacenamiento refrigerado de Mango *Tommy atkins* mínimamente procesado por parte de Dussan y colaboradores donde se evaluó el efecto de un recubrimiento comestible de almidón de yuca y cera de carnauba adicionando ácidos orgánicos (1%) y cloruro de calcio (1%) estudiándose también el efecto de cuatro empaques. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, con un total de ocho tratamientos derivados de cuatro condiciones de empaques y dos de recubrimiento. El fruto fue almacenado a 5±1°C y 90±2% de humedad relativa y se midió los atributos de calidad cada cuatro días, durante 24 días. El mango mínimamente procesado tratado con ácido cítrico, ácido ascórbico, cloruro de calcio y recubrimiento comestible, envasado en PET (tereftalato de polietileno) es la mejor condición para el almacenamiento de mango *Tommy atkins.* (Dussan, S., Torres, C. & Hleap, J, 2014, 123-130).

Más recientemente, para el año 2016 se evaluó la realización de películas comestibles a base de un biopolímero tipo dextrana, evaluada por Moncayo y colaboradores donde el objetivo fue caracterizar películas comestibles elaboradas a base de un biopolímero tipo

dextrana elaboradas mediante la técnica de casting. En estas pruebas se incluyó el porcentaje de humedad, actividad de agua, permeabilidad al vapor de agua, propiedades mecánicas y color. Los resultados mostraron el efecto que tiene el glicerol en la tensión de ruptura, porcentaje de elongación y permeabilidad al vapor de agua indicando que las películas a base de dextrana presentan propiedades que las hacen promisorias para ser empleadas como empaques o recubrimientos comestibles (Moncayo, D., Buitrago, G. & Algecira, N., 2016, p.107-109).

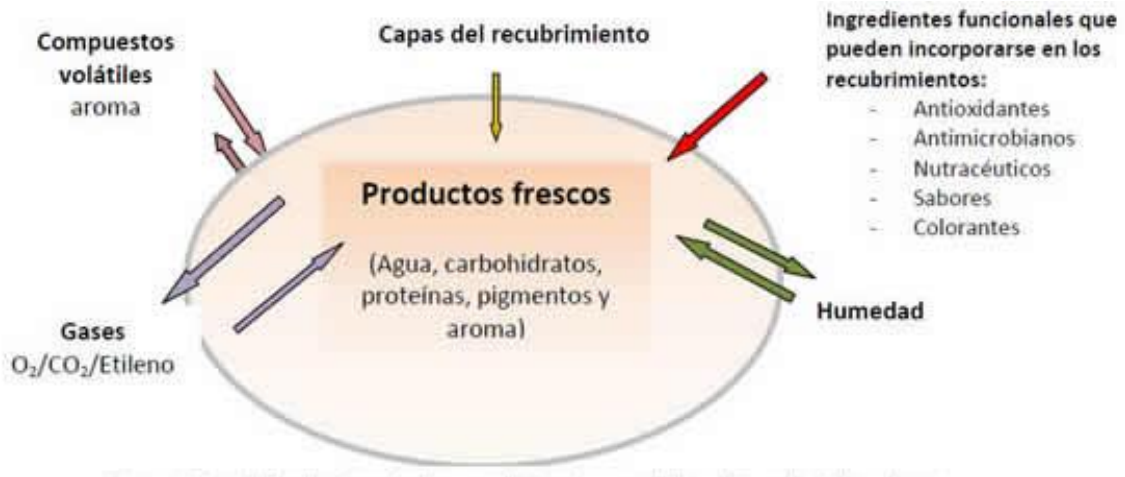
3. MARCO TEORICO

3.1 Película/Recubrimiento comestible.

Un recubrimiento o película comestible es un material de envoltura (empaque) delgado empleado en la industria de alimentos y que puede ser consumido como parte del mismo, debido a que proviene de polímeros biodegradables, no tóxicos y que ayudan a incrementar la calidad de los alimentos durante su conservación (Sánchez, L., Pastor, C., Vargas, M., Chiralt, A. & González, C., 2011, p.57-63).

Los recubrimientos comestibles se han utilizado desde hace tiempo para mantener la calidad y extender la vida de anaquel de algunas frutas, tales como cítricos. Las frutas son frecuentemente cubiertas al sumergir o asperjar un variado número de materiales comestibles. De esta manera, se forma una membrana semipermeable en la superficie para reducir la respiración, controlar la pérdida de humedad y proporcionar otras funciones. Los recubrimientos formulados apropiadamente pueden ser utilizados en la mayoría de los alimentos para responder a los retos asociados con la estabilidad de la calidad, seguridad comercial, valor nutrimental y los costos económicos de producción. (Ruelas, X., Reyes, M., Valdivia, B., Contreras, J., Montañez, J., Aguilera, A. & Peralta, R., 2013, p. 31-37). A reserva de la industria de productos frescos, los beneficios potenciales de utilizar recubrimientos comestibles incluyen (Fig. 1)

Fig. 1. Propiedades funcionales de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas frescas.



Fuente: Falguera *et al.*, 2011

Las películas y recubrimientos deben presentar ciertas exigencias funcionales que permitan controlar o aminorar las causas de alteración de los alimentos a recubrir, algunas de estas ventajas y propiedades son:

• Ser libres de tóxicos y seguros para la salud.

• Deben requerir una tecnología simple para su elaboración.

• Ser protectores de la acción física, química y mecánica.

• Presentan propiedades sensoriales: deben ser transparentes y no ser detectados durante su consumo.

• Mejoran las propiedades mecánicas y preservan la textura.

• Prolongan la vida útil de alimentos a través del control sobre el desarrollo de microorganismos.

• Pueden regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes.

Presentan propiedades de barrera como transferencia de distintas sustancias, adecuada permeabilidad al vapor de agua, solutos y una permeabilidad selectiva a gases y volátiles, desde el alimento hacia el exterior y viceversa (Fernández, D., Bautista, B., Fernández, D., Ocampo, R., García, A. & Falcón, A., 2015, p. 52-57).

3.1.1 Materiales empleados como recubrimientos comestibles.

La mayoría de las frutas y hortalizas poseen una capa de cera natural en la superficie, llamada cutícula. Esta capa cerosa generalmente tiene una baja permeabilidad para el vapor de agua. Al aplicar una capa externa se aumentará la barrera natural o la reemplazará en el caso de que la capa se haya removido o alterado durante el manejo postcosecha o procesamiento. Los recubrimientos proporcionan una barrera parcial a la humedad e intercambio gaseoso, mejorando la manipulación mecánica adecuada para ayudar a mantener la integridad estructural, retener los compuestos volátiles de sabor y acarrear otros ingredientes funcionales en el alimento.

Los polímeros tales como proteínas, polisacáridos, lípidos y resinas son comúnmente materiales para formar recubrimientos que se pueden utilizar solos o en combinaciones. Las

características físicas y químicas de los biopolímeros influyen grandemente en la funcionalidad del recubrimiento resultante. La selección de materiales para recubrimientos se basa generalmente en la solubilidad con el agua, naturaleza hidrofílica e hidrofóbica, facilidad de formación del recubrimiento y propiedades sensoriales (Falguera, V., Quintero, P., Jiménez, A., Ibarz, A. & Muñoz, J., 2011. p. 292-303). A continuación se presentan ejemplos de biopolímeros usados para recubrimientos comestibles.

3.1.2 Polisacáridos.

Los polisacáridos son conocidos por su estructura compleja y diversidad funcional. La estructura lineal de algunos de estos polisacáridos es, por ejemplo, la celulosa (1,4-b-D– glucano), la amilosa (un componente del almidón 1, 4-a-D– glucano) y el quitósan (1, 4-b-D– polímero de glúcidos), le proporcionan a algunas películas dureza, flexibilidad y transparencia; las películas son resistentes a las grasas y aceites. El entrelazamiento, por ejemplo, del quitósan con aldehídos hace la película más dura, insoluble en agua y le proporciona una alta resistencia (Villada, et. al., 2006, p. 5-13).

3.1.3 Hidrocoloides, lípidos/grasas.

Dos tipos de biomoléculas son usados en la preparación de empaques biodegradables de película, los hidrocoloides y los lípidos. Individualmente, tienen una escasa integridad estructural y características funcionales; por ejemplo, los hidrocoloides no son una buena barrera contra la humedad, en cambio los lípidos, sí. Algunas formulaciones de las películas se han adaptado a necesidades específicas de comercialización; por ejemplo, las naranjas tienen una cáscara gruesa que está expuesta a condiciones anaeróbicas generando fácilmente el ciclo de senescencia y putrefacción, de tal manera que estas películas ricas en lípidos pueden retardar este efecto (Tharanathan, R., 2003, p. 71-78).

3.1.4 Colágeno/gelatina.

Las películas de colágeno también son usadas tradicionalmente en la preparación de envolturas comestibles (Tharanathan, R., 2003, p. 71-78). El colágeno es el mayor constituyente de la piel, tendones y tejidos conectivos, y se encuentra extensamente distribuido en las proteínas fibrosas de los animales.

El colágeno es el mayor constituyente de la piel, tendones y tejidos conectivos, y se encuentra extensamente distribuido en las proteínas fibrosas de los animales. La gelatina resulta de una hidrólisis parcial del colágeno, produce una película flexible y gruesa y las propiedades mecánicas mejoran cuando se utiliza cloruro de sodio (NaCl) en concentraciones bajas. Actualmente, los embutidos como salchichón, se recubren con materiales derivados de la proteína (gelatina) o con materiales derivados de mezclas de quitósan y gelatina. Usualmente, películas de un grosor aproximado de 2.5 mm, se fabrican por varios métodos y estas estructuras membranosas delgadas son utilizadas para cubrir los alimentos o como medio de separación. (Villada, et. al., 2006, p. 5-13).

3.2 Biopolímeros.

Los biopolímeros son macromoléculas constituidas por la unión repetida de muchas unidades moleculares denominadas monómeros que se encuentran unidas entre sí mediante enlaces covalentes. Los biopolímeros consisten principalmente de polisacáridos y tiene la estructura y función similar a la de las plantas y algas. (Carreño, et, al., 2012, p. 307-335) Los polisacáridos están formados por la unión de centenares de monosacáridos, unidos por enlaces ¨O-glucosidos¨. Entre los monómeros y disacáridos más familiares se encuentra la glucosa, fructosa, galactosa, ribosa, sacarosa, lactosa y maltosa.

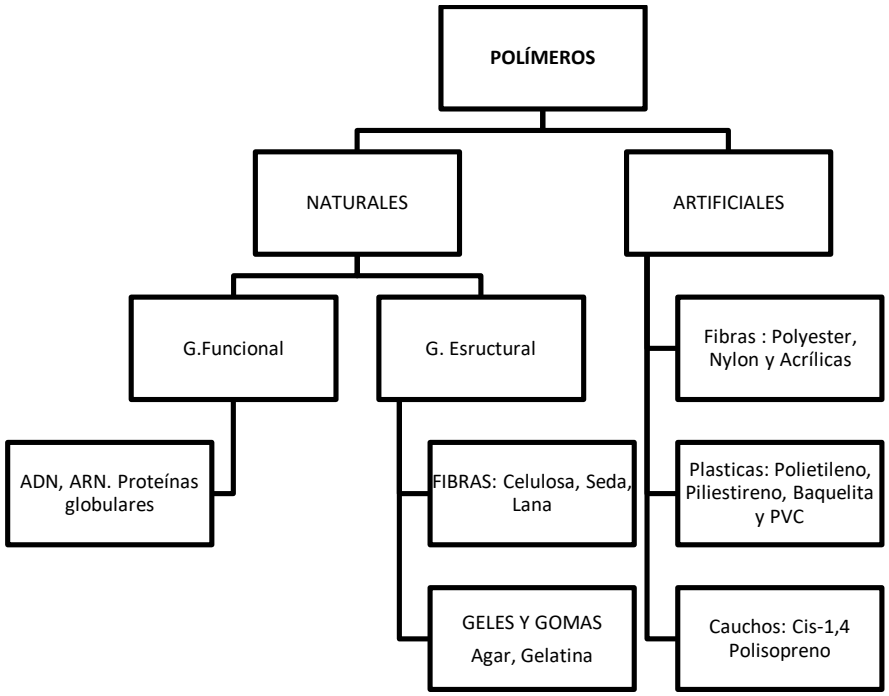
Los tres últimos resultan de la combinación de una unidad de glucosa más una galactosa y de dos unidades de glucosa respectivamente. (Santana, T. & Madera, J., 2013, p. 20). Los polisacáridos más importantes hoy en día son el almidón y la celulosa.

Los biopolímeros representan los componentes orgánicos más abundantes en la naturaleza y exhiben propiedades con variedad de aplicaciones debido a su total biodegradación en productos como CO_2 y H_2O y posteriormente en abonos orgánicos, lo cual constituye una gran ventaja en cuanto a los polímeros sintéticos. (Ulloa, J., 2012).

Los biopolímeros que también son llamados polímeros renovables, se pueden clasificar en dos tipos: los provenientes directamente de organismos vivos y los que requieren ser sintetizados, pero, su procedencia es de un recurso renovable. (Carreño, et, al., 2012, p. 307-335).

La mayoría de componentes orgánicos presentes en la materia viva, como las proteínas, la madera, la quitina, el caucho y las resinas, son polímeros; de igual forma muchos materiales sintéticos como los plásticos, las fibras (Nylon) los adhesivos, el vidrio y la porcelana. Todos estos tienen una estructura interna similar y se rigen por las mismas teorías (Wiley, J., 2006). (fig. 2)

Fig. 2 Polímeros naturales y polímeros sintéticos más usados



Fuente: Macromoléculas. (http://quimica-biologia-12-13.wikispaces.com/Macromol%C3%A9culas.+Pol%C3%ACmeros+de+inter%C3%A9s+para+la+sociedad.) Modificado: María Angélica Cerpa

Sin embargo a pesar de que todos son polímeros con estructura interna similar, estos se dividan según su origen, conociéndose unos como polímeros sintéticos y otros como polímeros naturales (Ulloa, J., 2012). Los biopolímeros naturales que son de nuestro interés, se pueden clasificar en tres grandes grupos: proteínas, polisacáridos, y ácidos nucleicos. (Carrillo, N., Muñoz, D., Aguirre, P., Amar, Y., Vidal, S. & Egaña, R., 2014, 31-40). (Tabla 1)

Tabla 1: clasificación de los polímeros según su origen

CLASIFICACION DE LOS POLIMEROS SEGÚN SU ORIGEN		
POLIMEROS NATURALES (BIOPOLIMEROS)		
PROTEINAS	**ESTRUCTURALES**	**Colágeno, queratina, elastina**
	FUNCIONALES	**Enzimas, hormonas**
POLISACARIDOS	**ESTRUCTURALES**	**Celulosa, quitina**
	RESERVA	**Almidón, glucógeno**
ACIDOS NUCLEICOS	**ADN y ARN**	

Fuente: CADENA QUIROZ, Francisco, Manual de Reciclaje de Plástico, Corporación OIKOS, A&B Editores, Quito, 2009.

La característica más importante e innovadora de los biopolímeros es su capacidad de servir de empaque para la conservación de alimentos, siendo al mismo tiempo amigables con el medio ambiente. Para lograr los requerimientos de la industria alimentaria muchas veces se añaden agentes plastificantes, que incrementan la flexibilidad y la durabilidad a través de la disminución de la temperatura de transición vítrea del biopolímero. (Cruz, R., Martínez, Y. & López, M., 2010).

3.3 Celulosa.

La celulosa es la molécula biológica más abundante y constituye el mayor porcentaje de los biopolímeros en la tierra, siendo inclusive mayor que el de todos los demás juntos, (Jonas, R. & Farah, L., 1998, p. 101-106) por lo tanto, no sorprende que la humanidad haya hecho uso de la celulosa desde tiempos inmemoriales con distintos fines tales como obtener

papel, en la construcción y, últimamente, como una fuente de bioenergía, (Miramont, S., 2012). La celulosa es el componente principal de la pared celular de las plantas, se encuentra asociada con la hemicelulosa y la lignina proporcionando sostén, (Carreño, et. al., 2012, p. 307-322) pero no solo las plantas son productoras de celulosa, también lo hacen otros organismos como los hongos, las bacterias y algunos animales, gracias a esta diversidad la celulosa actualmente se ha convertido en una materia prima muy destacable debido a sus múltiples propósitos en la sociedad.

Dentro del grupo de las bacterias *Gluconacetobacter xylinus* es la especie con mayor capacidad de producción de celulosa, es por ello que ha sido determinada como organismo modelo en muchas investigaciones, incluyendo esta, ya que su producto es de alta pureza y de estructura similar a la de origen vegetal. *G. xylinus* es un bacilo bacteriano perteneciente a la familia *Acetobacteracea* de tipo gran negativa, aerobio estricto, que realiza oxidación incompleta de diversos azucares y alcoholes, es conocida por sus hábitats naturales (frutas y vegetales) en descomposición y por su capacidad de formación de una película superficial en medios líquidos y sólidos. (Chavez, J., Martinez, S., Contreras, M. & Escamilla, M., 2004, p.18-25).

3.3.1 Estructura química de la celulosa.

Su estructura es lineal y está formada por 2000 a 14000 unidades de *B*-(1,4) glucosa en cadenas no ramificadas, unidas entre sí con enlaces tipo puente de hidrogeno. Estas cadenas dan lugar a la formación de microfibrillas con regiones altamente ordenadas que le dan las características de insolubilidad, rigidez y resistencia al ataque enzimático y que se conocen como regiones cristalinas. (Pérez, E., 2013). En la celulosa existen dos tipos de puentes de hidrogeno: los que se forman entre los grupos C3-OH y el oxígeno del anillo piranosa dentro de la misma molécula y los formados entre el grupo C6-OH de una molécula y el oxígeno del enlace glucosidico de otra molécula (Ariffin. H., Hassan, M., Shah, M., Abdullah, N., Ghazali F. & Shirai Y., 2008, p. 231-236).

La composición de la celulosa permite que las regiones cristalinas se encuentren alternándose con zonas denominadas amorfas. La formación de estas regiones ocurre cuando a lo largo del haz de cadenas se rompen los puentes de hidrogeno dando origen a las

secciones amorfas, que permiten su hidratación y el posterior ataque enzimático por microorganismos celulíticos que poseen enzimas especificas encargadas para su degradación. (Barrera, C., Carlosama, P. & Flores, P., 2009, p.2-4).

El mecanismo de cristalización de las microfibrillas puede dar origen a dos tipos de celulosa; si las microfibrillas se orientan en forma paralela se sintetiza celulosa de tipo I, mientras que si el arreglo de las microfibrillas es antiparalela se obtiene celulosa tipo II; siendo la celulosa tipo I predominante en la naturaleza (Valenzuela, F., 2001).

3.3.2 Celulosa microbiana.

A partir de diferentes sistemas microbianos se puede sintetizar exopolisacaridos de alta pureza y estructura regular única, esta capacidad en los procarióticos es desarrollada en forma especial por bacterias Gram-negativas. Géneros como *Achromobacter, Agrobacterium, Gluconacetobacter, Rhizobyum y Sarcina,* representan una alternativa potencial a la celulosa de origen vegetal. (Jaramillo, R., Tobio, W. & Escamilla, M. , 2012, p. 3004-3013).

La celulosa bacteriana es químicamente pura, libre de lignina y hemicelulosa lo que la hace más resistente, además, su obtención disminuye los costos de extracción y purificación con respecto a la celulosa de fuente vegetal, (Saxena, I., & Brown, R., 2007, p.169-181), sin embargo su estructura química es similar a la celulosa vegetal $(C_6H_{10}O_5)_n$, pero, con propiedades físicas y mecánicas distintas (tabla 2). La celulosa bacteriana tiene una pureza mayor (debido a que no está asociada a la hemicelulosa y lignina), un índice de cristalinidad más elevado, mayor capacidad de absorción y retención de agua, elevada elasticidad y mayor adaptabilidad biológica. (Chawla, P., Bajaj, I., Survase, S. & Singhal, R., 2009, p. 107-124).

Tabla 2: Propiedades de la celulosa bacteriana (CB) en comparación con la celulosa vegetal (CV)

	CB	**CV**
Largo de las fibras	0,07- 0,13 µm	30-75 µm
Cristalinidad	65-79%	55-65%
Grado de polimerización	2000-6000	13000-14000

Agua	98.5%	60%
Modelo de Young	15-30 GPa	5.5-12.6 GPa

Fuente: Pecoraro, E., Manzani, Y. Messaddeq, S. & Ribeiro, S. 2008. Bacterial cellulose from *Gluconacetobacter xylinus*: Preparation, propierties and applications, in Monomers, polymers and composites from Renewable resources. ELSEVIER: Amsterdam.

3.3.3 Biosíntesis de la celulosa bacteriana.

Las bacterias del género Acetobacter producen celulosa a partir de fuentes de carbono como glucosa, sacarosa, glicerol, manitol o arabitol. La síntesis de celulosa consta de dos etapas principales: la primera es la conversión de la fuente de carbono en uridin difosfato glucosa (UDP-glucosa), que es el sustrato usado para producir la celulosa; la segunda etapa es la formación de la celulosa y su secreción al medio del cultivo. (Gómez; J., 2013).

La primera etapa inicia con el ingreso del sustrato al microorganismo y su conversión a glucosa-6-fosfato por la enzima glucoquinasa; posteriormente, la glucosa-6-fosfato pasa a glucosa-1-fosfato por la acción de la enzima fosfoglucomutasa. En el siguiente paso, la glucosa-1-fosfato se convierte en UDP-glucosa en presencia de la enzima UDPG pirofosforilasa; finalmente, por la acción de la enzima celulosa-sintasa, que es la encargada de realizar la polimerización de la glucosa, se forma la celulosa.

La segunda etapa es la polimerización de la glucosa seguida de la excreción de la celulosa al medio de cultivo. El microorganismo posee una serie de poros de 3.5 nm alineados diametralmente en la membrana celular. En la cara interna de la membrana se encuentra el complejo enzimático celulosa-sintasa rodeando cada uno de los poros. La celulosa es secretada al medio de cultivo como una subfibrilla elemental de 1.5 nm de diámetro; al juntar estas subfibrillas se forma una microfibrilla y el empaquetamiento de microfibrillas produce las fibras y las cintas de celulosa. (Miramont, S., 2012). La síntesis de celulosa se ha realizado en condiciones estáticas y agitadas, en forma continua y discontinua, en diferentes diseños de reactores en constante agitción y/u oxígeno (Jaramillo, et. al., 2012, p. 3004-3013). El mecanismo de síntesis de CB le confiere una pureza superior a la presente en cualquier fuente vegetal, lo cual le otorga características sólo presentes en la celulosa de origen bacteriano: alto grado de cristalización, alta resistencia a la presión, elasticidad y

durabilidad. La celulosa tiene alta capacidad para absorber agua y debido a un menor diámetro de las microfibrillas la celulosa bacteriana posee una mayor área superficial que la presente en la celulosa de madera (Chavez, et, al., 2004, p. 18-25)

3.3.4 Técnicas de cultivo para la obtención de celulosa bacteriana.

La producción de celulosa bacteriana a nivel industrial depende de la técnica de cultivo que se esté utilizando. A continuación definiremos las dos técnicas más utilizadas en los procesos de obtención de celulosa bacteriana:

3.3.4.1 Cultivo estático. Este tipo de cultivo ha sido ampliamente investigado, puesto que la celulosa bacteriana producida se usa en algunas de las aplicaciones comerciales, en la celulosa se obtiene en forma de gelatina, que es aproximadamente el 1% del peso total (Chavez, et, al., 2004, p. 18-25). En condiciones de cultivo estático se genera una "película" o "nata" en la interfase aire/líquido del medio de cultivo. Las microfibrillas que son continuamente liberadas por la bacteria, se cristalizan en cintas, las cuales se sobrelapan formando planos paralelos. (Gomes, F., 2011).

3.3.4.2 Cultivo agitado. Para la producción a gran escala, se recomienda el uso de cultivo en agitación, debido a que se obtiene mayor producción. En cultivo agitado, se logra un menor grado de agrupamiento, la cantidad de planos paralelos es menor y en consecuencia se forman gránulos irregulares, cadenas fibrosas o ramificadas de celulosa bacteriana, sin embargo a pesar de su ventaja de mayor producción el cultivo agitado presenta desventajas puesto que la producción de celulosa bacteriana en fermentadores con agitación y aireación constante tiene una mayor probabilidad de que aparezcan especies mutantes no productoras de celulosa bacteriana, contribuyendo a la disminución de la productividad (Ross, P., Mayer, M. & Benziman M., 199, p. 35-58).

3.3.5 Función fisiológica.

Todas las bacterias productoras de celulosa conocidas hasta hoy, se distinguen porque el polímero producido se encuentra en forma de agregados extracelulares, atribuidos principalmente a la autoafinidad que presenta el material, para *G. xylinus* la celulosa confiere protección mecánica, química y biológica dentro del hábitat natural, en ese caso

las células productoras son atrapadas en la red del polímero, que mantiene la población en la interfase aire-líquido. (Carreño, et. al., 2012, p. 307-322)

La matriz polimérica facilita el suministro de nutrientes a la célula, pues éstos se concentran mejor debido a las propiedades de adsorción con las que cuenta la estructura de celulosa, de esta forma, la matriz polimérica genera condiciones más favorables que si el microorganismo se encontrara solamente en el medio acuoso. En el caso del cultivo estático empleando *G. xylinus*, la celulosa se produce en forma de película en la interfase aire/líquido; se presume que en este caso, el propósito de la síntesis de la celulosa es proveer una matriz superficial firme, que permita al microorganismo, un aerobio estricto, estar cerca a la fase gaseosa Otros autores suponen que la celulosa sintetizada juega un importante papel de almacenamiento de alimento que el microorganismo utilizaría en momentos de escasez. La presencia de exo y endoglucanasas, en el caldo de cultivo de algunas fermentaciones con *G. xylinus* refuerza esta suposición. (Oikawa, T., Ohtori, T. & Ameyama, M, 1995, p. 331 – 332).

3.3.6 Fuentes de Carbono.

Hoy en día se conoce que *G. xylinus* produce celulosa a partir de fuentes de carbono como glucosa, sacarosa, glicerol, manitol o arabitol, (Kurosumi , et, al, 2009, p. 333-335)melaza, lactato, citrato, etanol, licor de maíz (CSL), soya, extracto de levadura, peptona, hidrolizado de caseína, aunque también se ha comprobado su buen desarrollo en jugos de fruta (naranja, piña, manzana y uva) como fuentes de carbono.

3.3.7 Importancia industrial.

La producción de la celulosa depende de la composición del medio de cultivo, pH y tensión de oxígeno. Debido a su alta pureza e inusuales propiedades fisicoquímica la celulosa bacteriana ofrece una amplia variedad de aplicaciones potenciales (cuadro 1). Además de estas propiedades fisicoquímicas de importancia industrial, la celulosa de tipo bacteriano es inerte metabólicamente, no tóxica, ni provoca reacción alérgica al contacto, propiedades de particular importancia para fines biomédicos y cosméticos. (Jaramillo, et, al, 2012. P. 3004-3013).

En los pasados 10 años, al menos cincuenta patentes referentes a sistemas de producción y aplicaciones de la celulosa bacteriana han sido generadas. En la industria alimentaria ha

sido de gran importancia ya que al ser un producto de origen natural es muy bien reconocida por el organismo atribuyendo grandes beneficios al ser consumida.

La disponibilidad y abundancia en nuestro entorno la convierte en materia prima muy atractiva para producir muchos artículos de importancia industrial y agronómica (Lynd L., Van zyl, W., McbBride J., Laser M., 2005, p. 577-583).

La agricultura, la industria de producción de papel y de alimentos, generan una gran cantidad de residuos ricos en lignina y celulosa. Lamentablemente a nivel global muchos residuos celulósicos son generalmente eliminados mediante quema de biomasa (Vallejos, N., 2013, p. 1-13).

El procesamiento de biomasa con microorganismos y la utilización combinada de sustratos, permite la obtención de un producto final con propiedades adecuadas, convertida en una alternativa de aprovechamiento a nivel industrial, biomédico, entre otros, con alto potencial. (Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M. & Kalinowska H., 2011, p. 90-94).

Cuadro 1: Aplicaciones industriales de la celulosa de origen bacteriano

INDUSTRIA	APLICACIONES
COSMÉTICA	Estabilización de emulsiones, acondicionadores, generación de uñas artificiales.
TEXTIL	Material de alta absorción acuosa
REFINERÍA	Material para absorción de toxinas
PAPEL	Restauración de documentos, papel de alta calidad.
ALIMENTOS	Aditivo de alimentos, emulsificantes, fibra dietética.
MAQUILADORA	Componentes de partes y refracciones.
TURÍSTICA	Ropa deportiva y de acampar.
INVESTIGACIÓN	Inmovilización de proteínas y células, resinas para cromatografía.
TECNOLOGÍA	Diafragmas de alta sensibilidad en micrófonos y audífonos.
MEDICINA	Fabricación de piel artificial en terapia de quemaduras. Componentes en implantes dentales.

Fuente: Aplicaciones industriales de la celulosa de origen bacteriano. Adaptado de Revista

especializada en Ciencias Químico-Biológicas. Chávez Juan Luis, Martínez Suri, Contreras Martha y Escamilla Edgardo. Modificado: María Angélica Cerpa.

3.4.1 Importancia de las frutas.

La búsqueda de alimentos funcionales, son un reto para la ciencia y la tecnología de los alimentos, y son las frutas las especies que cumplen con estas características. Las frutas como alimentos son fuente potencial de antioxidantes y aportan nutrientes como agua, carbohidratos, minerales y vitaminas necesarios en la dieta. Las frutas tropicales son consideradas importantes en países en desarrollo, desde el punto de vista nutricional así como por su contribución a los beneficios de las exportaciones y de los ingresos. (Bielecki, et, al., 2011, p. 90-94)

el 90% de éstas frutas, se consume dentro de los mismos países productores, un 5% se comercializa como frutas frescas y el restante como productos elaborados (FAO, 2005), el mercado mundial de exportación en fresco es menor al 0,1% en tanto que el comercio de sus derivados es mucho mayor y cobra importancia principalmente en Europa. (Gutierrez, A., 2013).

La deshidratación y demás pérdidas nutricionales y de apariencia a que se enfrentan las frutas entre el momento de su recolección hasta su consumo son muy importantes. Un promedio de pérdida en postcosecha de frutas frescas está entre un 5 y 25% en países desarrollados, para el caso de países en vía de desarrollo este porcentaje alcanza valores entre 20 y 50%, variando según el fruto. (Ministerio de agricultura y desarrollo rural (MADR) Colombia, 2008)

3.4.1 Frutas

Las frutas son infrutescencias o partes carnosas de órganos florales que han alcanzado un grado de madurez adecuado y que son aptas para el consumo. Botánicamente, un fruto es un ovario maduro o el ovario con sus partes adyacentes, es decir, el órgano portador de la semilla. Cualquiera que sea su origen, el fruto está compuesto principalmente por tejido parenquimatoso. Los tejidos se hallan deficientemente desarrollados en la mayoría de los casos donde el tejido estructural es amplio. (Morales, N. & Rodríguez A., 2015).

La familia Mirtaceae posee alrededor de 131 géneros y unas 4620 especies, el género

Psidium representado por aproximadamente 150 especies, se destaca la guayaba por su importancia económica (Vásquez, et, al. 2013, p. 5-149) y es así mismo uno de los más encontrados en Colombia. Las especies *Psidium friedrichstahlianum* conocida comúnmente como Guayaba agria es una fruta tropical localizada principalmente en la región caribe. Existen pocos estudios sobre *Psidium friedrichstahlianum,* pero se ha determinado que la capacidad antioxidante y el contenido de los polifenoles de esta fruta son superiores a los reportados para muchas frutas de alta ingesta en América y el Caribe. (Parra, 2014, p. 314-322). Por otro lado la guayaba dulce (*Psidium guajava)* es originaria de América tropical, es considerado promisorio por su agradable sabor y riqueza nutritiva reflejada en el contenido de vitaminas, minerales, fibra y aminoácidos como la lisina y el triptófano (Cruz, et, al., 2010, p. 42-52). Su contenido en fibra dietaría facilita la evacuación de residuos alimenticios del organismo, lo que reduce la aparición de enfermedades asociadas a la deficiencia en este componente. La pectina, una de las formas de la fibra, es apreciada en la industria de los alimentos por su capacidad para la formación de geles. (Romero, 2003). En el año 2011 la producción nacional de guayaba fue calculada en 128200 toneladas, de las cuales el núcleo productivo de Boyacá y Santander contribuyó con 63000 toneladas (Cruz, et, al., 2010, p. 42-52). Colombia posee condiciones agroecológicas favorables para el cultivo y la producción de frutas, siendo los departamentos de Santander y Boyacá (60% del total nacional), Tolima (10%), Cundinamarca (9%), Huila, Antioquia, Cauca, Nariño y Atlántico, los de mayor producción.

Para el caso de la guayaba durante el año 2013 se cosecharon en Colombia 8.339 ha de guayaba, con producción total de 69.096 t distribuida en 12 departamentos, siendo los principales departamentos productores: Santander, Tolima, Boyacá, Valle del Cauca, Antioquia y Caldas. El área del cultivo ha bajado, considerando que en el año 2000 hubo 12.603 ha, en 2005 12.920 ha y en 2010 9.810 ha en producción (Parra, 2014).

Desafortunadamente, este cultivo presenta un retraso tecnológico que se refleja en bajos rendimientos y altos costos de producción, deficiencias en la calidad y en la inestabilidad de la oferta, pues la mayoría de plantaciones son artesanales, lo que incrementa los riesgos de deterioro debido a su elevado grado de perecibilidad, problemas que pueden ser resueltos mediante el uso de recubrimientos comestibles que crean una barrera

semipermeable a los gases (O_2 y CO_2) y al vapor de agua mejorando las propiedades mecánicas (Achipiz,et, al., 2013, p. 92-100).

Actualmente las especies *P. guajava* y *P. friedrichstahlianum* representa un bajo rendimiento monetario a Colombia, debido a su baja calidad como producto frutícola en periodos postcosecha, por lo anterior se pretende con este trabajo establecer una película comestible a base de celulosa bacteriana como recubrimiento en la vida postcosecha de la Guayaba dulce (*Psidium guajava)* y Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum).*

3.4.2 Descripción de la Guayaba dulce.

El fruto es ovalado, carnoso con semillas en la pulpa, diámetro de 4 a 8 cm. y un peso que en dependencia de la variedad oscila entre 50 y 500 gramos, y un pH de 4,1-5,4, con una densidad promedio de 1,88 g/cm3 Es un fruto amarillo y la pulpa de color blanco, crema o rosa, y cuyo tiempo de producción desde la floración hasta la cosecha va de 100-150 días. Los frutos amarillos son cosechados para el consumo nacional, mientras que los de color verde intenso son cosechados para exportar. (Yam, J., Villaseñor, C., Romantchik, E., Soto, E. & Peña, M., 2010, p. 74-82)

3.4.3 Descripción de la Guayaba agria.

Arbustos o árboles hasta 8 m; brotes jóvenes y flores diminutamente puberulentos, hojas elípticas o elíptico-oblongas las láminas 3-15 x 1,7-6 cm, 1,7-2,9 veces más largas que anchas, subcoriáceas a coriáceas, pardo-rojizas oscuro a verde-gris oscuro, con frecuencia ligeramente brillante; botones 10-20 mm, subglobosos a piriformes. Flores con el cáliz 6-8 mm, cerrado en el botón, partiéndose irregularmente en 2 o 3 partes en la antesis, pétalos cada 12 mm, elípticos. Frutos hasta 10x10 cm, globosos a piriformes; semillas de 4 a 8 mm de diámetro, con escueta en forma de “C”, ligeramente angulares. (Cuadrado, 2016).

3.4.4 Maduración en planta e índice de madurez.

La identificación del grado de madurez apropiado para realizar la cosecha del fruto es de gran importancia ya que repercute en la vida poscosecha del mismo, así como en su comercialización.

En regiones tropicales, la guayaba presenta producción durante todo el año, presentándose la cosecha entre 120 a 180 d después de la floración, dependiendo de la variedad, de la época del año y de las condiciones agroecológicas y de cultivo. No hay consenso respecto al estado ideal de madurez de este fruto y su cosecha se realiza teniendo en cuenta aspectos comerciales, más que fisiológicos (Parra, 2014, p. 314-322).

3.4.5 Nutrición.

Los frutos de guayaba son una excelente fuente de antioxidantes, tales como ácido ascórbico carotenoides y fenoles los cuales cumplen un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas y degenerativas. También es abundante en fibra dietética (48-49% en base a materia seca), vitamina A, vitaminas del grupo B (tiamina y niacina) pectina, fósforo, calcio, hierro y potasio; tiene alto contenido de licopeno y posee características funcionales anticancerígenas. Los compuestos orgánicos volátiles predominantes incluyen los ácidos cítrico, láctico, málico, ascórbico y galacturónico, cuyo contenido cambia dependiendo de los cultivares y las condiciones de cultivo. (Gutierrez, 2013).

3.4.6 Variedades de Guayaba en Colombia.

De acuerdo a Calderón (1997), en Colombia existen muchas variedades de guayaba, que se agrupan comercialmente según la coloración de la pulpa, en rojas y blancas; aunque ésta puede ser amarilla o crema.

Algunas variedades dan frutos grandes y de pocas semillas; otras, pequeños y con abundante semilla.

Algunas variedades dan frutos grandes y de pocas semillas; otras, pequeños y con abundante semilla. En Santander y Boyacá, se encuentran dos variedades, mulatas y cimarronas, tanto rojas como blancas; producidas en pequeña cantidad y poco preferidas por quienes fabrican conservas. Aunque la roja es la de más calidad. Algunos productores, conforme a su mercado, clasifican la fruta en relación al color (verdes, pintonas y maduras), tamaño y grado de madurez.

Todas las variedades se diferencian en tamaño, peso y forma de producción. Las más conocidas en el país son Puerto Rico, Rojo Africano, Extranjero, Trujillo. Existen otras

variedades como D13, D14, Red, Palmira ICA-1, Roja ICA-2, Polonuevo, Guayabita de Sadoná (Nariño), Rosada y Blanca Común de Antioquia, Guayaba Agria (Gutierrez, 2013).

3.4.7 Cultivo del Guayabo (árbol) en Colombia.

En Colombia se produce desde el nivel del mar hasta altitudes de 1800 m y precipitaciones desde 800 a 2000 mm anuales, radiación solar de 1300 a 1800 horas luz/año, humedad relativa 70 - 80%. Crece desde 18 a 30 °C con promedio de 24 °C, a temperaturas menores de 3.2°C, la planta muere. A pesar que el guayabo se produce en casi cualquier tipo de suelo (desde arenosos hasta arcillosos), los mejores son los francos. El pH ideal del suelo para su cultivo se encuentra entre 6 y 7, aunque se conocen cultivos a pH de 4.5 hasta 8.2. Gracias a estos datos algunos autores expresan que Colombia presenta condiciones ideales en clima y suelo para el cultivo rentable del guayabo. (Ruelas, et, al., 2013, p. 31-37)

Cuadro 2: principales atributos de calidad de frutas y vegetales frescos

FACTOR DE CALIDAD	ASPECTO CONSIDERADO
APARIENCIA (VISUAL)	Tamaño, contorno y forma. Color: intensidad, uniformidad, brillo
TEXTURA (SENSACIÓN BUCAL)	Crujientes, jugosidad, fibrosidad.
SABOR (SABOR, AROMA)	Dulzura, acidez, astringencia, amargor, compuestos volátiles.
VALOR NUTRIMENTAL	Vitaminas, minerales.
SEGURIDAD	Sustancias Tóxicas, contaminantes químicos y contaminación microbiana.

Fuente: Adaptado de Falguera *et. al.,* 2011. Modificado: María Angélica Cerpa

3.5.1 Apariencia y color.

La apariencia es el atributo de mayor importancia en alimentos frescos y mínimamente

procesados, con aspectos primarios considerados como tamaño y uniformidad de color, brillantez, y ausencia de defectos de contorno o aspecto de la piel.

El color es de suma importancia en frutas y hortalizas frescas, dada la oxidación y encafecimiento enzimático que se presenta rápidamente al tener contacto con el oxígeno resultando en una decoloración(Castillo, et, al., 2010, p. 183-188).

3.5.2 Sabor.

El sabor involucra la percepción de varios componentes de sabor y aroma (Ruelas, et, al., 2013, p. 31-37). Los componentes comunes del sabor en alimentos frescos son dulzura, acidez, astringencia y amargor. El nivel de azúcar en frutas frecuentemente determina si el producto ha alcanzado la madurez requerida para la venta. El nivel de acidez es crítico para el balance de sabor de ciertos frutos, tales como los cítricos y uvas, y generalmente decrece durante la madurez y almacenamiento postcosecha. El amargor y astringencia se puede desarrollar en varias frutas y hortalizas bajo ciertas condiciones de almacenamiento. El perfil del aroma puede cambiar dramáticamente durante la vida de postcosecha de los alimentos frescos, particularmente en frutos climatéricos, en donde la volatilidad de los componentes puede variar significativamente basándose en la madurez del fruto. (Serrano, M., Valverde, J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez, D. & Valero, D., 2006, p. 3882- 3886).

3.5.3 Textura.

La textura de frutas y hortalizas frecuentemente se considera en términos de firmeza, crujencia, jugosidad, y dureza (atribuida a la fibrosidad del tejido vegetal), donde el tejido firme o crujiente es generalmente deseado en frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas. La textura es un indicador de la calidad muy importante para el consumo y preparación, además de indicar efectos de estrés durante la transportación. (Zwietering, M. 2002, 263-271).

3.5.4 Calidad nutrimental.

Las frutas son fuentes importantes de nutrimentos, incluyendo vitaminas (B6, C, tiamina, y niacina, entre otros) y cantidades significativas de fitoquímicos que juegan un papel importante en la salud humana. La pérdida de la calidad nutrimental durante la postcosecha,

particularmente el contenido de vitamina C y algunos fitoquímicos, puede ser substancial. Las pérdidas pueden incrementarse en frutas mínimamente procesadas. (Jaramillo, et, al, 2012, p. 304-312)

3.5.5 Seguridad microbiana.

Los factores de calidad incluyen tóxicos presentes de manera natural en los alimentos, contaminantes tales como residuos químicos y metales pesados, y contaminación microbiana. Los alimentos frescos son altamente susceptibles al daño o deterioro por hongos. La contaminación por microorganismos patógenos es muy importante en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. La sanitización y manipulación adecuada puede ayudar a reducir el riesgo potencial de contaminaciones. (Jaramillo, et, al, 2012, p. 304-312).

4. MATERIALES Y METODOS

Los procedimientos experimentales se realizaron en el Laboratorio de Investigaciones en Microbiología, Grupo de Investigación en Biología de Microorganismos (GIBM), Departamento de Biología y Química, Facultad de Educación y Ciencias de la Universidad de Sucre.

4.1 Material biológico.

La cepa silvestre que se utilizó en esta investigación fue *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693, donada por el Dr. Edgardo Escamilla Marván (Q.E.P.D) del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

4.2 Mantenimiento de la cepa de *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693.

El procedimiento para el mantenimiento de la cepa *G. xylinus* y su viabilidad se realizó cada 8 días en medios de cultivo estático agua destilada-sacarosa enriquecidos con sales de calcio, magnesio, fosfato y potasio teniendo en cuenta el pH favorable para el crecimiento óptimo de la bacteria que es de 5.6 el cual fue ajustado con NaOH 1.0N o HCl 10% (v/v). El inoculo fue adicionado después de esterilizar esterilizar los medios de cultivo. Después de la inoculación de la bacteria, se mantuvo a temperatura ambiente hasta lograr el crecimiento de la película de celulosa, posteriormente se trasladó a un medio de cultivo con un volumen de 200 ml, cada 15 días, para la obtención de un medio de cultivo axénico que fue utilizado como inoculo en los experimentos que se realizaron posteriormente.

4.3 Medios y condiciones de cultivo.

Para la producción de celulosa bacteriana se realizaron medios de cultivo estático (200ml) usando sacarosa y extractos de Guayaba dulce y Guayaba agria como fuente de carbono con un pH de 5,6, todos los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 121°C y posterior a esto se trasladaron a una cámara de flujo laminar donde se realizó una nueva esterilización con UV por un periodo de 20 minutos, pasado esto se procedió a la inoculación de la bacteria a partir del medio de cultivo donde se mantenía la cepa (inoculo).

Después de la inoculación se incubaron a temperatura ambiente y a luz baja para las posteriores aplicaciones que se describen más adelante (purificación y recubrimiento).

4.4 Medición de los parámetros fisicoquímicos de las frutas.

4.4.1 Medición de los grados Brix (°Bx)

Para efectuar la medición de los grados Brix en el refractómetro portátil Brixco 0-100% se agregó al prisma una pequeña cantidad de extracto puro de guayaba dulce y luego de guayaba agria (por separado) utilizando una pipeta, operando el dispositivo a través del ocular. Entre cada muestra se lavó el refractómetro con agua destilada y se secó con papel absorbente. Esta medición se tomó antes de la realización del recubrimiento en 3 frutas de cada especie, provenientes de la misma cosecha y luego al finalizar la evaluación (14 días).

4.4.2 Medición de la acidez titulable.

Para la realización de este parámetro se tomó una bureta y se llenó hasta el extremo con NaOH (0,1N), por otro lado se adicionó en un erlenmyer 10 mL de extracto puro de de una de las dos especies y se le agregó unas gotas de fenoftaleina, este fue titulado con el NaOH hasta que se produjo un cambio de color y se midió la cantidad de NaOH gastado, posteriormente se realizó lo mismo con el extracto puro de la otra especie que se estaba evaluando. Este parámetro fue medido igual que el anterior (antes y después de la evaluación de 14 días).

4.4.3 Medición de pH.

El pH de las dos frutas se realizó con los mismos extractos puros utilizados en los dos parámetros anteriores, se tomó un volumen de cada extracto y se midieron con un pHmetro marca Orion Star A211 (pH Thermoscientific) hasta que este arrojó los resultados. Los datos fueron tomados antes de realizado cada experimento y nuevamente luego de 14 días de haber finalizado.

4.5 Determinaciones y aplicaciones realizadas después de obtenidas las películas de celulosa.

4.5.1 Desinfección y purificación de la celulosa bacteriana

La celulosa que fue producida se extrajo de los bioreactores en su tiempo de cultivo respectivo y se removieron las impurezas con agua destilada y NaOH 0,1N a 30°c durante 20 minutos por tres repeticiones en una plancha de calentamiento hasta que la película quedo libre de toda impureza, posteriormente fueron lavadas con agua destilada y se secaron parcialmente con papel absorbente y su grosor fue medido con un calibrador vernier y nuevamente fueron lavadas con agua destilada para descartar cualquier contaminante superficial.

4.5.2 Desinfección de las frutas *Psidium guajava y Psidium friedrichstahlianum*.

Para la desinfección de los frutos de guayaba agria (*Psidium araca)* y guayaba dulce (*Psidium friedrichstahlianum*) se tuvo en cuenta su estado de madurez, uniformidad y tamaños parecidos, para iniciar, primero fueron lavadas con agua potable siendo sumergidas durante 30 minutos, luego éstas se sumergieron en agua clorada (100 ppm cloro) por un periodo de 15 minutos y fueron lavadas nuevamente con agua destilada por 5 minutos para ser secadas a temperatura ambiente, estas a su vez fueron guardadas en bioreactores por separado previamente estériles mientras se realizó el proceso de recubrimiento.

4.5.3 Recubrimiento de las frutas (*Psidium guajava y Psidium friedrichstahlianum*)

Para lograr un recubrimiento exitoso todas las frutas después de desinfectadas fueron llevadas a UV junto con todo el material de complemento que se utilizó, esto se realizó en un lapso de 20 minutos.

El recubrimiento se realizó en una cabina de flujo laminar donde cada especie de guayaba fue recubierta de manera manual utilizando una tela de algodón que permitió la distribución uniforme del recubrimiento (película de celulosa) sobre la superficie de la fruta,

obteniéndose una capa fina, posteriormente a esto fueron colocadas nuevamente en luz UV por el mismo lapso de tiempo anterior (20 minutos).

Al finalizar la desinfección con luz UV, en la misma cabina con flujo de aire, se procedió al empaquetamiento de todas las frutas en 6 bolsas de Polietiléntereftalato así:

- En cada bolsa se empacaron 3 muestras (2 recubiertas de la misma especie + 1 control de la misma especie)
- Se realizaron dos empaques por triplicado para cada tratamiento:

2x2x2

Tratamiento 1: 2 guayabas agrias recubiertas + 1 control (testigo)

Tratamiento 2: 2 guayabas dulces recubiertas + 1 control (testigo)

Esto con el objetivo de ser llevados a tres tipos de temperatura (6°C, 25°C y 35°C) para las posteriores comparaciones.

4.6 Evaluación de la formulación optimizada.

La formulación del recubrimiento obtenido fue evaluado sobre la calidad de las dos especies frutales en estudio, guayaba agria y guayaba dulce, estas se realizaron mediante pruebas por duplicado y un control sin recubrimiento de cada especie (testigo), teniendo en cuenta variables como textura, color, maduración y transpiración; ésta última se realizó en tres ambientes, refrigeración (6°C), incubación (35°C) y ambiente (25°C) y fue evaluada por gravimetría.

Los datos fueron tomados cada dos días, iniciando desde el día de la realización de la incubación en los tres tipos de temperatura hasta el día 14. Estos datos fueron basados en tres experimentaciones.

4.7 Análisis estadístico

Para el análisis de las variables evaluadas de las frutas guayaba dulce y guayaba agria recubiertas y sin recubrir, los datos obtenidos fueron sometidos a una prueba T de student para media de datos pareados con un nivel de confianza del 95%.

4. RESULTADOS

Para este experimento se tuvieron en cuenta diferentes aspectos para la producción de celulosa y para la realización de los recubrimientos.

La producción de celulosa bacteriana por *Gluconacetobacter xylinus* depende de la composición del medio de cultivo y de otras características como pH y oxígeno. (Jaramillo, et, al, 2012, p. 304-312)

Para la realización de los medios de *G. xylinus* se tuvo en cuenta que estuvieran en condiciones controladas de temperatura y para la realización de los recubrimientos, que las frutas de las dos especies en estudio tuvieran uniformidad en sus tamaños y formas, además que tuvieron un tiempo de maduración inicial.

5.1 Efecto de la sacarosa sobre el grosor de las películas de celulosa.

Para la realización de los medios con sacarosa, se trabajó con un volumen de 200 ml al cual le fue añadido 6 gr de este disacárido más un complejo de sales, dentro del marco de los resultados se encontró que a los 3 días de incubación del medio en un cultivo estático se produjo películas con un grosor de ~ 0,02 mm, lo cual es una película exacta para la realización del recubrimiento.

5.2 Efecto de las concentraciones de extractos de guayaba dulce y guayaba agria sobre el grosor de las películas de celulosa.

Una vez realizado los medios con extracto de guayaba dulce y guayaba agria en las dos concentraciones 20% y 40% se determinó el grosor de las películas de celulosa a los 3, 7 y 9 días, ya que para la realización del recubrimiento se necesitan grosores mínimos. Con los resultados obtenidos se estableció que la mejor concentración de extracto de guayaba dulce y guayaba agria correspondió al 40% en ambas especies, así mismo se notó que el mejor día para la obtención de las películas con un mínimo grosor concernió a los 7 días, donde se obtuvo películas de ~ 0,4 - 0,7 mm de grosor, lo cual es un buena proporción para la realización de los posteriores recubrimientos.

Para la toma de datos se tuvo en cuenta el día del montaje como día cero o tiempo de inicio. En los 3 días del montaje (cultivo estático) el resultado fue nulo para ambas concentraciones y para las dos especies de frutas.

A los 7 días de montaje se obtuvo un grosor para la concentración de 20% en guayaba dulce de 0,02 mm y para 40% de 0,04 mm, mientras que para la guayaba agria en 20% fue de 0,02 mm y para 40% fue de 0,07 mm.

A los 9 días de haber realizado el montaje el grosor para la concentración de 20% en guayaba dulce fue de 0,04 mm y para 40% fue de 0,06 mm. Para la guayaba agria al tomar los datos se obtuvo en la concentración de 20% 0,05 mm de grosor y para 40% 0,09 mm. Los datos se resumen en la tabla 3

Tabla 3: Concentraciones y resultados en los diferentes días

FRUTAS Y CONCENTRACIONES	**Día 3**	**Día 7**	**Día 9**
Guayaba dulce 20%	No hubo presencia de película	0,02 mm	0,04 mm
Guayaba agria 20%	No hubo presencia de película	0,02 mm	0,05 mm
Guayaba dulce 40%	No hubo presencia de película	0,04 mm	0,06 mm
Guayaba agria 40%	No hubo presencia de película	0,07 mm	0,09 mm

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Estos resultados nos indican que la presencia de otros compuestos diferente al azúcar encontrado en estas frutas ralentiza el proceso de producción de celulosa bacteriana.

5.3 Efectos del recubrimiento en la vida postcosecha de las frutas.

5.3.1 Formulación de los recubrimientos

Al inicio de la experimentación se elaboraron películas de celulosa a base de sacarosa y extractos de cada fruta, estos últimos medios se prepararon en dos concentraciones: 20% y 40% utilizándose el grosor mínimo en ambas para el posterior recubrimiento.

Las películas obtenidas con extractos de guayaba dulce y guayaba agria fueron flexibles para la realización del recubrimiento, sin embargo los costos y el tiempo de producción de una buena película de celulosa con el grosor exacto en estos medios fue mayor al expuesto por la sacarosa (tabla 7) por ello, después de una prueba donde se recubrió ambas especies frutales, con las tres fuentes de carbono se escogió a la sacarosa como la fuente principal para la obtención de películas de celulosa, ya que ésta es probablemente una de las fuentes de carbono más apropiadas y atractivas desde el punto de vista económico para la producción de celulosa, ésta en mayores concentraciones es hidrolizada más rápidamente obteniendo así mayor producción de celulosa en menor tiempo.

Tabla 4: Diferencias de grosor entre sacarosa y extractos a los 3 días de incubación

	Sacarosa	Guayaba dulce	Guayaba agria
Grosor a los 3 días	0,02 mm	No hubo producción	No hubo producción

5.3.2 Evaluación de los recubrimientos.

Para la realización de los recubrimientos se realizaron medios de 200 ml con sacarosa como fuente de carbono y a los 3 días de producción las películas fueron retiradas de sus bioreactores.

Para la realización de los recubrimientos se tuvo en cuenta diferentes características para cada una de las frutas:

- Firmeza
- Tamaño parecido
- Forma parecida
- Índice de madurez igual

Además el experimento se llevó a cabo en 3 temperaturas (refrigeración 6°C, ambiente 25°C e incubación 35°C), se realizaron tres experimentaciones y cada una de ellos se evaluó durante 14 días para observar todas las posibles diferencias.
Los resultados se evaluaron cada 2 días, tomando el día de inicio como día cero, hasta el día final (día 14) de cada experimentación teniéndose en cuenta datos como textura, color, maduración contaminación y transpiración, este último dato se tomó en las tres temperaturas antes mencionadas mediante gravimetría. Sin embargo luego de los 14 días de la primera experimentación se obtuvo resultados totalmente negativos para la mayor temperatura 35° (Incubación) por lo cual no fue evaluada en las siguientes experimentaciones, por lo tanto no estará dentro los resultados finales de este trabajo.

Para analizar los datos cualitativos obtenidos en las frutas con recubrimiento y sin recubrimiento (controles) en las dos temperaturas finales se escogieron subjetivamente las siguientes indicaciones:

- **Textura:** E: excelente
  M: malo
- **Color:** se mantiene su color (-), cambió su color (+)
- **Maduración:** presencia de madurez (+), ausencia de madurez (-)
- **Contaminación:** contaminado (+), no contaminado (-)

Los resultados se encuentran a continuación en las siguientes tablas.

EXPERIMENTACION 1

Tabla 5: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 25°C.

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba dulce	2	E	+	-	-
	4	E	+	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	+	-	-
	10	E	+	-	-
	12	E	+	-	-
	14	E	-	-	-
Control **Se desechó al día 12**	2	E	+	-	-
	4	M	-	+	+
	6	E	+	+	-
	8	E	+	+	-
	10	E	+	+	-
	12	E	+	+	+
	14				

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 6: Guayaba agria con recubrimiento vs guaba agria control. Temperatura ambiente 25°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	+	-	-
	8	E	+	-	-
	10	E	+	-	-
	12	E	+	-	-
	14	E	+	-	-
Control Se desechó al día 12	2	E	-	-	-
	4	E	-	+	+
	6	M	-	+	-
	8	M	+	+	-
	10	M	+	+	+
	12	M	+	+	+
	14				

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 7: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C

		Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba dulce	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	-	-
	4	E	-	+	-
	6	E	-	+	-
	8	E	-	+	-
	10	E	-	+	-
	12	E	-	+	-
	14	E	-	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 8: Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura refrigeración 6°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	-	-
	4	E	+	+	-
	6	E	+	+	-
	8	E	+	-	-
	10	E	+	-	-
	12	E	+	-	-
	14	E	+	-	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

EXPERIMENTACION 2

Tabla 9: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 25°C.

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Dulce	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	M	+	-	+
	8	M	+	-	+
	10	M	+	-	+
	12	M	+	-	+
	14	M	+	-	+
Control	2	E	-	+	-
	4	E	-	+	-
	6	M	+	+	+
	8	M	+	+	+
	10	M	+	+	+
	12	M	+	+	+
	14	M	+	+	+

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 10: Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura ambiente 25°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	M	+	-	+
	14	M	+	-	+
Control	2	E	-	+	-
	4	E	-	+	-
	6	E	-	+	-
	8	E	-	+	-
	10	E	-	+	-
	12	M	+	+	+
	14	M	+	+	+

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 11: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Dulce	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	+	-
	4	E	-	+	-
	6	E	-	+	-
	8	E	-	+	-
	10	E	-	+	-
	12	E	-	+	-
	14	E	-	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 12: Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura refrigeración 6°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	+	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	+	-	-
	8	E	+	-	-
	10	E	+	-	-
	12	E	+	+	-
	14	E	+	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

EXPERIMENTACION 3

Tabla 13: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura ambiente 6°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Dulce	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	+	-	-
	10	E	+	-	-
	12	E	+	-	-
	14	E	+	-	-
Control	2	E	-	+	-
	4	E	-	+	-
	6	E	-	+	-
	8	E	+	+	-
	10	E	+	+	-
	12	E	+	+	-
	14	E	+	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 14: Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura ambiente 25°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	+	-
	4	E	-	+	-
	6	E	-	+	-
	8	E	-	+	-
	10	E	-	+	-
	12	E	-	+	-
	14	E	-	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 15: Guayaba dulce con recubrimiento vs guayaba dulce control. Temperatura refrigeración 6°C

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Dulce	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	+	-
	10	E	-	+	-
	12	E	-	+	-
	14	E	-	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 16: Guayaba agria con recubrimiento vs guayaba agria control. Temperatura refrigeración 6°C.

	Días	Textura	Color	Maduración	Contaminación
Guayaba Agria	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	-	-	-
	14	E	-	-	-
Control	2	E	-	-	-
	4	E	-	-	-
	6	E	-	-	-
	8	E	-	-	-
	10	E	-	-	-
	12	E	+	+	-
	14	E	+	+	-

Fuente: ***Cerpa, 2017***

.

Al finalizar cada experimentación (14 días) se determinó que las frutas expuestas a temperatura ambiente expresan un retraso en todas las características evaluadas, especialmente en las frutas recubiertas, cosa contraria a las frutas controles donde hubo mayores cambio para ambas especies; sin embargo a pesar de la obtención de buenos resultados para esta temperatura (25°), en un almacenamiento a 6°C los resultados fueron

significativamente mejores, debido a que a la conservación de frutas a temperaturas bajas detiene el deterioro de estas.

5.4 Medición de los parámetros fisicoquímicos de las frutas.

5.4.1 Determinación de los grados Brix (°Bx)

A través de un refractómetro marca Brixco 0-10% se midió el porcentaje de los azucares totales contenidos en los extractos puros de cada fruta. Antes de la realización de los recubrimientos se evaluaron varias muestras (frutas) del mismo cultivar y después de realizado los recubrimientos en ambas temperaturas (a los 14 días), nuevamente se midió la acidez de las frutas cuyos datos se observan en las tablas 17, 18 y 19

Tabla 17: Determinación de los grados Brix (°Bx) (Experimento 1)

G1: muestra 1

G2: muestra 2

G3: muestra 3

SR: sin recubrimiento

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	9,5	Ambiente	G1	10,4
G2	9,2		G2	10
G3	9		G3 SR	18,6
G1	9,2	Refrigeración	G1	14,7
G2	9		G2	13,9
G3	9,3		G3 SR	17,8
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	7	Ambiente	G1	15,8
G2	7,3		G2	16
G3	6,5		G3 SR	17,6

G1	7,2	Refrigeración	G1	15
G2	7,5		G2	15,5
G3	6,7		G3 SR	18

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 18: **Determinación de los grados Brix (°Bx) (Experimento 2)**

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	8,9	Ambiente	G1	11,3
G2	8,7		G2	11,8
G3	9		G3 SR	18,2
G1	8,8	Refrigeración	G1	13
G2	9,2		G2	13,1
G3	9		G3 SR	18,5
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	7,2	Ambiente	G1	15,8
G2	7		G2	16
G3	6,8		G3 SR	19
G1	6,9	Refrigeración	G1	16,9
G2	7,3		G2	17
G3	7,4		G3 SR	18

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 19: Determinación de los grados Brix (°Bx) (Experimento 3)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	8,1	Ambiente	G1	9,9
G2	8,2		G2	9,8
G3	8,3		G3 SR	16,7
G1	8,2	Refrigeración	G1	13,5
G2	8,3		G2	14
G3	8,5		G3 SR	17,5
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	7	Ambiente	G1	15,8
G2	7,3		G2	15,6
G3	7,2		G3 SR	18,5
G1	7,5	Refrigeración	G1	15,4
G2	7		G2	15,6
G3	7,2		G3 SR	19.1

Fuente: ***Cerpa, 2017***

.

5.4.2 Determinación del pH.

Para determinar el pH de las frutas se utilizó un pHmetro ORION STAR A211 y se tomaron los datos antes a varias frutas y después de realizado el recubrimiento tanto a las frutas sin recubrimiento (SR) como a las frutas recubiertas en ambas temperaturas, obteniéndose los siguientes resultados:

Tabla 20: Determinación del pH (Experimento 1)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	4,02	Ambiente	G1	4,36
G2	4		G2	4,33
G3	4,2		G3 SR	3,8
G1	4,1	Refrigeración	G1	4,44
G2	4,2		G2	4,5
G3	4		G3 SR	3,9
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	2,97	Ambiente	G1	2,85
G2	3		G2	2,9
G3	2,9		G3 SR	2,5
G1	2,9	Refrigeración	G1	2,7
G2	2,8		G2	2,75
G3	2,95		G3 SR	2,4

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 21: Determinación del pH (Experimento 2)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	4,1	Ambiente	G1	4,1
G2	4,3		G2	4,2
G3	3,9		G3 SR	3,8
G1	4	Refrigeración	G1	4,3
G2	4,2		G2	4,4
G3	3,9		G3 SR	4,2
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	2,8	Ambiente	G1	2,6
G2	2,7		G2	2,6
G3	2,8		G3 SR	2,2
G1	2,6	Refrigeración	G1	2,5
G2	2,8		G2	2,4
G3	2,8		G3 SR	2,1

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 22: Determinación del pH (Experimento 3)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	4,2	Ambiente	G1	4,01
G2	4,1		G2	4
G3	4,3		G3 SR	3,7
G1	4,1	Refrigeración	G1	3,9
G2	4,3		G2	3,8
G3	4,1		G3 SR	3,5
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	2,95	Ambiente	G1	2,75
G2	2,97		G2	2,6
G3	2,93		G3 SR	1,98
G1	2,97	Refrigeración	G1	2,3
G2	2,9		G2	2,6
G3	2,9		G3 SR	2

Fuente: ***Cerpa, 2017***

5.4.3 Determinación de la acidez titulable.

Para determinar la acidez de las dos especies, se tomaron los datos antes y después de recubiertas las frutas, al igual que en los parámetros fisicoquímicos anteriores, en esta oportunidad se hizo la toma de datos mediante titulación con NaOH 0.1N y Fenoftaleina y se calculó la acidez mediante la siguiente formula.

% Acidez= A x B x C / D x 100

A: cantidad en ml de NaOH gastado

B: normalidad del NaOH (0,1 N)

C: peso equivalente en gr de ácido predominante de la fruta (ácido cítrico)

D: peso de la muestra en gr

Los resultados totales antes y después del recubrimiento se anotan en la tabla 23, 24 y 25

Tabla 23: Determinación de la acidez titulable (Experimentación 1)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	0,33	Ambiente	G1	0,28
G2	0,35		G2	0,26
G3	0,32		G3 SR	0,17
G1	0,33	Refrigeración	G1	0,35
G2	0,34		G2	0,3
G3	0,32		G3 SR	0,15
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	2,7	Ambiente	G1	0,41
G2	2,5		G2	0,45
G3	2,7		G3 SR	1,8
G1	2,7	Refrigeración	G1	1,5
G2	2,5		G2	1,45
G3	2,4		G3 SR	1,9

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 24: Determinación de la acidez titulable (Experimentación 2)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	0,32	Ambiente	G1	0,3
G2	0,35		G2	0,29
G3	0,33		G3 SR	0,15
G1	0,31	Refrigeración	G1	0,28
G2	0,32		G2	0,3
G3	0,35		G3 SR	0,19
Guayaba Agria				
ANTES		**DESPUES**		
G1	3,3	Ambiente	G1	0,39
G2	3,25		G2	0,42
G3	3,33		G3 SR	2,2
G1	2,9	Refrigeración	G1	1,39
G2	3,1		G2	1,35
G3	3,2		G3 SR	2,1

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Tabla 25: Determinación de la acidez titulable (Experimentación 3)

Guayaba dulce				
ANTES		**DESPUES**		
G1	0,37	Ambiente	G1	0,35
G2	0,33		G2	0,31
G3	0,35		G3 SR	0,2
G1	0,29	Refrigeración	G1	0,25
G2	0,3		G2	0,28
G3	0,35		G3 SR	0,19

Guayaba Agria				
ANTES		DESPUES		
G1	2,94	Ambiente	G1	0,46
G2	2,98		G2	0,44
G3	2,93		G3 SR	1,8
G1	2,9	Refrigeración	G1	1,8
G2	2,86		G2	1,7
G3	2,94		G3 SR	1,85

Fuente: ***Cerpa, 2017***

Los parámetros de calidad anteriores correspondientes a sólidos solubles (grados brix), pH y acidez titulable, presentaron una tendencia inherente a la maduración de los frutos, razón que justifica la disminución del contenido de la acidez y así mismo que la disminución del pH.

5.5 Análisis estadístico para cada parámetro fisicoquímico

Para determinar si el recubrimiento que se aplicó a cada de una de las frutas, afectó o no sus parámetros fisicoquímicos, se realizó una prueba T de student para media de datos pareados en las mismas, analizando los parámetros fisicoquímicos antes de la realización del recubrimiento y después, tanto para frutas recubiertas como para frutas control en ambas temperaturas (6°C y 25°C).

Frutas: Guayaba dulce (*Psidium guajava*)

Guayaba agria (*Psidium friedrichstahlianum*)

Estos análisis estadísticos fueron en base a los resultados anteriores obtenidos en las tres experimentaciones, los cuales dependieron del aumento o disminución de cada parámetro en estudio. Para indicar algunas características se resumió así:

Se mantienen iguales y se rechaza: (cambió) indica que si hubo un cambio en los parámetros fisicoquímicos de las frutas recubiertas y controles al finalizar los 14 días de experimentación.
(Aumento de maduración, disminución de pH y disminución de acidez)

Se mantienen iguales y se acepta: **(no cambió)** indica que los parámetros fueron estables, se mantuvieron, a diferencia de los anteriores.

5.5.1 Análisis estadístico para Grados Brix

Tabla 26: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: Los grados brix se mantienen
H_i: Los grados brix cambian

	GBRIX Antes de Recubrir	*GBRIX Despues de Recubrir*
Media	8,766666667	10,53333333
Varianza	0,302666667	0,686666667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medi	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-4,904045018	
P(T<=t) dos colas	0,004458772	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,0045 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba dulce recubierta, no se mantiene igual después de los 14 días de experimentación.

Tabla 27: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: Los grados Brix se mantienen
H_i: los grados Brix cambian

	GBRIX Sin Recubrir	*GBRIX Sin Recubrir*
Media	8,766666667	17,83333333
Varianza	0,163333333	1,003333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-25,70158416	
P(T<=t) dos colas	0,001510412	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,0015 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba dulce sin recubrir, no se mantienen después de los 14 días de experimentación.

Tabla 28: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: Los grados Brix se mantienen
H_i:Los grados Brix cambian

	GBRIX Antes de Recubrir	*GBRIX Despues de Recubrir*
Media	8,783333333	13,7
Varianza	0,193666667	0,404
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-16,54798313	
P(T<=t) dos colas	1,47141E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,000015 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba dulce recubierta, no se mantiene después del recubrimiento.

Tabla 29: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: Los grados Brix se mantienen
H_i: Los grados Brix cambian

	GBRIX Sin Recubrir	*GBRIX Sin Recubrir*
Media	8,933333333	17,93333333
Varianza	0,163333333	0,263333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las me	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-31,17691454	
P(T<=t) dos colas	0,001027222	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,001 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba dulce sin recubrir, no se mantiene igual después del experimento.

Tabla 30: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: Los grados Brix se mantienen
H_i: Los grados Brix cambian

	GBRIX Antes de Recubrir	*GBRIX Despues de Recubrir*
Media	7,133333333	15,83333333
Varianza	0,022666667	0,022666667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las me	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-90,05355549	
P(T<=t) dos colas	3,20056E-09	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,0 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba agria con recubrimiento, no se mantienen iguales después del recubrimiento.

Tabla 31: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: Los grados Brix se mantienen
H_i: Los grados Brix cambian

	GBRIX Sin Recubrir	*GBRIX Sin Recubrir*
Media	6,833333333	18,36666667
Varianza	0,123333333	0,503333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las me	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-34,09239302	
P(T<=t) dos colas	0,000859261	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,00086 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba agria sin recubrimiento, no se mantienen iguales después de la experimentación.

Tabla 32: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: Los grados Brix se mantienen iguales
H_i: Los grados Brix cambian

	GBRIX Antes de Recubrir	*GBRIX Despues de Recubrir*
Media	7,233333333	15,9
Varianza	0,062666667	0,704
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las me	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-22,05291217	
P(T<=t) dos colas	3,56003E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,0 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix no se mantienen", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba agria, no se conservan después del recubrimiento.

Tabla 33: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: Los grados Brix se mantienen iguales
H_i: Los grados Brix cambian

	GBRIX Sin Recubrir	*GBRIX Sin Recubrir*
Media	7,1	18,36666667
Varianza	0,13	0,403333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de la	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-29,99265002	
P(T<=t) dos colas	0,001109806	
Valor crítico de t (dos colas	4,30265273	

Como P-Valor = 0,0011 $\leq$ 0,05. La hipótesis "H_O: Los grados Brix se mantienen*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, los grados Brix en la guayaba agria, no se mantienen iguales después de realizada la experimentación.

5.5.2 Análisis estadístico para pH

Tabla 34: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Antes de Recubrir	PH despues de Recubrir
Media	4,12	4,166666667
Varianza	0,0128	0,024386667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-0,494172368	
P(T<=t) dos colas	0,642127197	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,64 $>$ 0,05. La hipótesis "H_O: el pH se mantiene", se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba dulce recubierta a esta temperatura, se mantiene estable después del recubrimiento.

Tabla 35: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Sin Recubrir	*PH Sin Recubrir*
Media	4,133333333	3,766666667
Varianza	0,043333333	0,003333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	2,523573073	
P(T<=t) dos colas	0,127643256	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,13 > 0,05. La hipótesis "H_O: El pH se mantiene*",* se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba dulce sin recubrir, se mantiene estable.

Tabla 36: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Antes de Recubrir	*PH Despues de Recubrir*
Media	4,15	4,216666667
Varianza	0,011	0,085666667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	-0,482242822	
P(T<=t) dos colas	0,650003333	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,65 > 0,05. La hipótesis "H_O: El pH se mantiene*",* se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba dulce, se mantiene después del recubrimiento.

Tabla 37: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Sin Recubrir	*PH Sin Recubrir*
Media	4	3,866666667
Varianza	0,01	0,123333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las mec	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	0,51214752	
P(T<=t) dos colas	0,659497388	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,66 $>$ 0,05. La hipótesis "H_O: El pH se mantiene*",* se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba dulce sin recubrimiento, se mantiene después de los 14 días de experimentación.

Tabla 38: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Antes de Recubrir	*PH Despues de Recubrir*
Media	2,898333333	2,716666667
Varianza	0,014456667	0,018666667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medi	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	4,310624391	
P(T<=t) dos colas	0,00763811	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,0076 $\leq$ 0,05. La hipótesis "*H_O:* El pH se mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba agria, cambia después del recubrimiento.

Tabla 39: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Sin Recubrir	*PH Sin Recubrir*
Media	2,876666667	2,226666667
Varianza	0,004633333	0,068133333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	4,044111609	
P(T<=t) dos colas	0,056052487	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,06 > 0,05. La hipótesis "H_O*:* El pH se mantiene*",* se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba agria, se mantiene después del realizado el experimento.

Tabla 40: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Antes de Recubrir	*PH Despues de Recubrir*
Media	2,828333333	2,541666667
Varianza	0,016816667	0,030416667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	3,089211195	
P(T<=t) dos colas	0,02718377	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,03 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: El pH se mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba agria, no se mantiene, cambia después del recubrimiento.

Tabla 41: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: El pH se mantiene
H_i: El pH cambia

	PH Sin Recubrir	*PH Sin Recubrir*
Media	2,883333333	2,166666667
Varianza	0,005833333	0,043333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las medi	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	7,069156454	
P(T<=t) dos colas	0,019429523	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,02 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: El pH se mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, el pH en la guayaba agria sin recubrir (control), no mantiene su mismo pH después de terminado el experimento.

5.5.3 Análisis estadístico para acidez

Tabla 42: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Antes de Recubrir	*ACIDEZ Despues de Recubrir*
Media	0,341666667	0,298333333
Varianza	0,000336667	0,000936667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	3,691751923	
P(T<=t) dos colas	0,014119891	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,014 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O*:* La acidez se mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba dulce con recubrimiento, no se mantiene después del experimento.

Tabla 43: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Sin Recubrir	*ACIDEZ Sin Recubrir*
Media	0,333333333	0,173333333
Varianza	0,000233333	0,000633333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	16	
P(T<=t) dos colas	0,00388351	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,004 $\leq$ 0,05. La hipótesis "H_O: La acidez se mantiene", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba dulce sin recubrimiento, cambia.

Tabla 44: Guayaba dulce con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Antes de Recubrir	*ACIDEZ Despues de Recubrir*
Media	0,315	0,293333333
Varianza	0,00035	0,001106667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las m	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	2,381415743	
P(T<=t) dos colas	0,063054283	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,063 $>$ 0,05. La hipótesis "H_O: La acidez se mantiene" se acepta, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba dulce, se mantiene después del recubrimiento.

Tabla 45: Guayaba dulce sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Sin Recubrir	*ACIDEZ Sin Recubrir*
Media	0,34	0,176666667
Varianza	0,0003	0,000533333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las r	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	49	
P(T<=t) dos colas	0,000416233	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,00042 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: La acidez se mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba dulce, no se mantiene después del experimento.

Tabla 46: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Antes de Recubrir	*ACIDEZ Despues de Recubrir*
Media	2,945	0,428333333
Varianza	0,09567	0,000696667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	19,04356749	
P(T<=t) dos colas	7,35896E-06	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,0 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: La acidez se mantiene", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba agria, no se mantiene después del recubrimiento.

Tabla 47: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura ambiente:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Sin Recubrir	*ACIDEZ Sin Recubrir*
Media	2,976666667	1,933333333
Varianza	0,103633333	0,053333333
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las m	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	14,45299712	
P(T<=t) dos colas	0,004753124	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,005 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: la acidez se mantiene", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba agria, no se mantiene después de realizada la experimentación.

Tabla 48: Guayaba agria con recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Antes de Recubrir	*ACIDEZ Despues de Recubrir*
Media	2,826666667	1,531666667
Varianza	0,041866667	0,032216667
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	11,52839293	
P(T<=t) dos colas	8,61134E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2,570581836	

Como P-Valor = 0,000086 ≤ 0,05. La hipótesis "H_O: la acidez *se* mantiene*",* se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba agria, no se mantiene después del recubrimiento.

Tabla 49: Guayaba agria sin recubrimiento a temperatura refrigeración:

H_O: La acidez se mantiene
H_i: La acidez cambia

	ACIDEZ Sin Recubrir	*ACIDEZ Sin Recubrir*
Media	2,846666667	1,95
Varianza	0,166533333	0,0175
Observaciones	3	3
Diferencia hipotética de las r	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	4,520529593	
P(T<=t) dos colas	0,045613117	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Como P-Valor = 0,045 $\leq$ 0,05. La hipótesis "H_O: La acidez se mantiene", se rechaza, lo que indica que, con una confianza del 95%, la acidez en la guayaba agria sin recubrimiento, cambia.

4. DISCUSIONES

En este estudio para la conservación de las frutas guayaba dulce (*Psidium guajava*) y guayaba agria (*Psidium friedrichstalianum*) se obtuvieron películas de celulosa bacteriana mediante una fuente de carbono a base de sacarosa, un importante medio de bajo costo comercial, éstas películas se utilizaron como recubrimiento para evaluar que tanto era su efectividad en la vida postcosecha de cada una de estas frutas, para la evaluación se realizaron tres experimentaciones, cada una en dos temperaturas (6°C y 25°) y bajo una evaluación de 14 días, para observar las posibles diferencias cualitativas entre frutas control (sin recubrimiento) y frutas recubiertas, así mismo se analizaron parámetros fisicoquímicos antes y después de la realización de cada recubrimiento, esto con el fin de determinar si hubo un buen efecto en la vida postcosecha de cada fruta.

De los resultados obtenidos se pudo analizar que la calidad de estas frutas se considera principalmente de acuerdo a su textura, color y sabor. Para la realización de cada experimentación inicialmente fueron evaluadas cada especie teniendo en cuenta que son frutas altamente perecederas, tienen una vida útil corta y se ven afectadas por hongos, daños mecánicos y deterioro fisiológico durante su almacenamiento, para esto se determinó que cada especie tuviera el grado de madurez apropiado para luego ser recubiertas, ya que esto es de gran importancia ya que repercute en la vida postcosecha de las mismas.

Este tipo de frutas recibe el nombre de productos perecederos porque tienen una tendencia a deteriorarse por razones fisiológicas y por la invasión de agentes contaminantes.

Existen diversos cambios en las frutas durante su periodo cosecha y postcosecha y en algunas frutas será mayor que en otras. La pérdida de textura es uno de los cambios más notables que ocurre en frutas y vegetales durante su almacenamiento, y está relacionado con los cambios metabólicos y con la perdida de humedad (Aguilar, et, al. 2012, p. 1-7)

Las tablas anteriores (5-16) muestran que las frutas sin recubrimiento (control) presentaron menores valores de textura al finalizar cada experimentación (día 14), sin embargo la textura de las frutas con recubrimiento se mantuvo en mejores condiciones a lo largo del periodo de almacenamiento en ambas temperaturas, esto pudo ser debido a que las películas flexibles en la conservación de frutos, modifica la composición de gases que los

rodean, elevando la concentración de CO_2 y disminuyendo el O_2 disponible para la respiración del fruto esto permitió disminuir la velocidad metabólica y así crear condiciones adecuadas para el almacenamiento prolongado del producto y que no afectara esta característica (Velásquez, et, al, 2009, p. 54-59).

El color fue otra de las características cualitativas evaluadas en este estudio. Kader, 2002; encontró que el color es un buen índice de cosecha y postcosecha y que el punto de este se basa en evaluaciones subjetivas de tamaño del fruto, color de la epidermis y firmeza. (Kader, 2002). En los resultados obtenidos de cada experimento se pudo notar que la pérdida de color y la maduración fueron los cambios más notables que ocurrieron en estas frutas durante su almacenamiento, el cambio de color se presenta por degradación de la clorofila (debido a procesos oxidativos) y por la síntesis de otros pigmentos como antocianinas y carotenoides abundantes en la guayaba, por otro lado la maduración está acompañada por un aumento en la intensidad respiratoria y en la producción de etileno, alcanzando su máximo valor cuando el fruto está completamente maduro, (Parra,2014). sin embargo se pudo notar que las experimentaciones realizadas a una temperatura de 6°C (refrigeración) correspondieron a las mejores pruebas, hubo menor presencia de maduración en comparación a las evaluadas a una temperatura mayor (25°) esto debido a que en condiciones de menor temperatura los frutos son mayormente conservados.

El control de temperatura durante el periodo entre la cosecha y el consumo, es el factor más importante para mantener la calidad de los productos. Cuando se separan de la planta madre, las frutas, son aún tejidos vivos que respiran. La conservación del producto a la temperatura más baja posible aumentará la vida útil del mismo, ya que las temperaturas bajas disminuyen la tasa de respiración y la sensibilidad al etileno, reduciendo además la pérdida de agua. (Aguilar, et, al., 2012, p. 1-7)

A pesar de la baja temperatura de almacenamiento, la madurez de la fruta sigue su proceso aunque de manera más lenta, pero continúa, esto es fundamental en la vida postcosecha de cualquier fruta y en la guayaba dulce y guayaba agria no es la excepción, además, que por ser frutas climatéricas continúan madurando, es por ello su corto periodo de vida. Cuando se habla de madurez siempre se asocia con grados Brix (solidos solubles

totales) los cuales representan el % de sacarosa que hay en el jugo del fruto y es un parámetro indicativo de la madurez de los frutos ya que los valores usualmente se incrementan en el periodo de maduración. Varios autores indican que los grados Brix aumentan con el avance del periodo postcosecha, presentando valores que oscilan entre 5,0 y 13,2 °Brix. (Parra, 2014).

Gracias a los resultados obtenidos se pudo determinar que al aumentar los grados Brix en cada especie, especialmente en las frutas sin recubrimiento (control), el grado de madurez también aumentó, pero aun en mayor cantidad en las frutas sin recubrimiento (controles) como se observa en la tabla 17, esto permite concluir que en condiciones controladas de baja temperatura y con la ayuda de la película como recubrimiento el índice de madurez se mantiene positivamente en cada especie recubierta.

Así como el % de azúcar indica un incremento en la maduración de la fruta también se puede indicar que este produce una disminución de ácidos durante el proceso de maduración en postcosecha, en este estudio la acidez titulable se expresó como porcentaje de ácido cítrico.

En cuanto a los resultados obtenidos se revela que para ambas temperaturas y en ambas especies hubo una disminución de ácidos orgánicos, principalmente en las frutas sin recubrir, siendo el menor valor de 0,15. Autores asocian este comportamiento con la disminución del consumo de ácidos durante el proceso de respiración y esto puede ser consecuencias a la protección lograda por la aplicación del recubrimiento (Aguilar, et, al, 2012, p. 1-7).

Los ácidos orgánicos desempeñan un papel crítico en aroma y sabor característico de los frutos, en el valor nutricional de los alimentos y en el metabolismo postcosecha; algunos son componentes esenciales en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos de la respiración y son una fuente de energía disponible que puede ser utilizada cuando otras fuentes se agotan.

Para las diferentes variedades de guayaba, algunos autores indican que la acidez titulable aumenta hasta el climaterio y luego disminuye, mientras que otros reportan que la acidez disminuye durante la postcosecha y que tiende a disminuir en todos los casos después de 7 días de almacenamiento (Castella. G., Quijada, O., Ramirez, R. & Sayago, E., 2004, p. 78-82) como fue demostrado en este estudio a los 14 días de experimentación.

Otro parámetro importante que fue evaluado fue el pH, este es importante desde el punto de vista sensorial de las frutas, cuando el pH aumenta la percepción de dulzor también lo hace.

En guayaba, los valores de pH varían entre 2,89 y 6,20 dependiendo de la variedad (Castella. G., Quijada, O., Ramirez, R. & Sayago, E., 2004, p. 78-82) según los resultados obtenidos se encontró resultados parecidos a los que expone este autor (Tabla 20,21, 22).

Para ambas especies y en ambas temperaturas el pH disminuyó significativamente en su totalidad después de los 14 días de cada experimentación, indicando mayor acidez, esta acidez permitió conservar las frutas en cuanto a deterioro por agentes microbianos. (Chavarria, 2013).

Durante cada experimentación se evaluó si las frutas sufrían daños por contaminantes externos de tipo microbiano, y se encontró que ninguna fruta, en ninguna de las dos temperaturas presentó contaminación, esto pudo estar influenciado por las condiciones de asepsia, por las características de la película, por las temperaturas y por los valores de pH de cada fruta que en su caso fueron menores a los evaluados al inicio de cada experimentación. Se considera que la sanitización y la manipulación adecuada de las frutas y de los recubrimientos pudieron ayudar a reducir el riesgo potencial de contaminaciones.

Se considera así mismo que la mayoría de los microorganismos patógenos crecen a un pH más bien neutro, entre 5 y 8. En alimentos ácidos y, por tanto, con un pH bajo, la acción conservadora es mayor[109], por otro lado un indicativo importante fue la concentración de ácido cítrico que contenían las películas de celulosa, se ha demostrado que el ácido cítrico funciona como un agente frente al ataque de microorganismos. (Quintero, J., Falguera, V., Muñoz, A., 2010, p. 93-118).

En el proceso se utilizó como fuente de carbono sacarosa totalmente comercial y un extracto de guayabas muy maduras, las cuales se consideran en los mercados locales como desechos, al que se le agregó una fuente de nitrógeno también de bajo costo. Esta es una gran ventaja ya que el extracto no requiere tratamientos severos, sofisticados ni costosos, y permite obtener un producto de gran valor agregado a partir de desechos y materias primas

renovables, mediante un proceso amigable con el medio ambiente, mejorando a la vez la gestión de residuos. Lo cual resulta bastante interesante porque aparte de permitir la conservación de las frutas se presenta como una alternativa a proponer como un recubrimiento con propiedades funcionales ya que a pesar de que está formada por glucosas, los seres humanos no pueden utilizar la celulosa como fuente de energía, ya que no cuentan con la enzima necesaria para romper los enlaces β-1,4-glucosídicos, es decir, no es digerible; sin embargo, es importante incluirla en la dieta humana (fibra dietética) porque al mezclarse con las heces, facilita la digestión y defecación, así como previene los malos gases. (Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio, 2005)

CONCLUSIONES

- Toda fruta durante su proceso de vida se verá afectado por condiciones ambientales, aun cuando estén recubiertos, ya que su naturaleza le exige respirar, por ello el tiempo y la temperatura de almacenamiento siempre serán importantes para prolongar la vida útil de la guayaba en términos de firmeza, maduración, pH y otros cambios fisicoquímicos.

- Los tratamientos realizados presentaron diferencias frente a las muestras testigo en las dos temperaturas donde fue más evidente la maduración y la disminución del pH y la acidez, observando que el recubrimiento fue eficiente al aumentar los días de vida útil en las frutas con recubrimiento. Los cambios presentados en la textura y la coloración muestran el efecto favorable del recubrimiento al presentarse menor pérdida en estos frutos debido a las propiedades de barrera y el retraso en la tasa de respiración, evidenciando un menor grado de deterioro de las muestras. Por lo cual se concluye que las películas de celulosa como recubrimiento permitieron disminuir las perdidas postcosecha, por lo cual se recomienda como un buen método para la conservación de frutas.
- Es de destacar que, si bien se ha propuesto el desarrollo de una película con características específicas en torno a la conservación postcosecha, el presente trabajo constituye un aporte a la comprensión de la naturaleza y funcionalidad de las películas comestibles y su caracterización en cuanto a sus propiedades físico-químicas y funcionales, ante variaciones en la composición y/o en el proceso de elaboración y temperaturas de conservación. Ello permite enriquecer la base de información existente y contribuye a mejorar el proceso de selección de formulaciones y procesos adecuados de acuerdo a los requerimientos de la aplicación final.
- Los resultados obtenidos aportan información esencial sobre las propiedades de los recubrimientos comestibles adecuadas para aumentar la vida útil de las frutas (guayaba dulce y agria) y mejorar su calidad, contribuyendo a optimizar su

obtención y comportamiento y satisfacer la demanda de los consumidores por productos cada vez más naturales, seguros y benignos con el medio ambiente.

BIBLIOGRAFIA

Achipiz, S., Castillo, A., Mosquera, S., Hoyos, José. & Navia, D. (2013). Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*Psidium guajava*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria.* Edición Especial (2), 92 – 10.

Andrade J., Acosta, D., Bucheli, M. & Luna, G. (2013). Elaboración y evaluación de un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol *Cyphomandra betacea* cav. Send. *Revista de ciencias agrícolas 30*(2): 60 – 72.

Aguilar, M. (2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. (Tesis de maestría). Instituto politécnico nacional, México D.F., México.

Aguilar, M. & San Martin, E. (2012). Caracterización y aplicación de películas a base de gelatina-carboximetilcelulosa para la preservación de frutos de guayaba. *Superficies y Vacío 25*(1) 1-7.

Ariffin. H., Hassan, M., Shah, M., Abdullah, N., Ghazali F. & Shirai Y. (2008). Production of bacterial endoglucanase from pretreated oil palm empty fruit bunch by *Bacillus pumilus* EB3. *Journal of bioscence and bioengineering,* 106 (3), 231-236.

Ávila-Sosa, R. y López-Malo, A. (2008). Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. En: Temas selectos de ingeniería de alimentos 2 (2), 4-13.

Baldwin, E. A. (1999). Surface treatment and edible coatings in food preservation. *Handbook of food preservation.* 577-609.

Barco, P., Burbano, A., Mosquera, S., Villada, H. & Navia, D. (2011). Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. *Revista la sallista de investigación, 8*(2), 96-103.

Barrera, c., Carlosama, p. & Flores, p. (2009). Aislamiento, selección y preservación de microorganismos celulíticos a partir de residuos vegetales en compost generados en un cultivo crisantemo. Proyecto de microbiología industrial. Facultad de ciencias químicas. Universidad central del ecuador. 2-4p.

Bertuzzi, M., Armada, M. Gottifredi, J., Aparicio, A. & Jiménez, P. (2002) Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología NOA 2002, Buenos aires, Argentina.

Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M. & Kalinowska H. (2011). Bacterial cellulose**.** *Biopolymers online, 4***(**10), 90-924

Brown, A. J. (1886). On acetic ferment which forms cellulose. *Journal of the chemical society. 49*, 432-439.

Casas, N. (2011). Evaluación del efecto de la aplicación de calcio en la estabilidad de Melón *(Curcumis melo L.)* fresco precortado. (Tesis de Maestría). Universidad de la Sabana, Chía, Colombia.

Castillo, G. (2012, 5 de junio). Productores de Guayaba se la juegan por mayor industrialización de la fruta. *La república.* Recuperado de: https://www.larepublica.co/archivo/productores-de-guayaba-se-la-juegan-por-mayor-industrializacion-de-la-fruta-2012140

Castella. G., Quijada, O., Ramirez, R. & Sayago, E. (2004) comportamiento postcosecha de frutas de guayaba (P*sidium guajava l*.) tratados con cloruro de calcio y agua caliente a dos temperaturas de almacenamiento. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha, 6*(2), 78-82.

Castillo, S., Navarro, D., Zapata, P., Guillén, F., Valero, D., Serrano, M., & Martínez, D. (2010). Antifungal efficacy of Aloe vera in vitro and its used as preharvest treatment to maintain postharvest table grape quality. *Postharvest Biology and Technology 57*, 183-18.

Catalá, R, Almenar, E. & y Gavara, R. (2007) Innovaciones y tendencias en el envasado de frutas y hortalizas. V Congreso iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones. 1540-1548**.**

Carreño, L., Caicedo, L. & Martínez, C. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y ciencia, 8*(16), 307-335.

Carrillo, N., Muñoz, D., Aguirre, P., Amar, Y., Vidal, S. & Egaña, R. (2014). Encapsulación de biomoleculas usando polímeros naturales: ¨un nuevo enfoque

en la entrega de fármacos en medicina¨. *Avances en ciencias veterinarias,* 28(2) 31-40.

Cruz, R., Martínez, Y. & López, M. Biopolímeros y su integración con polímeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos, 7*(2), 42-52.

Chavarria, M. (2013). El pH de los alimentos y la seguridad alimentaria España. Eroski Consumer. Recuperado de: http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2013/09/19/218017.php

Chavez, J., Martinez, S., Contreras, M. & Escamilla, M. (2004). Celulosa bacteriana en *Gluconacetobacter xylinus:* Biosintesis y aplicaciones. *Revista especilizada en ciencias Quimico- Biologicas*, *7*(1), 18-25.

Chawla, P., Bajaj, I., Survase, S. & Singhal, R. (2009). Microbial cellulose: Fermentative production and aplication. (2009). *Food technology and biotechnology,* 47(2), 107-124.

Cuadrado, C. (2016). Estudio químico de las propiedades sensoriales y biofuncionales de la guayaba agria (*Psidium friedrichsthalianum* Nied.). (Tesis doctoral). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Dussan, S., Torres, Cristian. & Hleap, Jose. (2014).Efecto de un Recubrimiento Comestible y de Diferentes Empaques durante el Almacenamiento Refrigerado de Mango *Tommy Atkins* Mínimamente Procesado. *Información tecnológica 25* (4), 123-130.

Falguera, V., Quintero, P., Jiménez, A., Ibarz, A. & Muñoz, J. (2011). Edible films and coatings: structures, active function and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology 22*, (6), 292-303.

Fernández, D., Bautista, B., Fernández, D., Ocampo, R., García, A. & Falcón, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuaria. 24* (3), 52-57.

González, R., Cervantes, C. & Caraballo, L. (2016). Conservación de la guayaba (*Psidium guajava* L.) en postcosecha mediante un recubrimiento comestible binario**.** *Temas agrarios*, 21(1), 54 – 64.

Gómez; J. (2013). Producción y caracterización de polihidroxialcanoatos, sintetizados por microorganismos nativos a partir de residuos grasos. (Tesis de posgrado). Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia.

Gomes, F. (2011). Biossinteese de celulose bacteriana a partir de residuos industriais. (Tese de Mestre). Universidade de Aveiro. Aveiro, Portugal.

Gutierrez, A. (2013). Evaluación de la calidad de frutos de Guayaba *Psidium guajava* del banco de germoplasma de corpoica Palmira. (Tesis de maestria). Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.

Hestrin, S. & Schramm, M. (1954). Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum.* II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, *58* (2), 345-352.

Jonas, R. & Farah, L. (1998). Production and applications of microbial cellulose. Polymer degradation and stability**.** *Science direct*, 59, 101-106.

Jaramillo, R., Tobio, W. & Escamilla, M. (2012). Efecto de la sacarosa en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en cultivo estático. *Rev. MVZ Córdoba 17*(2), 3004-3013.

Kader, A. (2002). Postharvest biology and technology: An overview. Oakland, EE.UU. *Postharvest technology of horticultural crops*.

Keshk, S., Razek, T. & Sameshima, T. (2006). Bacterial cellulose production from beet molasses. *African Journal of Biotecgnology, 5*(17), 1517 – 1523.

Krochta, J., Baldwin, E., Nisperos, M. (1994). Edible coatings and films to improve food quality. Florida, Unite states of America: CRC Press.

Kurosumi, A., Sasaki, C., Yamashita, Y. & Nakamura, Y. (2009). Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum.* NBRC 13693. *Carbohydrate Polymers*, *76*(2), 333 -335.

Lasprilla, D. (2011). Estado actual de fruticultura Colombiana y perspectivas para su desarrollo. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, Vol. Especial 199-205.

Lynd L., Van zyl, W., McbBride J., Laser M. (2005). Consolidated bioprocessing of cellulosic biomass: an update. Current opinion in biotechnology. *Science direct, 16*, 577-583.

Ministerio de agricultura y desarrollo rural (MADR) Colombia. (208) Manual del exportador de frutas, hortalizas y tubérculos en Colombia: Guayaba, Recuperado de: http://interletras.com/manualCCI/Frutas/Guayaba/guayaba01. htm

Miramont, S. (2012). Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. (Tesis de maestría). Universidad tecnológica nacional, Buenos aires, Argentina.

Morales, N. & Rodríguez A. (2015). Recubrimientos para frutas. *Revista Alimentos hoy, 23*(35), 20-32.

Moncayo, D. (2013). Desarrollo de un recubrimiento comestible a partir de un biopolímero para prolongar la vida útil de frutas frescas. *(*Tesis de Maestría). Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.

Moncayo, D., Buitrago, G. & Algecira, N. (2016). Películas comestibles a base de un biopolímero tipo dextrana. *Agronomía Colombiana*, *34*(1), 107-109.

Oikawa, T., Ohtori, T. & Ameyama, M. (1995). Production of cellulose from D. mannitol by Acetobacter xylinum KU - 1. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *59* (2), 331 – 332.

Parra, A. (2014). Maduración y comportamiento postcosecha de la guayaba (*Psidium guajava* L.). Una revisión*. Revista Colombiana de ciencias hortícolas, 8*(2), 314-32.

Pérez, E. (2013). Biodegradación de tripas de celulosa del empaque de salchicha con el hongo comestible pleurotuscolumbinus. (Tesis de pregrado). Universidad de Guadalajara, Zapopan, México.

Quintero, J., Falguera, V., Muñoz, A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Revista Tumbaga, 5, 93-118.

Ramos, M., Bautista, S., Barrera, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28 (1), 44 – 57.

Romero, A. (2003). Tecnología de frutas y verduras. Universidad Nacional de Colombia. Bogota, Colombia.

Ross, P., Mayer, M. & Benziman M. (1991). Cellulose biosynthesis and funtion in bacteria. *Microbio Rev., 55* (1), 35-58.

Ruelas, X., Reyes, M., Valdivia, B., Contreras, J., Montañez, J., Aguilera, A. & Peralta, R. (2013). Conservación de Frutas y Hortalizas Frescas y Mínimamente Procesadas con Recubrimientos Comestibles. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 5*(9), 31-37.

Sánchez, L., Pastor, C., Vargas, M.; Chiralt, A. & González, C. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without berg amot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes.
Biology and Technology, 60(1): 57-63.

Santana, T. & Madera, J. (2013). Materiales basados en Agar: propiedades y aplicaciones.*Ciencia de materiales,20.*

Saxena, I., & Brown, R. (2007). A perspective on the assmebly of cellulose-sinthesizing complexes: posible role of KORRIGAN and microtubules in cellulose synthesis in plants. *cellulose: molecular and structural biology*, 169-181.

Serrano, M., Valverde, J., Guillén, F., Castillo, S., Martínez, D. & Valero, D. (2006). Use of Aloe vera gel coating preserves the functional properties of table grapes. *J. Agric. Food Chem. 54*, 3882-3886.

Tharanathan, R. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Critical Review in Food Science and Technology 14*(3), 71-78.

Ulloa, J. (2012). Desarrollo de biopolímero a partir de almidón de corteza de yuca (*Manihot esculenta).* (Tesis de maestría). Universidad técnica particular de Loja. Loja, Ecuador.

Valenzuela, F. (201). Bacterias del Rio Calle-Calle (Sector pishuinco), implicadas en la degradación de celulosa. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Santiago de Chile, Chile.

Vallejos, N. (2013). Degradación de residuos vegetales mediante inoculación con cepas microbianas. *Enfoque ute, 4*(1), 1-13.

Vásquez, M., Guerrero, J. Recubrimientos de frutas con biopelículas (2013). *Temas selectos de ingeniería de alimentos. 7*(2), 5-14.

Velázquez, G., Polo, G., Martínez, R. & Cárdenas, M. (2009). Efecto de la temperatura, humedad relativa y tipo de recubrimiento sobre la respiración de la guayaba. *Ciencia y tecnología alimentaria. 2*(2), 54-59.

Villada, H., Acosta, H., Velasco, R. (2006). Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas agrarios. 12*(2), 5 – 13.

Wiley, J. (2006). *Introduction to physical polymer.*Canada. Sperling L. H.

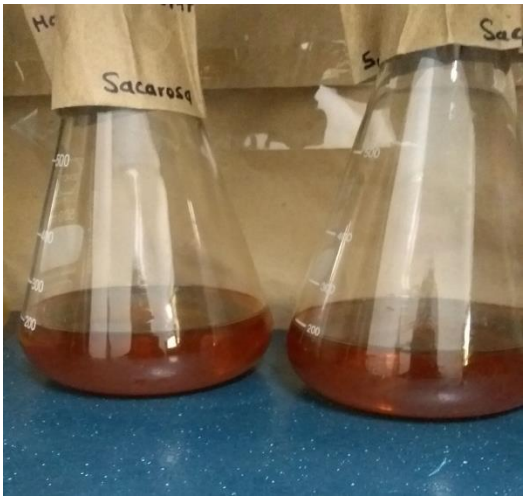
Yam, J., VillaseñoR, C., Romantchik, E., Soto, E. & Peña, M. (2010). Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 19* (4), 74-82.

Zapata, K., Cortes, F. & Rojano, B. (2013). Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Información tecnológica. 24*(5), 103-112.

Zwietering, M. (2002). Quantification of microbial quality and safety in minimally processed foods. *International Dairy Journal 12*, 263-271.

ANEXOS

ANEXO A: Mantenimiento de la cepa *Gluconacetobacter xylinus*



Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO B: Medios de Sacarosa (200 mL)

Fuente: ***Cerpa, 2017***

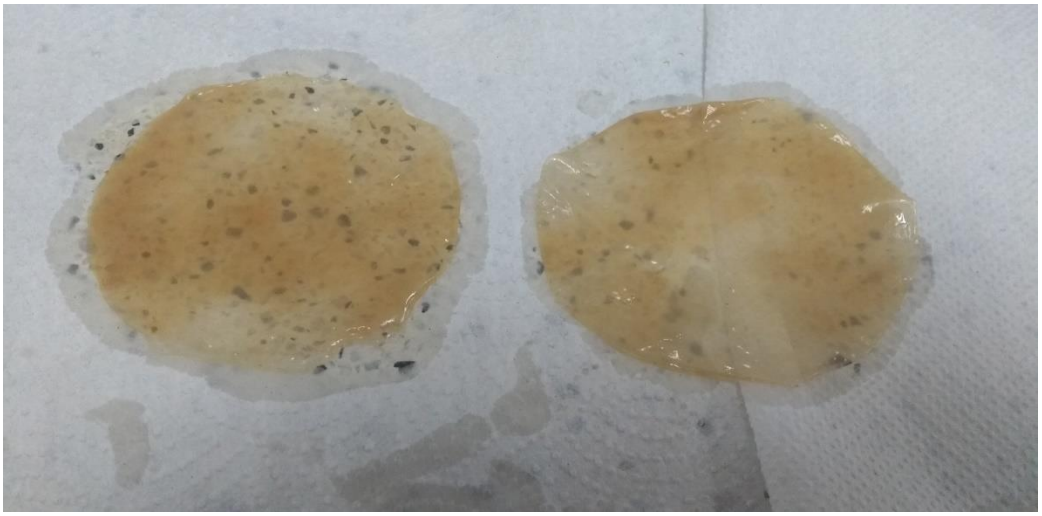
ANEXO C: Medios de 200 mL (extractos de guayaba dulce y guayaba agria).

Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO D: Películas de 3 días de grosor (sacarosa).

Fuente Cerpa, 2017.

ANEXO E: Películas de 7 días de grosor (extracto de frutas).

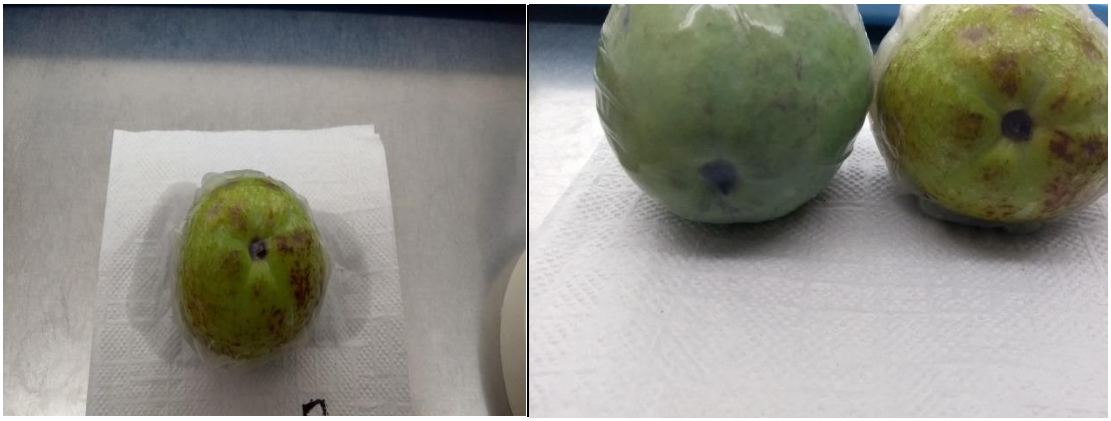


Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO F: Desinfección de frutas.

Fuente: ***Cerpa, 2017.***

ANEXO G: Recubrimiento de frutas.

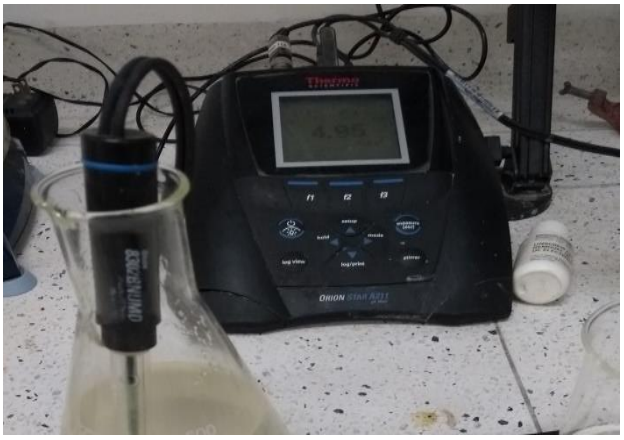


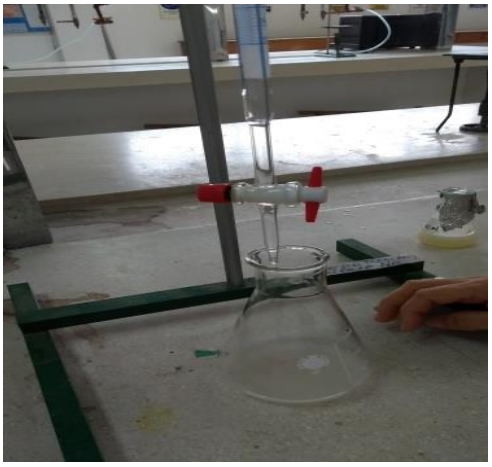
Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO H: Frutas recubiertas después de 14 días.

Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO I: Medición de parámetros fisicoquímicos de las frutas (herramientas).





Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO J: Grosor de las películas de guayaba dulce al 40%.

Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO K: Grosor de las películas de guayaba dulce al 20%.

Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO L: Grosor de las películas de guayaba agria al 20% y 40%.

Fuente: ***Cerpa, 2017***

ANEXO M: Preparación de extractos.

Fuente: ***Cerpa, 2017.***