



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Desarrollo de un biorecubrimiento a partir de cera de abeja para mejorar la vida útil de
las fresas

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Luis Fernando Zhu Ordoñez

Tutora: MSc. María Daniela Garcés Moncayo

Ambato- Ecuador

Febrero-2024

APROBACIÓN POR EL TUTOR

Msc. María Daniela Garcés Moncayo

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 12 de Enero del 2024

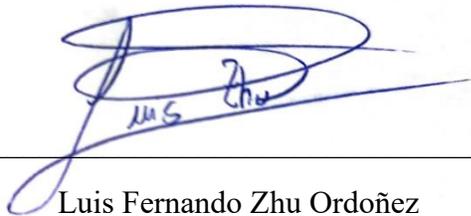
Msc. María Daniela Garcés Moncayo

1803571585

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Luis Fernando Zhu Ordoñez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las referencias bibliográficas.



Luis Fernando Zhu Ordoñez

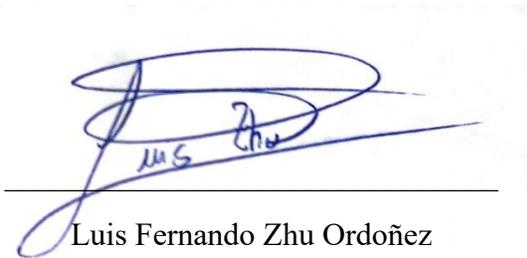
0706164233

AUTOR

DERECHOS DEL AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que considere el presente Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Luis Fernando Zhu Ordoñez

0706164233

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos docentes calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

Presidente del Tribunal

Mg. Cristian Fernando Galarza Galarza

1803160272

Mg. Juan de Dios Espinoza Moya

1803201431

Ambato, 6 de febrero de 2024

DEDICATORIA

A **Dios**, por infundirme la constancia y la fuerza para seguir adelante con mis propósitos y aspiraciones vitales.

A mi madre **Doris**, pilar y guía de mi existencia, la artífice de mis sueños, quien con su ejemplo de amor incondicional y fortaleza me ha enseñado a alcanzar mis metas.

A mi padre **Luis**, por darme las oportunidades que me han permitido perseguir y alcanzar mis aspiraciones.

A mi hermano **Daniel**, que con su cariño me ha empujado a estar motivado en toda esta etapa universitaria.

A mi tío **Danny**, quien ha sido un pilar fundamental en mi vida, un apoyo y motivación incondicional, ante cualquier adversidad.

A mi Abuelita **Mariana**, cuyo amor incansable y ejemplo de unidad familiar han sido mi faro y consuelo durante toda mi vida.

.

Luis Fernando Zhu Ordoñez

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincera gratitud a Dios, por las innumerables oportunidades concebidas, por darme la fortaleza para crecer al lado de mis seres queridos y por la inspiración necesaria para perseguir mis metas.

Mi reconocimiento más profundo a mis padres, el soporte esencial de mi existencia, a mi hermano quien ha compartido conmigo este intenso viaje, a mi abuelita que siempre me ha tenido presente en sus pensamientos y a mi tío por el apoyo incondicional.

A mi tutora Msc. María Daniela Garcés quien con su sabiduría pudo brindarme su apoyo incondicional y ser guía para completar esta etapa de mi vida.

A mis amigos Tomás, Dania, Eder y Shirley les agradezco por su valiosa amistad, por las risas y sobre todo por el cariño que me han brindado. Mi agradecimiento eterno por su constante apoyo.

Luis Fernando Zhu Ordoñez

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN POR EL TUTOR	ii
AUTORIA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DEL AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
RESUMEN EJECUTIVO	xv
ABSTRACT	xvi
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.1.1. Producción de la fresa	3
1.1.2. Cultivo y estados de maduración	4
1.1.3. Problemas de conservación.....	5
1.1.4. Recubrimientos	2
1.1.4.1. Recubrimientos convencionales.....	2
1.1.4.2. Recubrimientos naturales	2
1.1.5. Investigaciones preliminares.....	4
1.2. Objetivos	5
1.2.1. Objetivo General	5

1.2.2. Objetivos Específicos.....	5
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA.....	6
2.1. Materiales	6
2.2. Métodos	7
2.2.1. Formulación de tres recubrimientos a base de cera de abeja, aceite de nuez, aceites esenciales de orégano y clavo de olor.....	7
2.2.1.1. Recolección de las muestras (fresas).....	7
2.2.1.2. Formulación de los biorecubrimientos.....	8
2.2.1.3. Aplicación de los biorecubrimientos a las fresas	8
2.2.2. Realización de ensayos de conservación de la fresa utilizando los biorecubrimientos a diferentes temperaturas.	9
2.2.2.1. Características Físicas	9
2.2.2.2. Características Químicas	11
2.2.3. Evaluación del efecto antimicrobiano de los biorecubrimientos formulados contra <i>B. cinerea</i>	12
2.2.3.1. Recepción y activación de la cepa de <i>B. cinerea</i>	12
2.2.3.2. Aplicación de la suspensión de <i>B. cinerea</i> sobre los tratamientos.	13
2.2.3.3. Análisis de presencia de <i>B. cinerea</i> sobre los tratamientos.	13
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1. Análisis y Discusión de Resultados.....	15
3.1.1. Análisis Físicoquímicos	15
3.1.1.1. Tamaño	15
3.1.1.2. Pérdida de Peso	16
3.1.1.3. Porcentaje de descomposición de la fresa.....	17
3.1.1.4. Color.....	19

3.1.1.5. Solidos solubles totales	22
3.1.1.6. pH.....	24
3.1.1.7. Acidez titulable.....	25
3.1.2. Análisis Microbiológico.....	27
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
4.1. Conclusiones	34
4.2. Recomendaciones.....	35
MATERIALES DE REFERENCIA.....	37
ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Taxonomía de la fresa (Fragaria x ananassa)</i>	1
Tabla 2. <i>Listado de Equipos y Materiales empleados</i>	6
Tabla 3. <i>Categorías de severidad</i>	14
Tabla 4. <i>Parámetros de tamaño</i>	15
Tabla 5. <i>Pruebas Fisicoquímicas a Temperatura Ambiente</i>	55
Tabla 6. <i>Pruebas Fisicoquímicas en Refrigeración</i>	56
Tabla 7. <i>Evaluación de la efectividad de los biorecubrimientos a temperatura ambiente</i>	57
Tabla 8. <i>Evaluación de la efectividad de los biorecubrimientos en refrigeración</i>	588
Tabla 9. <i>Análisis Microbiológico a Temperatura Ambiente</i>	59
Tabla 10. <i>Pruebas Microbiológicas en Refrigeración</i>	60
Tabla 11. <i>Prueba LSD de Fisher para Incidencia a temperatura ambiente</i>	61
Tabla 12. <i>Prueba LSD de Fisher para Severidad a temperatura ambiente</i>	62
Tabla 13. <i>Prueba LSD de Fisher para Incidencia en Refrigeración</i>	63
Tabla 14. <i>Prueba LSD de Fisher para Severidad en Refrigeración</i>	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Descripción de la planta de fresa</i>	2
Figura 2. <i>Presencia de B. cinerea avanzada en la fresa</i>	6
Figura 3. <i>Conidióforos a 40 X</i>	7
Figura 4. <i>Conidióforos a 100 X</i>	7
Figura 5. <i>Escala de color de la fresa</i>	7
Figura 6. <i>Fresas en cajas PET</i>	9
Figura 7. <i>Espacio de color CIE LAB</i>	10
Figura 8. <i>Clasificación visual del fruto</i>	14
Figura 9. <i>Pérdida de Peso en las fresas</i>	16
Figura 10. <i>Porcentaje de descomposición</i>	18
Figura 11. <i>Parámetros de Luminosidad y Ángulo Hue</i>	20
Figura 12. <i>Sólidos solubles totales (SST)</i>	22
Figura 13. <i>Evaluación del pH en las fresas</i>	24
Figura 14. <i>Porcentaje en ácido cítrico</i>	26
Figura 15. <i>Evaluación de las suspensiones de B. cinerea a temperatura ambiente</i>	28
Figura 16. <i>Evaluación de las suspensiones de B. cinerea en refrigeración</i>	30
Figura 17. <i>Registro único de contribuyentes asociado a la compra de fresa</i>	53
Figura 18. <i>Recolección de las fresas</i>	54
Figura 19. <i>Elaboración de los biorecubrimientos</i>	54
Figura 20. <i>Fresas recubiertas</i>	54
Figura 21. <i>Análisis de pH</i>	54
Figura 22. <i>Análisis de pérdida de peso</i>	54
Figura 23. <i>Análisis colorimétrico</i>	54
Figura 24. <i>Multiplicación de B. cinerea</i>	59

Figura 25. <i>Elaboración de las suspensiones de B. cinerea</i>	59
Figura 26. <i>Prueba de Pareto para Incidencia a ambiente</i>	61
Figura 27. <i>Prueba de Pareto para Severidad a ambiente</i>	61
Figura 28. <i>Grafica de medias para Incidencia a ambiente</i>	61
Figura 29. <i>Grafica de medias para Severidad a ambiente</i>	61
Figura 30. <i>Prueba de Pareto para Incidencia en refrigeración</i>	62
Figura 31. <i>Prueba de Pareto para Severidad en refrigeración</i>	62
Figura 32. <i>Grafica de medias para Incidencia en refrigeración</i>	62
Figura 33. <i>Grafica de medias para Severidad en refrigeración</i>	62
Figura 34. <i>Signos de pudrición a temperatura ambiente</i>	64
Figura 35. <i>Signos de pudrición en refrigeración</i>	64

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. <i>Documentación, Adquisición de Materia Prima y Evaluación Fisicoquímica</i>	53
Anexo 2. <i>Resultados de Pruebas Fisicoquímicas a Temperatura Ambiente y Refrigeración.....</i>	55
Anexo 3. <i>Análisis Microbiológico en las fresas</i>	59
Anexo 4. <i>Análisis estadísticos de Incidencia y Severidad a Temperatura Ambiente</i>	61
Anexo 5. <i>Análisis estadísticos de Incidencia y Severidad en refrigeración</i>	62

RESUMEN EJECUTIVO

Este estudio se centra desarrollo de biorecubrimientos para extender la vida útil de las fresas, una fruta altamente perecedera que representa desafíos comerciales significativos para los agricultores, con el objetivo de reemplazar los métodos convencionales de conservación, generalmente de naturaleza química y potencialmente riesgosos para la salud de los consumidores.

La metodología del estudio se centró en la formulación de tres biorecubrimientos distintos, cada uno combinaba cera de abeja con aceite de nuez y aceites esenciales de orégano y clavo, seleccionados por sus conocidas propiedades antimicrobianas. Evaluando rigurosamente la efectividad de estos recubrimientos a través de una serie de ensayos fisicoquímicos, tales como: pérdida de peso, porcentaje de pudrición, color, pH, contenido de sólidos solubles totales y acidez titulable, adicionalmente, se realizaron pruebas microbiológicas para determinar la resistencia de los biorecubrimientos frente a diversas concentraciones (1:10; 1:100; 1:1000) del hongo *B. cinerea*, responsable de la putrefacción postcosecha de las fresas. Las pruebas se efectuaron bajo dos regímenes de temperatura: ambiente (17-22) centígrados y refrigeración (4-7) centígrados; este abordaje metodológico no solo confirmó la eficacia de los biorecubrimientos en distintas condiciones, sino que también contribuyó a la vanguardia en la investigación de conservantes naturales para alimentos.

Los resultados obtenidos demostraron que las fresas tratadas con los biorecubrimientos mantienen sus atributos sensoriales y nutricionales durante un periodo extendido, de hasta 8 días en condiciones ambientales y hasta 15 días en refrigeración; este hallazgo representa un paso importante hacia métodos de conservación naturales y sostenibles.

Palabras clave: Conservación de alimentos, manejo postcosecha, vida útil, recubrimientos comestibles, biorecubrimientos, cera de abeja, fresas.

ABSTRACT

This study focuses on the development of bio-coatings to extend the shelf life of strawberries, a highly perishable fruit that poses significant commercial challenges for farmers, with the aim of replacing conventional preservation methods, which are generally chemical in nature and potentially hazardous to consumer health.

The study's methodology focused on the formulation of three distinct bio-coatings, each combining beeswax with walnut oil and essential oils of oregano and clove, chosen for their well-known antimicrobial properties. The effectiveness of these coatings was rigorously evaluated through a series of physicochemical assays, such as weight loss, rot percentage, color, pH, total soluble solids content, and titratable acidity. Additionally, microbiological tests were conducted to determine the bio-coatings' resistance against various concentrations (1:10; 1:100; 1:1000) of the fungus *B. cinerea*, responsible for post-harvest rot in strawberries. Tests were carried out under two temperature regimes: room temperature (17-22) Celsius and refrigeration (4-7) Celsius; this methodological approach not only confirmed the efficacy of the bio-coatings under different conditions but also contributed to the forefront of research in natural food preservatives.

The results obtained showed that strawberries treated with the bio-coatings maintain their sensory and nutritional attributes for an extended period, up to 8 days under room conditions and up to 15 days in refrigeration; this finding represents a significant step towards natural and sustainable preservation methods.

Keywords: Food preservation, post-harvest management, shelf life, edible coatings, bio-coatings, beeswax, strawberries.

CAPÍTULO I.

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

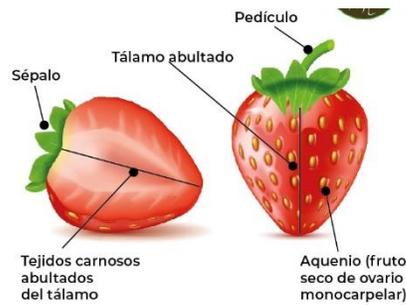
La fresa o frutilla (*Fragaria x ananassa*), un género de la familia de las rosáceas; sus bayas, en el proceso de maduración son apreciadas por su inconfundible sabor y aroma; considerada una planta perenne, es decir, vive más de 2 años, (Qiao et al., 2021), Adicionalmente tiene la capacidad de reproducirse de forma sexual y asexual, debido a la formación de inflorescencias hermafroditas, los cuales son pequeños pétalos de color blanco, quienes desarrollan poliaquenos que contienen frutos en su superficie; en la **Tabla 1** se describe su taxonomía, además, en la **Figura 1** se presenta la estructura de la fresa, la cual consta de aquenos por arriba de la epidermis (receptáculo) también llamados semillas (Liu et al., 2021). En la actualidad, existe una gran variedad de especies, en donde, las más utilizadas comercialmente son Camarosa, Albión, Camino Real, Monterrey, San Andreas, Portola, Ventana y Palomar (Scott et al., 2021).

Tabla 1. Taxonomía de la fresa (*Fragaria x ananassa*)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Familia	Rosaceae
Género	<i>Fragaria</i>
Especie	<i>Fragaria ananassa</i>

Fuente: (Liu et al., 2021)

Figura 1. Descripción de la planta de fresa



Fuente: (Zeist et al., 2021)

El fruto de la fresa es una estructura única llamada aquenio, compuesto por dos partes principales: una parte carnosa y jugosa conocida como el receptáculo que se forma a partir del desarrollo del receptáculo floral y es la porción que comúnmente consumimos (Zeist et al., 2021). Dentro de este receptáculo, se alojan los verdaderos frutos de la fresa, llamados aquenios, estos son la segunda estructura, compuesta por pequeñas semillas que se distribuyen en la superficie de la fresa y le dan su característico aspecto granulado. (Liu et al., 2023).

La fresa además contiene vitamina C, fundamental para la inmunidad y la salud de la piel, además, son una fuente de ácido fólico esencial durante el embarazo y de Vitamina K, clave para la coagulación y los huesos (Fierascu et al., 2020). En cuanto a los minerales, se encuentra: el potasio para la función muscular y la salud cardiovascular y el manganeso, necesario para el tejido conectivo y el metabolismo. Así mismo, las fresas son una excelente fuente de antioxidantes, incluyendo antocianinas que les dan su color rojo intenso; el ácido elálgico que ayuda a reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer y la quercetina puede tener efectos antiinflamatorios y beneficios cardiovasculares (Ait lhaj et al., 2021).

1.1.1. Producción de la fresa

Las estadísticas, mencionan como mayor productor de fresas en todo el mundo a China, con una producción por encima de las tres toneladas anuales (FAO, 2021), seguido por Estados Unidos y México. La producción de fresas en Ecuador es una actividad económica de gran relevancia, para el 2021 se produjeron 1.438,45 toneladas en un área de cosecha ejecutiva de 101 ha (FAOSTAT, 2023). Este exquisito fruto se cultiva de manera constante a lo largo de todo el año en las regiones del callejón interandino del país (Hidrobo et al., 2022). Su presencia constante en esta área geográfica refleja tanto la variedad de microclimas en el país, que proporciona condiciones ideales para el cultivo de fresas con sabores y texturas únicas (Khammayom et al., 2022). La provincia de Pichincha, en particular, se destaca como líder en la producción de fresas en Ecuador, seguida por Tungurahua y Chimborazo que están contribuyendo significativamente a la producción de fresas en Ecuador (Hidrobo et al., 2022). Estas provincias comparten características geográficas y climáticas que son adecuadas para el cultivo de fresas de alta calidad (Huacón, 2020).

En Ecuador, las variedades de fresas cultivadas ofrecen numerosas ventajas, entre las más destacadas, tenemos: resistencia a enfermedades, mayor rendimiento, adaptabilidad a diferentes altitudes y climas, frutos de mayor tamaño y producción constante durante todo el año (Zurn et al., 2022), además, la variación en sabor, color y textura abre oportunidades en mercados especializados y de valor agregado. (Vásquez et al., 2018). Algunas de las variedades más populares: Fresa Oso Grande: esta variedad presenta frutos grandes, con forma redonda y con un color rojo brillante, es apreciada por su sabor intenso y es una opción muy popular entre los productores (Barrazueta et al., 2018); Fresa Diamante: esta variedad se caracteriza por su sabor dulce y textura firme, los frutos son de tamaño mediano y presentan un color rojo brillante, siendo versátil e ideal tanto para el consumo fresco como para la elaboración de productos procesados como mermeladas y jugos, la Fresa Monterrey: es conocida por su capacidad de adaptación a diferentes condiciones climáticas (Thurner & Pimentel, 2021), produce frutos de tamaño mediano a grande con un sabor agradable, por último, la Fresa Albión: es una fresa de día neutro

que permite el cultivo durante todo el año en climas adecuados, sin importar la duración de la luz solar en el día, sus frutos son grandes, tienen sabor dulce y excelente calidad, por ello, en los últimos años, la fresa Albión ha ganado popularidad debido a su capacidad de producción constante y su versatilidad **(Salazar et al., 2018)**.

Estas variedades representan solo una parte de la diversidad de fresas que se cultivan en Ecuador, la elección de la variedad depende de factores como las condiciones climáticas locales, los objetivos del productor y las preferencias del mercado; el cultivo de estas variedades permite una producción diversificada de fresas en Ecuador **(Vásquez et al., 2018)**.

1.1.2. Cultivo y estados de maduración

Las fresas atraviesan distintas etapas de maduración para alcanzar su estado óptimo, dichas fases pueden cambiar según la variedad y las condiciones locales. En general, las fresas suelen estar listas para la cosecha dentro de los 3 a 5 meses después de la primera siembra o trasplante, pero esto puede cambiar dependiendo de factores como la temperatura, la luz solar y el tipo de fresa **(Simkova et al., 2023)**.

Dichas fases de maduración se clasifican, de la siguiente manera: **(Palumbo et al., 2022)**, en el primer estado, las fresas son de color verde y aún no han comenzado a madurar, son firmes al tacto y no están listas para ser consumidas, a medida que avanzan hacia el estado "blanco" (estado 2), las fresas comienzan a cambiar de color de verde a blanco, pero aún permanecen bastante firmes y no han alcanzado su madurez completa **(Liu et al., 2021)**. En el estado de maduración "rojizo" (estado 3), las fresas están en proceso de maduración y han adquirido un tono rojizo, aunque aún pueden estar un poco duras. Es en el estado "rojo" (estado 4 y 5) donde las fresas están maduras y en su punto óptimo para ser consumidas, presentan un color rojo brillante, máximo sabor y dulzura, sin embargo, es importante tener en cuenta que el estado 6 "sobremaduro", ocurre si las fresas se dejan en la planta durante demasiado tiempo **(Palumbo et al., 2022)**, en este estado, las fresas pueden volverse demasiado maduras y comenzar a descomponerse, lo que afecta negativamente su calidad **(Thurner & Pimentel, 2021)**.

1.1.3. Problemas de conservación

Indudablemente, los agricultores con los cuidados y prácticas de cultivo logran obtener fresas de buena calidad para que el consumidor pueda disfrutarlas, como: fruta fresca o incorporar en diversas preparaciones culinarias, como postres, mermeladas, jugos y muchas más **(Aguilera & Toledo, 2022)**. Dada su popularidad y su importancia económica, la fresa se ha convertido en un cultivo frutal ampliamente cultivado en diversas partes del mundo, sin embargo, la fresa presenta un gran desafío en la conservación de la calidad de sus frutos durante la cadena de suministro, debido a su alta perecibilidad **(Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2020)**.

Según datos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en países en vías de desarrollo, como Ecuador, las pérdidas pueden alcanzar hasta el 45% del total de producción de frutas y hortalizas, lo que representa desperdicios de recursos y pérdidas económicas para los productores **(FAO, 2019)**. A pesar de su posición destacada en el mercado, esta industria se enfrenta a desafíos significativos en términos de conservación y pérdidas postcosecha; puesto que, las fresas tienden a la deshidratación, provocando la pérdida de firmeza, textura y desarrollo de hongos si no se aplican métodos de conservación adecuados **(Asao & Assaduzzaman, 2019)**.

Las fresas tienen un tiempo de conservación postcosecha muy crítico, que generalmente va desde los 5 a 7 días después de ser cosechadas, si se mantienen en buenas condiciones de almacenamiento, aunque este período puede variar según el manejo; en la industria una mayor vida útil permitiría un mayor alcance geográfico para la comercialización, reduciendo así el desperdicio de alimentos y las pérdidas económicas **(Dong et al., 2020)**. Existen varios factores influyen en la vida útil de las fresas, los cuales pueden ser: temperatura de almacenamiento, humedad relativa, tipo de fresa, manejo postcosecha, aplicación de tratamientos y la presencia de patógenos **(Weber, 2020)**.

Las fresas a temperatura ambiente (17 - 22) °C , son altamente perecederas y su tiempo de conservación es relativamente corto, por lo general, las fresas tienden a conservar su calidad óptima por un período de aproximadamente 3 a 5 días (**Martinsen et al., 2020**), sin embargo, este período de conservación puede reducirse en climas más cálidos o bajo condiciones de alta humedad, especialmente cuando la humedad relativa supera el 80%, lo que aumenta el riesgo de deterioro y desarrollo de moho (**Ikegaya et al., 2020**). En el caso que se mantengan en refrigeración se puede ralentizar significativamente su proceso de maduración y retrasa el crecimiento de microorganismos dañinos (**Lv et al., 2022**). Este aumento significativo en el tiempo de conservación de las fresas al refrigerarlas se debe a que las temperaturas más bajas reducen la tasa de respiración y descomposición, ayudando a mantener la frescura, firmeza y sabor, sin embargo, es importante notar que incluso en refrigeración, las fresas eventualmente se deterioran, especialmente si presentan daños mecánicos o son propensas a enfermedades fúngicas (**Asao & Assaduzzaman, 2019**).

Debido al corto tiempo de conservación postcosecha de las fresas, estas son susceptibles a varios hongos patógenos pertenecientes a varios géneros de *Botrytis*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. y *Alternaria* sp, que atacan a la planta de modo que disminuyen la calidad de la fruta; siendo de los patógenos fúngicos más comunes es *B. cinerea* (**Romero et al., 2019**), que causa pudrición y descomposición de las fresas en condiciones de alta humedad y temperaturas moderadas, presentándose como moho gris en la fresa incluso durante su almacenamiento (**Figura 2**) (**Kahramanoğlu et al., 2022; Petrasch et al., 2019; Sharma et al., 2021**).

Figura 2. *Presencia de B. cinerea avanzada en la fresa*



Fuente: (**Sharma et al., 2021**)

Este hongo se puede desarrollar en dos formas, la primera es endógena la cual provoca la descomposición interna, lo cual tiene como desventaja que no se puede ver a simple vista, la segunda es exógena, en donde, el hongo se arroja desde el exterior al interior. La morfología de *B. cinerea* consiste en numerosos conidióforos largos ramificados y las células redondas producen racimos de conidios incoloros de color gris, en la figura 3 se muestra los conidióforos microscópicamente a 40X y la figura 4 a 100X (**Rojas, 2016**).

Figura 3. *Conidióforos a 40 X*

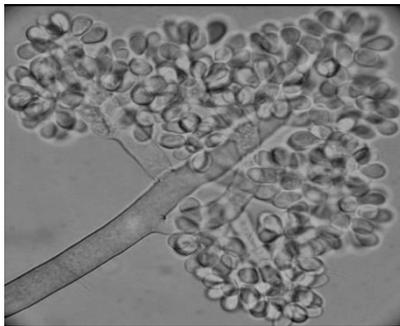
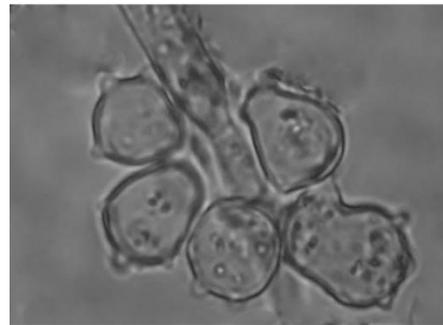


Figura 4. *Conidióforos a 100 X*



Fuente: (Rojas, 2016)

Estos problemas no solo afectan la calidad de las fresas, sino también su vida útil y su comercialización, generando pérdidas económicas tanto para los productores como para el país en su conjunto (**Calderón, 2018**). Por tal razón, el Ministerio del Ambiente y Agua de Ecuador ha establecido criterios y normativas, que promueven un mejor manejo en el proceso de producción (**MAATE, 2023**). De tal manera, que una estrategia prometedora para prolongar el tiempo de conservación de las fresas es el uso de biorecubrimientos, los cuales pueden ayudar a reducir la deshidratación, inhibir el crecimiento de patógenos, mantener la firmeza y conservar la calidad de las fresas durante el almacenamiento. Los resultados de este estudio pueden contextualizar y respaldar las investigaciones actuales en el marco de la conservación postcosecha de las fresas (**Massoud et al., 2023**), proporcionando un contexto esencial para la investigación en áreas de estudio, como la agrícola y alimentaria (**Iñiguez et al., 2021**).

1.1.4. Recubrimientos

1.1.4.1. Recubrimientos convencionales

El mercado común ha creado métodos químicos de conservación por años, como los recubrimientos comerciales, los cuales pueden dejar residuos como: pesticidas, fungicidas o conservantes químicos en la superficie del fruto, **(OMS, 2018)**. La presencia de estos residuos puede plantear preocupación en términos de seguridad alimentaria **(Yuvaraj et al., 2021)**, puesto que, algunas personas pueden ser sensibles a los compuestos químicos utilizados en estos recubrimientos, provocando reacciones adversas a la salud humana, tales como: migraña, alergias, entre otros **(OMS, 2018)**. Por esta razón, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, establece regulaciones para la aprobación de recubrimientos y aditivos que no afecten a la salud **(FDA, 2022)**. Además, la OMS destaca el potencial de los biopolímeros naturales, como la cera de abeja, por su composición natural, renovable y biodegradable, siendo así, una alternativa segura y sostenible en comparación con los recubrimientos fabricados con compuestos químicos **(OMS, 2019)**.

1.1.4.2. Recubrimientos naturales

Los biorecubrimientos naturales tienen muchas ventajas, una de las más importantes es reducir la pérdida de humedad de los frutos, los cuales actúan como una barrera física que protege los frutos de la oxidación y la descomposición causadas por microorganismos **(Lakhawat et al., 2023; Jafarzadeh et al., 2021)**.

Entre los materiales utilizados para los biorecubrimientos tenemos a los polisacáridos, como la celulosa y el almidón, los cuales presentan propiedades filmógenas y su capacidad para retener agua **(Kocira et al., 2021)**. Por otro lado, los lípidos, como las ceras naturales y los aceites esenciales, también son comunes en los biorecubrimientos naturales, estos lípidos forman una capa hidrofóbica que protege los frutos del contacto directo con el aire y ayuda a prevenir la pérdida de humedad **(Pham et al., 2023)**, además, los aceites

esenciales tienen propiedades antimicrobianas que inhiben el crecimiento de bacterias y hongos (Leyva et al., 2017).

Los biorecubrimientos naturales pueden ser enriquecidos con antioxidantes naturales, como los compuestos fenólicos presentes en algunas frutas y hierbas, estos antioxidantes ayudan a retardar la oxidación de los frutos, por lo tanto, prolongan su vida útil (Blancas et al., 2022; Muley & Singhal, 2020). En este contexto, se ha planteado formular un biorecubrimiento a base de cera de abeja, aceite de nuez y aceites esenciales de orégano y clavo de olor; teniendo en cuenta que, cada uno de estos componentes presenta características prometedoras, que ayudan a la conservación de la fresa. Como componente principal, tenemos a la cera de abeja (Hosseini et al., 2023), un material natural proveniente de las abejas melíferas jóvenes, las cuales segregan una especie de líquido por las glándulas cereras y al contacto con el ambiente esta sustancia se endurece, dando un producto de naturaleza cerosa (Gupta & Anjali, 2023), formando una capa protectora en la superficie de la fresa, otorgando una barrera física que ayuda a proteger la fresa de factores ambientales (Baldwin et al., 2012).

El aceite de nuez ha demostrado propiedades beneficiosas, puesto que, contiene altas cantidades de ácidos grasos insaturados y otros componentes que proporcionan beneficios para la salud (Samadani et al., 2019), como en el estudio de (Pinar et al., 2023), se demuestra que el ácido alfa-linolénico (ALA) componente principal de la nuez, ayuda a mejorar la salud cerebral y la función cognitiva de las personas que consumen nuez o sus derivados. Así mismo este aceite, aporta sus propios beneficios únicos al recubrimiento, como antioxidantes (Vitamina E y ácidos grasos omega-3), ofreciendo una protección adicional contra el deterioro oxidativo, siendo este tipo de deterioro es una causa común de la degradación de la calidad en las fresas, llevando a cambios indeseables en color, sabor y textura (Song et al., 2022).

El aceite esencial de orégano también ofrece una serie de beneficios; en primer lugar, se destaca por sus propiedades antimicrobianas (Pontes et al., 2021), puesto que, presenta compuestos como el carvacrol y el timol, los cuales tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias y hongos que pueden provocar la descomposición de las fresas,

además, posee propiedades antioxidantes que pueden proteger las fresas del deterioro oxidativo; estos antioxidantes pueden prevenir la formación de radicales libres y retrasar el proceso de oxidación, lo que a su vez puede contribuir a mantener la frescura y calidad durante más tiempo (Leyva et al., 2017). Por otro lado, el aceite esencial de clavo de olor presenta compuestos, como el eugenol, que ha demostrado tener propiedades antimicrobianas y antifúngicas efectivas contra diversos patógenos, ayudando a inhibir el crecimiento y desarrollo de *B. cinerea* (Shahbazi, 2019).

1.1.5. Investigaciones preliminares

Como resultado del creciente interés de consumidores y agricultores en obtener productos de alta calidad, ha surgido una tendencia hacia la investigación y el desarrollo de biorecubrimientos elaborados a partir de compuestos naturales. (Baldwin et al., 2012). Se han realizado estudios de biorecubrimientos en frutas como la Pera (Sultan et al., 2021), el Mango (Eshetu et al., 2019), Limón (Nasrin et al., 2023), Mandarina (Baswal et al., 2020), que prolongan la vida útil de los frutos postcosecha, mediante el control del deterioro por factores internos, externos y plagas que afectan a la fruta.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Desarrollar un biorecubrimiento a partir de cera de abeja para mejorar la vida útil de las fresas.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Formular tres biorecubrimientos a base de cera de abeja, aceite de nuez, aceites esenciales de orégano y clavo de olor.
- Realizar ensayos de conservación de la fresa utilizando los biorecubrimientos a diferentes temperaturas.
- Evaluar el efecto antimicrobiano de los biorecubrimientos formulados contra *Botrytis cinerea*.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

A continuación, se detallan los equipos, materiales y reactivos empleados en el presente trabajo de titulación.

Tabla 2. *Listado de Equipos y Materiales empleados*

Equipos	Materiales	Reactivos e Insumos
Baño María	Fundas ziploc	Tween 80
Incubadora	Mechero de alcohol	Glicerol
Cámara de Flujo	Micropipeta (10,100	Etanol 95%
Laminar	&1000) µL	Cera de Abeja
pHmetro	Pinzas	Aceite de Nuez
Balanza Analítica	Tubos de ensayo	Aceite esencial de orégano y clavo de olor
Brixómetro	Vasos de precipitación 50mL	Agua esteril
Plancha de Calentamiento	Pipetas (5-25) mL	
Colorímetro	Probetas (10 -50) mL	
Autoclave	Matraces Erlenmyer (50 - 100) mL	
Refrigerador	Asa de siembra	

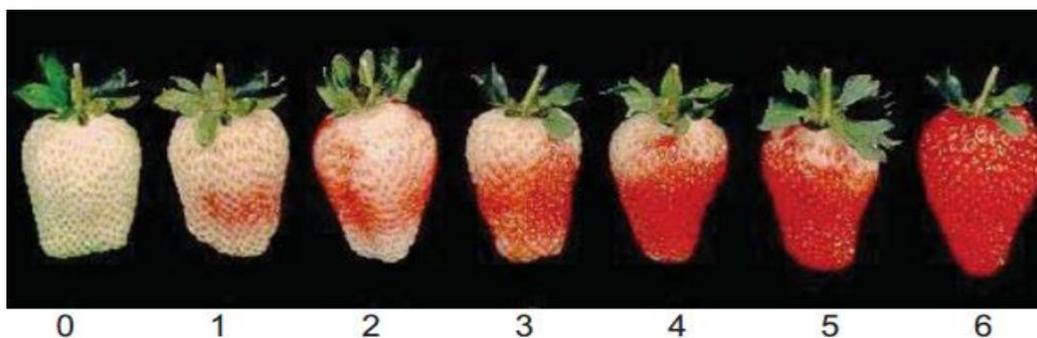
2.2. Métodos

2.2.1. Formulación de tres recubrimientos a base de cera de abeja, aceite de nuez, aceites esenciales de orégano y clavo de olor.

2.2.1.1. Recolección de las muestras (fresas)

Las fresas, fueron recolectadas en el Cantón Quero, la fruta se cosechó en un estado de madurez 3 de acuerdo con la Norma INEN 0411:1979, cuando el color rojo cubra un (50-60) % de la superficie de la fresa, deben tener: forma, tamaño (altura 40 ± 2 mm, anchura 27 ± 5 mm y diámetro 50 ± 4 mm), color uniforme, estar libre de daños mecánicos y contaminación por moho (Topcu et al., 2022). En un estado de madurez 3, teniendo un contenido de azúcares que oscile entre 5 y 7 grados Brix; proporcionando un equilibrio agradable entre dulzura y frescura (Cho et al., 2019). Una vez recolectada la fruta se transportó inmediatamente a los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato y se procedió con la desinfección de las fresas con una solución de vinagre al 2%; aprovechando las propiedades antimicrobianas que debido a su acidez, contribuye a reducir la presencia de microorganismos no deseados en las fresas, este método natural se ha utilizado tradicionalmente como una medida adicional de seguridad alimentaria, proporcionando una opción efectiva y comestible para desinfectar las fresas antes de su consumo (Ikegaya et al., 2021).

Figura 5. Escala de color de la fresa



2.2.1.2. Formulación de los biorecubrimientos

Para la preparación de los biorecubrimientos utilizaremos una combinación de ingredientes, como: cera de abeja, aceite de nuez, tween 80, agua y aceites esenciales de orégano y clavo de olor; en las siguientes concentraciones: **R₁**: 6 % cera de abeja, 46% aceite de nuez, 9% glicerol, 0,4 %aceite esencial de orégano, 1% tween 80 y 37,6 % Agua; **R₂**: 8 % cera de abeja, 45% aceite de nuez, 8% glicerol 0,4 % aceite esencial de clavo de olor, 1% tween 80 y 37,6 % Agua y **R₃**: 10 % cera de abeja, 42% aceite de nuez, 9% glicerol, 0,2 % aceite esencial de orégano, 0,2 % aceite esencial de clavo de olor, 1% tween 80 y 37,6 % Agua, los cuales presentan un equilibrio óptimo entre propiedades físicas, químicas y microbiológicas; ofreciendo mejores características al fruto durante un mayor número de días (**Gigante et al., 2021**).

Para la elaboración de los biorecubrimientos se seguirá la metodología descrita por (**Dickinson, 2020**), con algunas modificaciones, en donde, se diluirán los componentes acuosos y oleosos en recipientes separados, con la ayuda de un Baño María a 70 °C o una plancha de calentamiento; una vez realizado este proceso se irá agregando poco a poco la fase acuosa sobre la oleosa, manteniendo la agitación constante, favoreciendo la unión de las dos fases; posteriormente, se añadió la proporción adecuada de tween 80 y como punto final, se colocará los aceites esenciales. Todas las emulsiones del biorecubrimiento se debe homogeneizar a 70 °C durante 4 minutos.

2.2.1.3. Aplicación de los biorecubrimientos a las fresas

Cada tratamiento se colocará con la ayuda de un cepillo suave, para garantizar que el biorecubrimiento se encuentre en todo el fruto (**Nasrin et al., 2023**), además, se empleó una solución de control (agua), para el secado de los biorecubrimientos se dejará las fresas a temperatura ambiente, por último, la fruta se envasó en cajas de tereftalato de polietileno (PET) con perforaciones en la tapa, como se observa en la figura 6. El protocolo incluirá tres repeticiones por tratamiento en cada prueba.

Figura 6. *Fresas en cajas PET*



2.2.2. Realización de ensayos de conservación de la fresa utilizando los biorecubrimientos a diferentes temperaturas.

Se evaluó la durabilidad de la fresa por cada tratamiento aplicado, bajo dos condiciones de temperatura: (4-7) °C en refrigeración y (17-22) °C temperatura ambiental, permitiendo reconocer los días, a los cuales las fresas de cada tratamiento se encuentran en buenas condiciones. Se utilizaron intervalos de tres días para la caracterización en el periodo de refrigeración con un total de 15 días y para la fase de temperatura ambiente se tomarán las mediciones cada dos días en un lapso de 10 días, en donde se evaluará características fisicoquímicas de los biorecubrimientos en la fresa, con tres repeticiones por prueba y obteniendo una media de dichas lecturas **(Byantara & Dianursanti, 2021)**. Se colocaron 20 fresas en cada caja de tereftalato de polietileno (PET); los análisis se realizaron hasta que se observaron síntomas visuales de deterioro de la fruta.

2.2.2.1. Características Físicas

Para la evaluación de las características físicas del biorecubrimiento elaborado a partir de cera de abeja en la fresa, se realizaron inicialmente pruebas de pérdida de peso y % de pudrición; para la pérdida de peso, las fresas recubiertas con la biopelícula se pesaron inicialmente y se registrarán los valores, en donde, se considerará la diferencia de la masa inicial y la masa final en el tiempo de almacenamiento **(Byantara & Dianursanti, 2021)**.

El pesaje se realizará en una balanza analítica (Radwag). Los cálculos se expresan en porcentaje, según la ecuación 1.

$$\%PP = \frac{P_1 - P_f}{P_1} * 100 \quad (1)$$

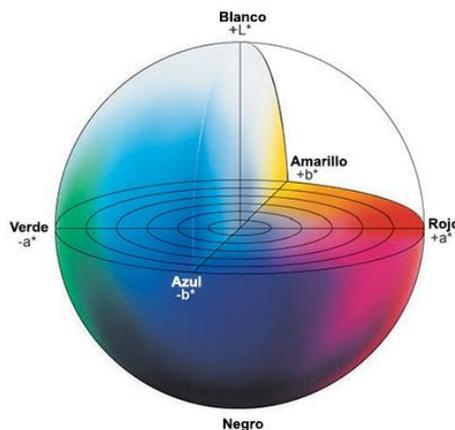
Donde, %PP es la pérdida de peso; " P_1 " es la masa inicial (g); y " P_f " es la masa final (g).

Además, se evaluó el porcentaje de pudrición (Ec. 2) de las fresas recubiertas en comparación con las fresas sin recubrimiento, en este punto se examina visualmente la presencia de signos de pudrición, como cambios de color, textura y olor; se tomará en cuenta las fresas que presentan estos signos y se desecharán. (Sultan et al., 2021).

$$\%Pudrición = \frac{\# \text{ fresas podridas}}{\# \text{ total de fresas}} * 100 \quad (2)$$

Para el color se utilizó el método de reflectometría, utilizando un colorímetro (Lovibond LC 100), dicho equipo opera mediante una fuente de luz controlada, comúnmente de tipo D65, la cual simula la luz del día, iluminando la muestra, además, un detector en el colorímetro mide la luz reflejada por la muestra y utiliza filtros para descomponer la luz en componentes de color, sintonizados para el espacio de color CIE LAB (Figura 7), el cual es un modelo cromático usado normalmente para describir todos los colores que puede percibir el ojo humano, dicho espacio tridimensional describe los colores visibles con L^* , a^* y b^* , como se observa en la siguiente figura.

Figura 7. *Espacio de color CIE LAB*



Estos resultados son presentados para proporcionar información cuantitativa sobre el color de la muestra. La luminosidad (L^*) indica el grado de claridad u oscuridad de un color, presenta una escala entre 0 (negro) y 100 (blanco), además, la coordenada rectangular a^* muestra los colores que van de verde (-) a rojo (+) y la coordenada rectangular b^* muestra los colores que van de azul (-) a amarillo (+). Estas coordenadas permitieron calcular L^* y el ángulo de tono $^{\circ}Hue$ (Ec. 3) que presenta una escala entre 0° y 360° y representa el tono del color en el plano $a^* b^*$. Las mediciones se realizaron en las dos caras opuestas y en el ápice de la fresa. Se tomaron fotografías en cada intervalo de almacenamiento para informar sobre el aspecto general **(Oliveira et al., 2018)**.

$$^{\circ}Hue = \tan^{-1} * \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (3)$$

2.2.2.2. Características Químicas

Para determinar el contenido de sólidos solubles totales (SST) se siguió el método descrito por **(Ikegaya et al., 2021)**; en donde, se extrae el jugo de las fresas y con la ayuda de un refractómetro se obtuvo los valores de SST en porcentaje (%); dicho equipo tiene un prisma en la parte superior, el cual entra en contacto directo con la muestra y utiliza la refracción de la luz, al pasar se refracta debido a las diferencias en la velocidad de la luz en el aire y en el líquido. Este ángulo está directamente relacionado con la concentración de solutos (densidad o concentración) de la muestra y al observar la división de la luz y la sombra en una escala graduada, se puede leer el valor en grados Brix, proporcionando una medición precisa de la concentración de azúcares en la solución analizada.

Para medir el pH, se trituraron tres fresas de cada tratamiento en un mortero y se filtraron. A continuación, los filtrados se utilizaron para medir el pH con un pH-metro, en donde, el electrodo de vidrio entra en contacto con la solución, generándose una fuerza electromotriz (fem) en respuesta a la concentración de iones de hidrógeno; la relación existente entre la fem y el pH es lineal, debido a la calibración con soluciones de referencia, por ello, al medir la fem en una muestra desconocida y compararla con la curva de calibración, se determina el pH de la muestra. **(Jiang et al., 2020)**.

El análisis de acidez titulable (AT) se realizarán siguiendo el método adaptado de **Cozzolino et al, (2021)**; en donde se homogeniza alrededor de 10 g de fresas para obtener el jugo de fruta y se midió dicho valor por titulación usando NaOH 0,1 N con fenolftaleína de 4 a 5 gotas como indicador; el punto en el que la solución cambia de incolora a rosada indica el fin de la titulación y todo el ácido de la solución ha sido neutralizado por la base. Los resultados se expresan en porcentaje de ácido cítrico según la ecuación 4.

$$\text{Acidez en ácido cítrico} \left(\frac{v}{p} \right) = \frac{V * N * \text{eq.g ácido}}{P} * 100 \quad (4)$$

Donde, V es el volumen de la solución de hidróxido sódico gastado; N es la normalidad del hidróxido de sodio (0.1 eq/L); eq.g ácido es el equivalente en gramos de ácido cítrico (0.064 eq g); y P es la cantidad en g o mL de la muestra utilizada en la valoración.

Los resultados de las pruebas fisicoquímicas se presentarán mediante diagramas de barras, los cuales mostrarán los valores medios obtenidos. Esta representación gráfica permitirá una interpretación más sencilla y visual de los resultados. Una vez obtenidas todas las gráficas para cada prueba, se presentará los datos con un margen de error por cada medición en tablas.

2.2.3. Evaluación del efecto antimicrobiano de los biorecubrimientos formulados contra *B. cinerea*

2.2.3.1. Recepción y activación de la cepa de *B. cinerea*

Las cepas de *B. cinerea* fueron otorgadas por el trabajo de investigación “Evaluación de la capacidad antagonica de *Trichoderma harzianum* microencapsulada frente a *B. cinerea*” trabajo de investigación ejecutado por Guevara Freire Jennifer Michelle, las cuales previamente pasaron por pruebas macroscópicas, microscópicas y moleculares para su identificación (**Corrales & Astrin, 2022**). Para activar dichas cepas, se preparó el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) con gentamicina al 0,05% (**Elena et al., 2019**). Una vez preparado dicho medio, se realizó un subcultivo de la cepa y se incubó a 28°C durante 5-7 días hasta que observe el crecimiento de colonias puras del hongo y formen conidios visibles en la superficie (**Apolonio et al., 2023**).

Para la obtención de los conidios, se roció con agua estéril la superficie, luego se recogió dicha solución en un tubo de ensayo estéril, llevándose al microscopio para el conteo de conidios en una cámara de Neubauer y proceder a realizar las diluciones en las siguientes concentraciones: altas, medias y bajas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) células/ml, evaluando la capacidad máxima que tienen los distintos biorecubrimientos, para prevenir la contaminación por *B. cinerea* (De Angelis et al., 2022).

Una vez realizo el conteo de los conidios en la Cámara de Neubauer se utilizó la siguiente fórmula (ecuación 5) para conocer el número de células/ml.

$$\text{Conteo de células} = \frac{N \text{ células}}{\# \text{ cuadros}} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ m}^3}{1 \text{ cm}^3} * \frac{1 \text{ cm}^3}{\text{ml}} * FD \quad (5)$$

2.2.3.2. Aplicación de la suspensión de *B. cinerea* sobre los tratamientos.

Para aplicar las tres suspensiones de conidios se pulverizó a las fresas con un atomizador, garantizando una aplicación uniforme sobre las fresas (Apolonio et al., 2023); además, se incluyó un grupo control, el cual no tiene ningún tratamiento de biorecubrimiento aplicado. Una vez aplicadas las suspensiones de conidios a todos los tratamientos, las fresas pasaron a refrigeración y temperatura ambiente, en donde se registraron los datos una vez presentes signos de contaminación (manchas, podredumbre o crecimiento fúngico) en los tratamientos evaluados.

2.2.3.3. Análisis de presencia de *B. cinerea* sobre los tratamientos.

Una vez aplicada la suspensión a los tratamientos, se evaluó el porcentaje de incidencia (I) (ecuación 6) y el índice promedio de la severidad (IPS) según la ecuación 7 (Arguedas et al., 2019).

$$I = \frac{\text{Total de fresas afectadas}}{\text{Total de fresas en el tratamiento}} * 100 \quad (6)$$

$$IPS = \frac{\Sigma (\text{Grado de afectación} * \text{Frecuencia})}{\text{Total de fresas evaluadas}} * 100 \quad (7)$$

Donde, la incidencia indica la cantidad de fresas infectadas con respecto al total de fresas evaluadas; la severidad indica la gravedad de los síntomas. Se evaluará utilizando los grados de afectación, presentes en la **Tabla 3** y en la **Figura 8**, cada grado de afectación representa un nivel específico de daño en las fresas y la frecuencia se refiere a la cantidad de veces que se observa un determinado grado de afectación en las fresas.

Tabla 3. *Categorías de severidad*

Severidad	Porcentaje Afectado (%)
0	0,0 – 0,0 (Sin infección visible)
1	0,1 – 20,0
2	21,0 – 40,0
3	41,0 – 60,0
4	61,0 – 80,0
5	81,0 – 100,0

Se utilizará el Software Mini Tab para el análisis estadístico, en donde se incluirá 3 repeticiones por los 4 tratamientos que incluye un tratamiento control; los resultados finales se mostrarán mediante diagramas de barras para una mejor comprensión y visualización.

Figura 8. *Clasificación visual del fruto*



Fuente: (Moreno & Sotelo, 2020)

CAPÍTULO III.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y Discusión de Resultados

3.1.1. Análisis Físicoquímicos

Se llevaron a cabo los análisis físicoquímicos tanto a temperatura ambiente como en refrigeración. A temperatura ambiente, se realizaron mediciones por 8 días con intervalos de 2 días, mientras que, en refrigeración, el periodo de evaluación fue de 15 días con mediciones cada 3 días, en el (Anexo 2, Tabla 7 y 8) se muestran los cambios visuales de la fresa; estos periodos de tiempo se seleccionaron basándose en la observación visual de las fresas, garantizando que el fruto se encuentre en buenas condiciones para el consumo. En el (Anexo 2, Tabla 5 y 6), se presentan los datos en tablas.

3.1.1.1. Tamaño

En la siguiente tabla se presentan los parámetros iniciales de tamaño de la fresa (peso, diámetro y ancho) determinados el día de la cosecha, según la norma INEN 0411:1979.

Tabla 4. *Parámetros de tamaño*

Parámetros	Medición	Norma INEN	
		Requisitos	Calibre
Diámetro (mm)	50 ± 4	46 - 54	Mediano
Longitud (mm)	40 ± 2	38 - 42	Mediano
Ancho (mm)	27 ± 5	22 - 32	Mediano

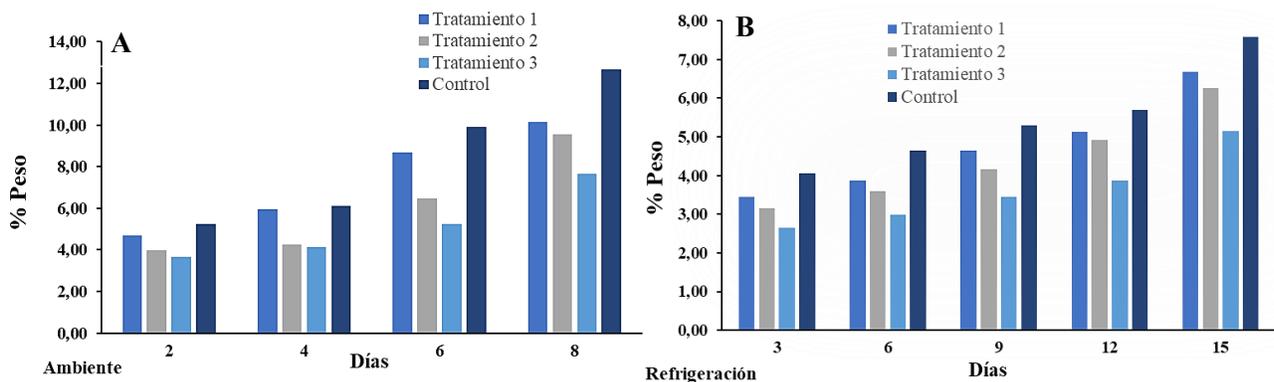
El tamaño de la fruta es importante en la comercialización, por ello, es recomendable recolectar la fresa en un estado de madurez 3 para realizar este proceso de recubrimiento; en este punto de madurez, las fresas aún no han iniciado su maduración completa, lo que permite que el recubrimiento sea más efectivo en retardar el proceso natural de maduración, a partir de dicho estado el aumento del peso y del diámetro de la fresa es

mínimo, en cambio, los estados de madurez 4, 5 y 6 son considerados altamente perecederos y la fresa no podría pasar por ningún tipo de tratamiento (Kuchi & Sharavani, 2019).

3.1.1.2. Pérdida de Peso

Las fresas se pesaron inicialmente y se registrarán los valores, considerando la diferencia de la masa inicial y la masa final en el tiempo de almacenamiento. La pérdida de peso en las fresas no solo compromete su aspecto comercial, sino que también implica una reducción en la rentabilidad para los productores, en la figura 9 (a y b) se presenta la pérdida de peso en los 3 biorecubrimientos y el control (sin biorecubrimiento), a temperatura ambiente y refrigeración respectivamente.

Figura 9. Pérdida de Peso en las fresas



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A) temperatura ambiente durante 8 días (B) refrigeración durante 15 días.

La pérdida de peso en las frutas es un mecanismo natural, en los que incluyen factores como la transpiración y respiración, en este sentido, todas las muestras recubiertas tienen una alta tendencia a reducir el porcentaje de pérdida de peso en las fresas en comparación con el de las frutas no recubiertas en las dos condiciones de almacenamiento (Li et al., 2021).

A temperatura ambiente, los datos indican que el tratamiento 3 es el más eficaz, limitando la pérdida de peso al 7.64% al octavo día, demostrando que a una mayor concentración de cera de abeja en este biorecubrimiento refuerza la barrera contra la pérdida de humedad, estudios previos han demostrado que recubrimientos con mayor proporción de cera de abeja tienden a exhibir mejores propiedades protectoras (**Dadzie et al., 2023**). En refrigeración, el mismo tratamiento presenta una pérdida de peso reducida al 5.15% después de 15 días, por ejemplo, en el estudio de **Brizzolara et al., (2020)**, se reporta que las bajas temperaturas durante el almacenamiento ralentizan los procesos metabólicos de las frutas, lo cual puede ser complementado por recubrimientos que aportan una protección adicional, reafirmando la efectividad del biorecubrimiento a bajas temperaturas. De manera similar, los recubrimientos a base de cera de abeja fueron eficaces en reducir la pérdida de peso de Mangos (**Eshetu et al., 2019**), Limones (**Nasrin et al., 2023**) y Peras (**Sultan et al., 2021**).

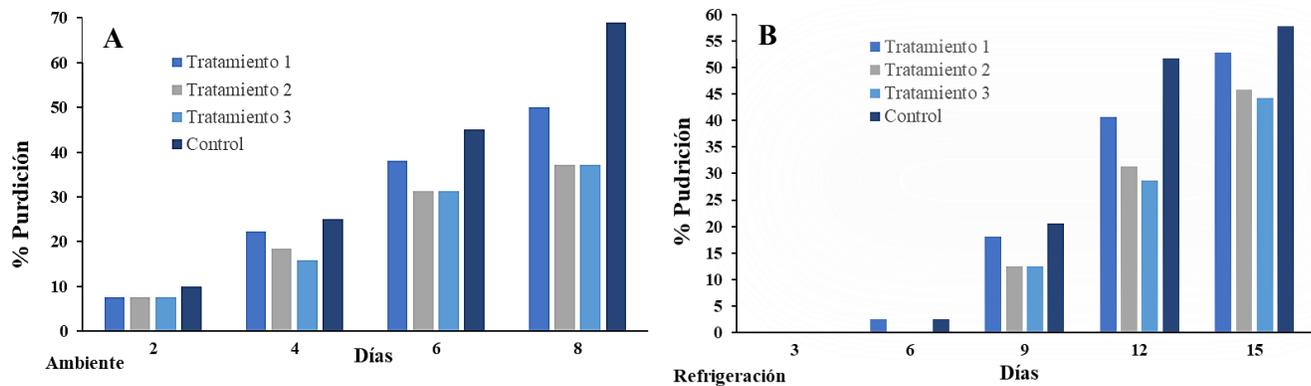
La disminución en el porcentaje de pérdida de peso de las fresas recubiertas con cera de abeja se podría atribuir a la eficiencia de los recubrimientos que actúa como una barrera contra la transferencia de vapor de agua, lo que reduce la deshidratación de la fruta (**Milani et al., 2022**). Según **Iñiguez et al., (2021)** la función esencial de un recubrimiento basado en lípidos es obstruir el paso de la humedad debido a su baja polaridad, funcionando como una barrera semipermeable que reduce la pérdida de agua y limita el intercambio de gases, creando una atmósfera modificada alrededor de la fruta (**Hosseini et al., 2023**). Disminuyendo las tasas de transpiración y respiración, lo que ayuda a mantener mejor el peso y la turgencia de las fresas, reduciendo así la deshidratación (**Du et al., 2022**).

3.1.1.3. Porcentaje de descomposición de la fresa

La integridad estructural de la fresa es crucial para su comercialización, ya que un alto porcentaje de descomposición compromete no solo su apariencia sino también su valor nutricional, manifestándose en la pérdida de vitaminas, antioxidantes, alteraciones en el equilibrio de azúcares, ácidos orgánicos y cambios en la textura, que pueden resultar en una reducción del contenido de fibra por la pérdida de agua, representando además un reto

para los productores debido a las pérdidas económicas (Zambrano et al., 2020) ;(Agapito et al., 2021). Por ello, el análisis del porcentaje de descomposición en fresas, especialmente aquellas que han sido tratadas con distintos recubrimientos, se vuelve fundamental para evaluar la eficacia de estas técnicas de conservación.

Figura 10. Porcentaje de descomposición



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A) temperatura ambiente durante 8 días (B) refrigeración durante 15 días.

En la Figura 10 A los tratamientos indican un patrón de retardo de descomposición a temperatura ambiente, específicamente, el tratamiento 3 evidenció la menor descomposición entre los tratamientos, alcanzando solo un 37,25%, sugiriendo que este es el más efectivo, mientras que el control mostró un incremento de descomposición que culminó en un 69,05%. Por otro lado, bajo refrigeración, la efectividad de los tratamientos fue aún más pronunciada, con incrementos mucho menores en la descomposición a lo largo del tiempo. En el estudio realizado por Ali et al. (2022), se observó que la aplicación de un recubrimiento de nanopartículas de quitosano, derivado de hojas de guayaba, tuvo un impacto significativo en la preservación de fresas, logrando retrasar de manera notable la descomposición en un 40% en las fresas tratadas con este recubrimiento en comparación con las fresas del grupo control; este hallazgo resalta la efectividad de los biorecubrimientos en la prolongación de la vida útil de productos perecederos como las fresas.

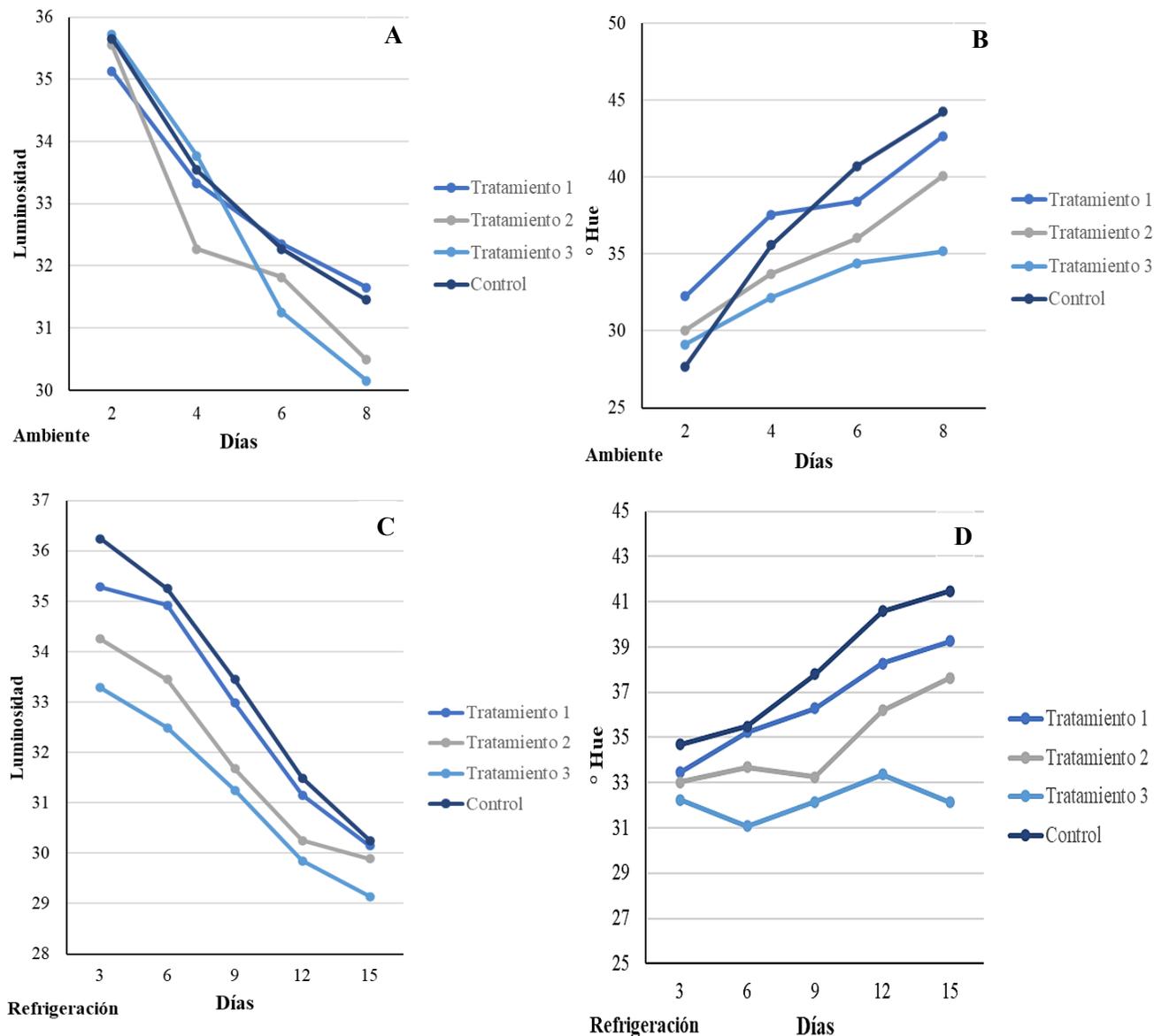
La reducción del % de pudrición por la aplicación de los biorecubrimientos se debió a la restricción parcial del intercambio gaseoso, como oxígeno y dióxido de carbono **(Hosseini et al., 2023)** gracias a las propiedades hidrófobas de la cera de abeja, lo que significa que es capaz de formar una barrera efectiva **(Woch et al., 2022)**; además, se inhibió de cierta manera la generación de gas etileno, el cual promueve el proceso de maduración y senescencia de la fruta, debido a este mecanismo inhibidor, los frutos postcosecha son más resistentes a la pudrición **(Matloob et al., 2023)**; **(Zambrano et al., 2020)** & **(Hosseini et al., 2023)**.

En la actualidad existen muchos estudios que respaldan dicha investigación, tales como: **(Kumarihami et al., 2022)** & **(Md Nor & Ding 2020)** destacando la eficiencia de estos materiales en la extensión de la vida postcosecha de frutas importantes como la fresa, el banano, el mango, la piña y el aguacate, minimizando la pérdida de agua, reduciendo las lesiones por frío, combatiendo enfermedades postcosecha y evitando grandes pérdidas económicas.

3.1.1.4. Color

La tonalidad es una de las cualidades exteriores fundamentales en la comercialización de la fresa, puesto que, se asocia directamente con la calidad del fruto, resultando importante realizar análisis en las fresas recubiertas **(Hopf et al., 2022)**. En las siguientes figuras se muestran los parámetros de luminosidad y ángulo °Hue de las fresas recubiertas más el control.

Figura 11. Parámetros de Luminosidad y Ángulo Hue



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A y B) a temperatura ambiente durante 8 días (C y D) a refrigeración durante 15 días.

La evaluación de las fresas se dio desde un grado de madurez 3 hasta el grado 6, obteniendo cambios significativos asociados con la madurez natural de la fruta (**Katel et al., 2022**). A temperatura ambiente (Figura 11 a y b), la luminosidad disminuyó ligeramente en todos los tratamientos y el control, lo que puede estar asociado con el

oscurecimiento natural de las fresas, a medida que maduran y desarrollan pigmentación más oscuros (**Malekzadeh et al., 2022**). No obstante, en el tratamiento 3 se experimentó una reducción más pronunciada en luminosidad, de 35,72 a 30,15; dicho tratamiento en su composición presenta mayor cantidad de cera de abeja y al secarse con el tiempo, la superficie de las fresas se torna más opaca (**Hosseini et al., 2023**), disminuyendo así su brillo y reflejo de luz; la opacidad incrementada sugiere que el recubrimiento de cera de abeja, aunque sea beneficioso para otros aspectos de la conservación de la fruta, podría no ser ideal para mantener la apariencia de luminosidad deseada durante la maduración. En la investigación de (**Saad et al., 2023**) se reflejan hallazgos similares, particularmente en la disminución de ciertos parámetros de calidad durante el almacenamiento, donde observó una disminución en los valores de luminosidad de 40,71 a 32,87 y 29,09 a temperaturas de 4°C y 10°C, respectivamente.

En cuanto al ángulo Hue, el cual es un indicador del color percibido, hubo un aumento en todos los grupos a temperatura ambiente, lo cual es esperado ya que las fresas tienden a volverse más rojas a medida que maduran (**Malekzadeh et al., 2022**). El control tuvo un aumento más significativo en el ángulo Hue, lo que indica un cambio más pronunciado hacia tonalidades rojas en comparación con los tratamientos, reflejando una maduración más rápida o una mayor actividad enzimática que afecta el color en las fresas sin tratar (**Kim et al., 2023**), concordando con una maduración sin restricciones que se manifiesta en un cambio de color más intenso hacia el rojo profundo. Un ángulo Hue de valores más bajos sugieren tonalidades más verdes, mientras que un ángulo de tono más alto indica tonalidades más rojas.

El tratamiento 3 mostró el menor incremento en este parámetro, obteniendo valores desde 29,12 a 35,17, dicho resultado podría explicarse de la misma manera que en el caso de la luminosidad o indicar que el proceso de maduración se está retrasando debido a la capa aplicada (**Kaur & Kumar, 2022**). Este efecto es menos pronunciado en el tratamiento 1 y tratamiento 2, donde se evidencia un aumento más sustancial del ángulo Hue, reflejando una transición de color más cercana a lo que se esperaría en la maduración sin recubrimientos. Sin embargo (**Saad et al., 2023**), menciona que los cambios de color en

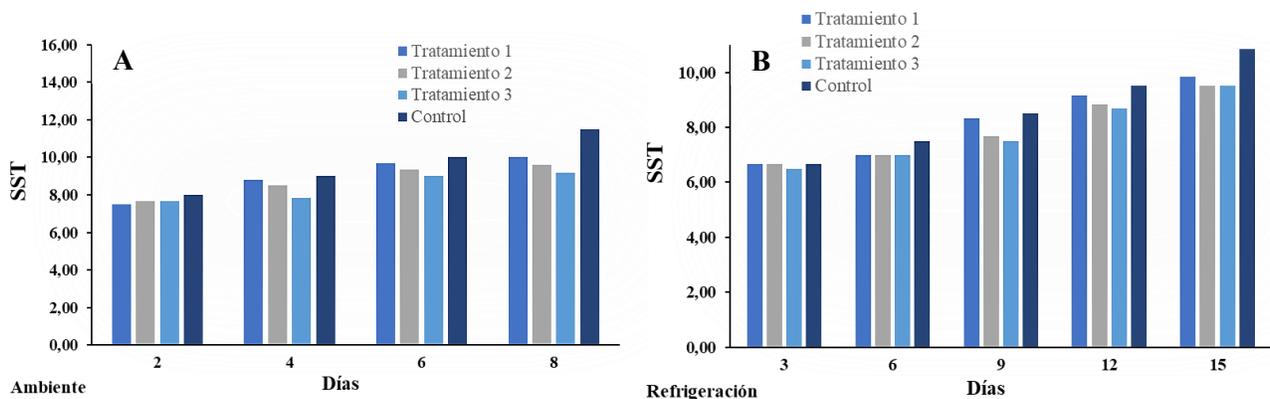
Luminosidad (L^*) pueden ser indicadores de que se ha formado un color rojo oscuro como resultado de la acumulación de licopeno asociada con el sistema de membrana interna.

Bajo refrigeración (Figura 11 c y d), la luminosidad (inicia en 33,29 y cae a 29,14) y el ángulo Hue (desde 33,25 a 32,13), siguieron el mismo patrón de resultados, presentando la mayor diferencia en el tratamiento 3, pero a un ritmo menor, lo que confirma la influencia de la temperatura en la tasa de cambio de color (Kessler et al., 2023).

3.1.1.5. Sólidos solubles totales

La concentración de sólidos solubles totales (SST) es un indicador crucial de la dulzura y de la calidad percibida, lo que influye directamente en las decisiones de compra de los consumidores (Fan et al., 2021). Los SST son compuestos mayoritariamente de azúcares, pero también incluyen ácidos y otros componentes volátiles que contribuyen al sabor característico del fruto; el monitoreo de estos compuestos en fresas recubiertas es esencial, ya que los recubrimientos pueden afectar la maduración y la concentración de azúcares (Yang et al., 2023). En la Figura 12 se presentan los resultados de las mediciones de SST en fresas sometidas a distintos tratamientos.

Figura 12. *Sólidos solubles totales (SST)*



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A) temperatura ambiente durante 8 días (B) refrigeración durante 15 días.

A temperatura ambiente (Figura 12A), se observa que todos los tratamientos, incluido el control, experimentan un incremento en el contenido de sólidos solubles a lo largo de los 8 días, lo que es indicativo de un proceso de maduración continuo (Nguyen et al., 2020); los tratamientos presentan un efecto moderador en este incremento, particularmente el tratamiento 3 mostró una menor progresión en los SST, iniciando en 7.67 y terminando en 9.17, sugiriendo una maduración más controlada en comparación con el grupo de control, que comenzó en 8.00 y escaló hasta 11.50, lo que sugiere una maduración más rápida en ausencia de tratamientos, además, los valores de sólidos solubles totales en los tratamientos son más bajos durante el periodo de evaluación, esto podría interpretarse como una ralentización del proceso de maduración debido a los tratamientos aplicados, favoreciendo a la conservación de la firmeza y retención de agua. (Kim et al., 2023) en su estudio a varios periodos de almacenamiento respaldan estos datos, destacando la importancia del contenido de sólidos solubles totales (SST) como indicador de la dulzura y la calidad percibida en las fresas.

En refrigeración (Figura 12B), se observa que la maduración se desacelera de manera general, con un incremento en el contenido de sólidos solubles en todos los tratamientos y el control a lo largo de los 15 días. Sin embargo, el aumento es menos pronunciado en comparación con la temperatura ambiente, lo que es coherente con la expectativa de que la refrigeración desacelera la maduración de la fruta (Kessler et al., 2023). En nuestro estudio, el grupo control registró un valor de 10.83, coincidiendo notablemente con los hallazgos reportados por (Alvarado et al., 2020), siendo el valor más alto reportado en estas investigaciones.

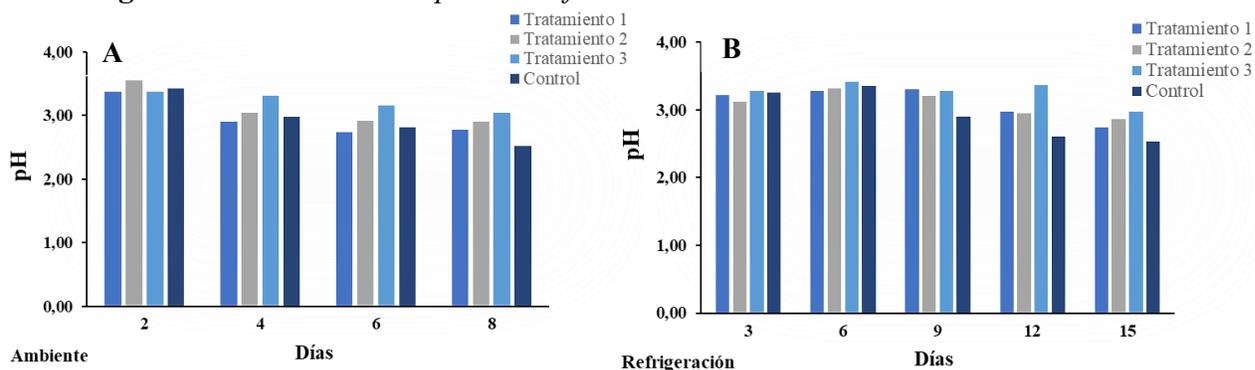
Las altas temperaturas a menudo aumentan los SST, aunque hay algunos informes contrarios (Cervantes et al., 2020); las variaciones en la respuesta a la temperatura podrían deberse a las diferencias en los cultivares, la radiación solar y el momento del muestreo, la concentración de azúcares en las bayas varía según las diferentes plantas, inflorescencias y frutos (Mohmed et al., 2023). En Queensland, disminuyó un $0,313 \pm 0,058\%$ por cada grado Celsius de aumento de temperatura (Menzel, 2022), este valor fue de $0,345\%$ en el campo en Florida (MacKenzie et al., 2011). Además, los azúcares son componentes bioquímicos importantes que afectan las preferencias de los consumidores,

siendo una fuente clave de la percepción humana de los sabores de los alimentos (**Fan et al., 2021**). Para la calidad del sabor, los sólidos solubles totales se consideran como uno de los indicadores más importantes de los sabores de la fresa, (**Preciado et al., 2020**) sugirieron que el dulzor de la fresa está mejor representado por el contenido total de azúcar soluble, mientras que (**Zeliou et al., 2018**) informaron que la relación azúcar-ácido es un factor clave que influye en la calidad sensorial de la fresa.

3.1.1.6. pH

La Figura 13 ilustra cómo varía el pH de las fresas a lo largo del periodo de almacenamiento de las fresas con y sin recubrimiento.

Figura 13. Evaluación del pH en las fresas



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A) temperatura ambiente durante 8 días (B) refrigeración durante 15 días.

La importancia del pH en el almacenamiento de las fresas y transporte es un aspecto crucial en la preservación de su calidad, el conocimiento detallado nos permite entender su susceptibilidad a la descomposición microbiana y su susceptibilidad a la descomposición (**Yang et al., 2018**); un pH bajo, característico de frutas maduras, puede restringir el crecimiento de ciertos microorganismos, aunque también puede incrementar la sensibilidad a pudrición ácida (**Preciado et al., 2020**).

En la Figura 13A, se evidencia una disminución progresiva del pH en todas las muestras a lo largo de los 8 días, el tratamiento 3 mostró un inicio en 3.37 y finalizó en 3.04, manteniendo los valores ligeramente más altos que los otros tratamientos, lo que sugiere

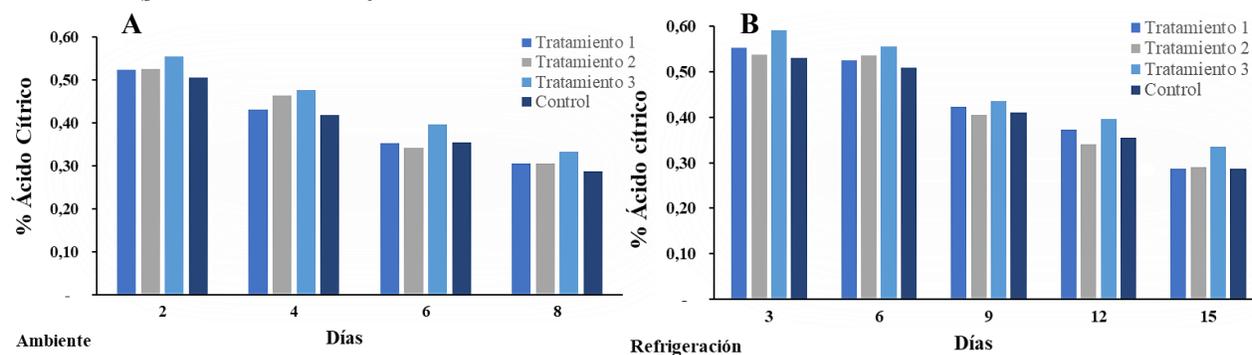
una maduración más lenta. Por otro lado, la caída más marcada en el grupo de control a un pH de 2.52 refleja una mayor actividad en la conversión de azúcares en ácidos, por lo tanto, una maduración más rápida, aunque se encuentra fuera del rango normal de pH que según en el estudio de **(Basak et al., 2022)** es de (3,0-3,5).

En refrigeración (Figura 13B), la disminución del pH es menos acelerada, lo que es coherente con la acción retardante del frío sobre la maduración; similar a las condiciones de temperatura ambiente, el tratamiento 3 se mantuvo dentro de un rango más próximo a los valores ideales, oscilando de 3.27 a 2.97. Así mismo, **(Dam et al., 2021)** estudiaron el efecto de su recubrimiento en fresas a 10 °C y 90% de humedad relativa durante 10 días, obteniendo cambios en el pH de 0,2 para las muestras recubiertas y de 0,4 para las frutas del grupo de control. El estudio de **(Hwang et al., 2019)** demuestra que el contenido de ácido orgánico disminuye a medida que la fruta madura, siendo consistente con la maduración y el desarrollo de las características organolépticas de las fresas. Todos estos cambios se deben a cambios en los azúcares reductores y las sustancias pécticas, que van alterándose durante la maduración de las fresas. Además, **(Das et al., 2021)** mencionan que la utilización de compuestos antimicrobianos, como aceites esenciales en recubrimientos para frutas, es una innovación crucial en su conservación, ya que, estos compuestos retrasan la degradación microbiana, manteniendo el equilibrio del pH y ralentizando los procesos metabólicos al limitar la exposición al oxígeno y al etileno **(Chettri et al., 2023)**.

3.1.1.7. Acidez titulable

La acidez titulable, expresada en porcentaje de ácido cítrico, es un factor determinante en la calidad organoléptica de la fresa, influenciando tanto el gusto como la percepción general del fruto **(Kim et al., 2023)**. En la Figura 14 se muestra el porcentaje de ácido cítrico de las fresas a lo largo de su período de almacenamiento, destacando cómo los recubrimientos afectan este importante indicador de calidad.

Figura 14. Porcentaje en ácido cítrico



Nota. Evaluación de los tres tratamientos y el grupo control (A) temperatura ambiente durante 8 días (B) refrigeración durante 15 días.

El ácido cítrico juega un papel esencial en las fresas, equilibrando la dulzura y la acidez para crear un perfil de sabor distintivo durante la maduración; pasando de una disminución en el contenido de ácido cítrico y un aumento en los azúcares, resultando en un sabor más dulce (Milosavljević et al., 2023). Además, el ácido cítrico interactúa con otros componentes como los polifenoles, afectando no solo el sabor sino también la textura y el aroma de las fresas (Fan et al., 2021).

En la Figura 14A, se observa una tendencia decreciente en el porcentaje de ácido cítrico a medida que las fresas avanzan en madurez. Por ejemplo, el tratamiento 1 comienza con 0,52% y desciende a 0,31%, sin embargo, el tratamiento 3 es el que demuestra una mejor conservación del porcentaje de ácido cítrico, disminuyendo de 0,55% a 0,33% durante el periodo de almacenamiento a temperatura ambiente, exhibiendo una caída más marcada en el tratamiento control. Wang et al. (2021), presenta resultados con una tendencia similar 2,76% a 1,29%, dichos resultados se los puede atribuir a diferencias en variedades de fresas, condiciones de cultivo, o métodos de análisis. Dicha tendencia sugiere una conversión de ácidos en azúcares y otros compuestos durante el proceso de maduración (Muley et al., 2022).

Al analizar los resultados bajo refrigeración en la Figura 14B, la disminución en el porcentaje de ácido cítrico es más lenta, lo que concuerda con (Kaur & Kumar, 2022) que indican que bajas temperaturas ralentizan la maduración. De forma similar, el

Tratamiento 3 también mantiene la acidez dentro del rango deseado, comenzando en 0.59% y terminando en 0.34% después de 15 días. Los datos muestran que después de los días evaluados, los tratamientos y el control mantienen valores dentro del rango esperado para fresas en estado de madurez 6, aunque todos se acercan al límite inferior de este rango. Esto puede ser beneficioso, puesto que, las fresas mantienen una acidez que las sitúa en un estado de madurez deseable por más tiempo, lo cual es preferible para la conservación de la calidad y extensión de la vida útil (Muley et al., 2022). Dichos resultados concuerdan con la tendencia del ácido cítrico a disminuir con el avance de la madurez en las fresas como lo mencionan (Wang et al., 2021; Milosavljević et al., 2023) en sus estudios.

Todos estos valores de acidez también pueden ser influenciados por múltiples factores agrícolas y ambientales, tales como: suelos ricos en materia orgánica y con buen drenaje favorecen la acumulación de ácidos, de igual manera las diferentes variedades de fresas presentan variaciones en su perfil de acidez (Taghavi et al., 2019). Por ejemplo: una acidez adecuada realza el atractivo de la fruta, mientras que los desequilibrios ya sea por exceso o por defecto, pueden disminuir su apetecibilidad (Quintana et al., 2021).

La preservación de las características fisicoquímicas observadas en los diversos ensayos puede atribuirse a las propiedades de los elementos mencionados, los cuales han demostrado ser efectivos en la retención de las cualidades organolépticas de las fresas, determinando un retraso en los procesos de deterioro, contribuyendo a una prolongación del período de comercialización de la fruta. Estos resultados subrayan el potencial de los biorecubrimientos como una estrategia prometedora para extender la vida útil de productos perecederos como la fresa, asegurando así su frescura y calidad por más tiempo tras la cosecha.

3.1.2. Análisis Microbiológico

Los datos numéricos obtenidos se encuentran detallados en el (Anexo 3, Tabla 9 y 10).

Según la ecuación 5, obtuvimos $5 * 10^5$ células/ml en la solución madre:

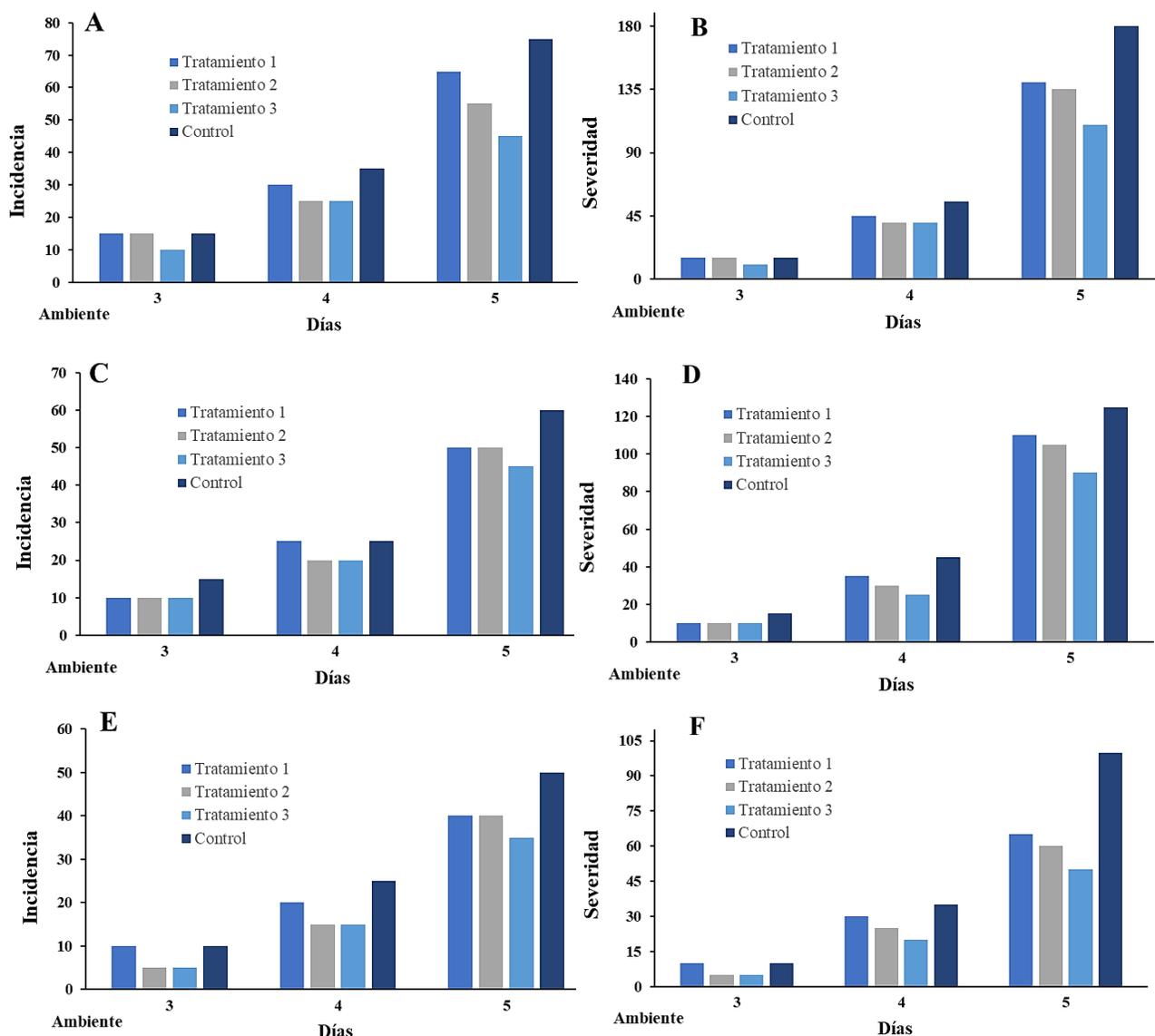
$$\# \text{ Células} = \frac{250}{5} * \frac{1 \text{ cuadro}}{0.1 \text{ mm}^3} * \frac{1000 \text{ m}^3}{1 \text{ cm}^3} * \frac{1 \text{ cm}^3}{\text{ml}} * 1$$

$$\# \text{ Células} = 5 * 10^5 \text{ células/ml}$$

Obteniendo las siguientes en las suspensiones:

1. 1:10 (10^{-1}) = 50000 células/ml
2. 1:100 (10^{-2}) = 5000 células/ml
3. 1:1000 (10^{-3}) = 500 células/ml

Figura 15. Evaluación de las suspensiones de *B. cinerea* a temperatura ambiente

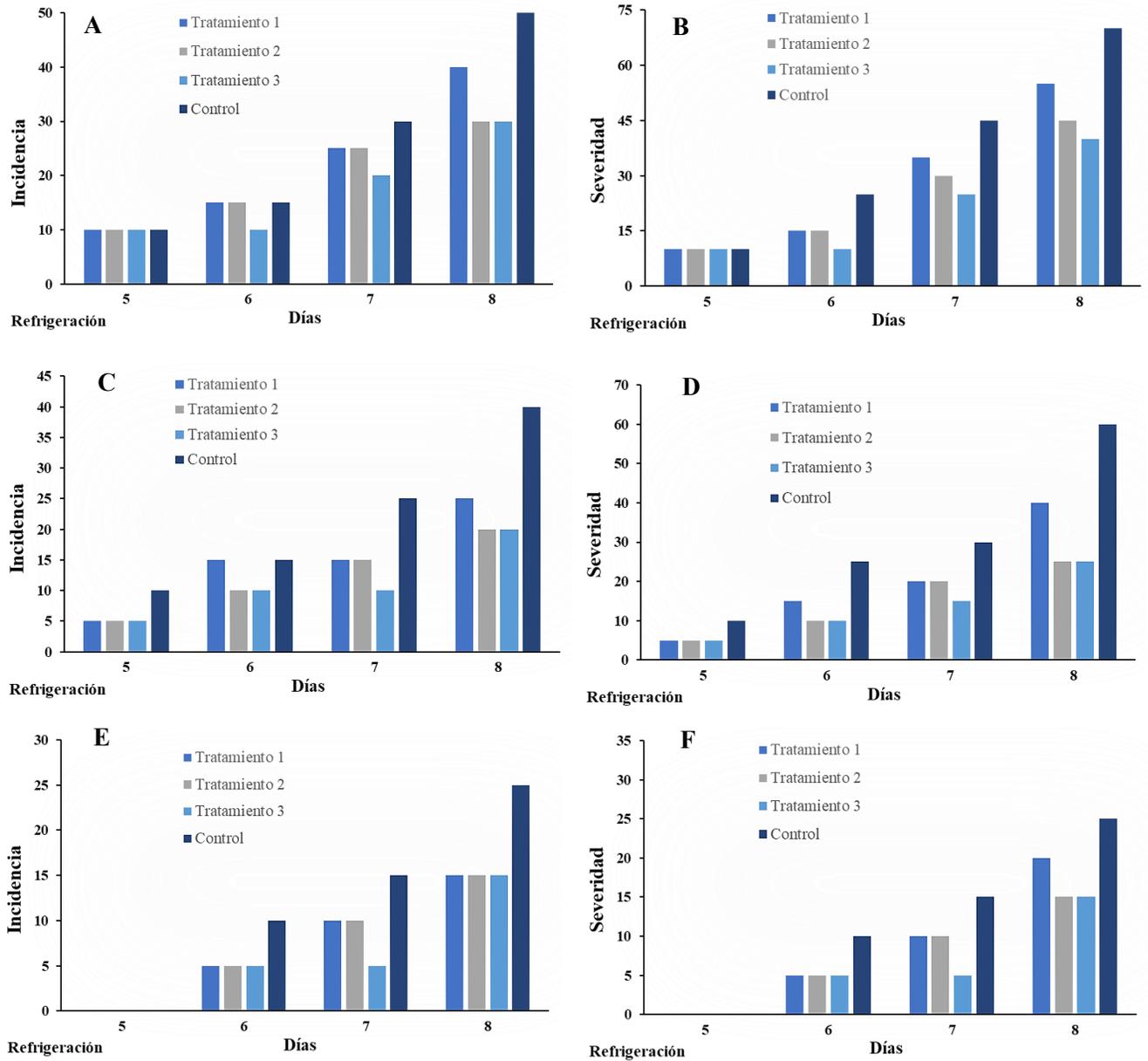


Nota. Evaluación de incidencia y severidad en los tres tratamientos y el grupo control a temperatura ambiente: (A y B) primera suspensión (1:10); (C y D) segunda suspensión (1:100); (E y F) tercera suspensión (1:1000).

Los datos experimentales revelan patrones claros sobre la eficacia de los tratamientos en la contención del hongo *B. cinerea* en las tres suspensiones aplicadas (Figura 15). Con la primera suspensión de conidios, el tratamiento 3 se distinguió desde el tercer día con menores niveles de incidencia y severidad, y mantuvo su eficacia al quinto día, los tratamientos 1, 2 y el control mostraron incrementos significativos en incidencia y severidad, con el control exhibiendo los valores más elevados. En la evaluación de los tratamientos utilizando la segunda suspensión, se observó inicialmente un patrón similar al de la primera suspensión durante los primeros días, sin embargo, al quinto día, el tratamiento 3 emergió como el más efectivo, registrando una incidencia del 45% y una severidad del 90%. En la tercera suspensión, los tratamientos 2 y 3 comenzaron con ventaja, sin embargo, el tratamiento 3 se sostuvo como el más eficiente al quinto día; estos resultados reflejan que el tratamiento 3 es consistentemente el más eficaz en la contención del hongo durante el periodo de estudio a temperatura ambiente. Dichos resultados están corroborados por la prueba LSD de Fisher para incidencia (**Anexo 4, Tabla 11 y 12**), donde el tratamiento 3 no comparte la misma letra de agrupación con el control, indicando una diferencia estadísticamente significativa entre ellos, sugiriendo una superioridad en la contención del hongo.

Adicionalmente, las gráficas de Pareto (**Anexo 4, Figura 26 y 27**) permitieron evidenciar la influencia de los factores aislados (A: Suspensiones, B: Tratamientos, C: Días) y la interacción combinada de los factores AC (Suspensiones y Días) y BC (Tratamientos y Días) en la incidencia y severidad de la enfermedad.

Figura 16. Evaluación de las suspensiones de *B. cinerea* en refrigeración



Nota. Evaluación de incidencia y severidad en los tres tratamientos y el grupo control en refrigeración: (A y B) primera suspensión (1:10); (C y D) segunda suspensión (1:100); (E y F) tercera suspensión (1:1000).

Los tratamientos mostraron síntomas de la enfermedad desde el quinto día en casi todas las suspensiones. Inicialmente, los grupos tratados con la primera suspensión presentaron una incidencia y severidad de 10, sin embargo, al octavo día el tratamiento 3 destacó como el más eficaz, con una incidencia de 30 y severidad de 40, por debajo de los valores más altos del control. Evaluando el efecto de la segunda suspensión, el tratamiento 1 comenzó con una incidencia y severidad de 15, los tratamientos 2 y 3 mostraron la mejor respuesta al final, igualando con una incidencia de 20 y una severidad de 25. Para la última suspensión de conidios, no se detectaron signos iniciales de la enfermedad; sin embargo, después de un ligero aumento al sexto día, los tratamientos 2 y 3 concluyeron como los más efectivos, manteniendo la incidencia y la severidad en 15, más bajos que los del control, estos resultados están de acorde a la prueba LSD de Fisher (**Anexo 5, Tabla 13 y 14**), en donde los tratamientos 2 y 3 no comparte la misma letra de agrupación con el control.

De la misma forma, el análisis realizado a través de las gráficas de Pareto (**Anexo 5, Figuras 30 y 31**) destacó la influencia significativa de los factores individuales (A: Suspensiones, B: Tratamientos, C: Días) así como la de sus interacciones AC (Suspensiones y Días) y BC (Tratamientos y Días) sobre la incidencia y severidad de la enfermedad. Cabe destacar que, a esta temperatura de estudio, el factor de interacción AB (Suspensiones y Tratamientos) también ejerció un efecto notable en la severidad de la enfermedad. Este hallazgo contrasta con los resultados obtenidos a temperatura ambiente, donde dicho factor no mostró una influencia determinante en la severidad de la enfermedad, según se observó en las respectivas gráficas de Pareto. La variación observada puede atribuirse a la influencia de la temperatura, que tiene la capacidad de moderar la velocidad de crecimiento y las funciones metabólicas del patógeno (**Rohr & Cohen, (2020)**), además, la eficacia de los tratamientos es susceptible a fluctuaciones térmicas, puesto que, la estabilidad y las características químicas de los mismos pueden sufrir alteraciones, alternando su modo de acción (**Li et al., 2023**).

En este estudio todos los tratamientos aplicados mostraron una influencia positiva, reflejándose en una disminución significativa de los índices de incidencia y severidad de la infección fúngica, en comparación con el grupo de control. Esta similitud en los

resultados refuerza la validez de las estrategias de control biológico, dicho patrón se observó a lo largo del estudio, sugiriendo que el recubrimiento tuvo un papel clave en la efectividad de los tratamientos, además, se observó un retraso en la progresión de la infección bajo condiciones de refrigeración, lo cual se atribuye al efecto inhibitor de las bajas temperaturas en el desarrollo del hongo, indicando que la refrigeración complementa la acción de los tratamientos, amplificando su eficacia al ralentizar el avance de la enfermedad (**Kessler et al., 2023**). El estudio de (**Hernández et al., 2018**) examinó la eficacia de películas biodegradables de quitosano, cera de abeja, aceites esenciales de canela y clavo al 1% en el control de hongos en papayas. Los resultados de la investigación subrayan la efectividad de estos recubrimientos naturales y aceites esenciales, lo cual contribuyó a prolongar la vida útil y calidad de los frutos de papaya hasta por 19 días. En línea con estos resultados, (**Anaya et al., 2020**) descubrieron que la incorporación de aceites esenciales de canela, naranja y limón a los recubrimientos prolongan significativamente la vida útil de diversas frutas como fresas, pepinos, jujube, pimienta morrón y mango, además de reducir la incidencia de enfermedades causadas por hongos como *B. cinerea*; estos hallazgos de estudios previos, investigan el uso de recubrimientos biodegradables y aceites esenciales para el control de hongos en frutas, corroborando y respaldando los resultados obtenidos en esta investigación.

La efectividad observada en ambas temperaturas se atribuye a las propiedades protectoras de los materiales utilizados en los biorecubrimientos desarrollados, los cuales integran varios componentes. El principal, la cera de abeja actúa como una barrera natural, sellando eficazmente la superficie de la fresa, esta capa impide la infiltración de esporas, la acumulación de humedad, ayudando a repeler el agua y manteniendo la superficie menos propensa al desarrollo fúngico (**Cruz et al., 2021**). Por su parte, el aceite de nuez aporta ácidos grasos y tocoferoles, conocidos por sus propiedades antioxidantes, aunque su rol antimicrobiano no es ampliamente reconocido, se cree que estos componentes contribuyen a la estabilidad del recubrimiento (**Li et al., 2023**).

Para reforzar la conservación de alimentos, hemos integrado el uso de aceites esenciales, reconocidos por sus robustas propiedades en la preservación de alimentos, incluyendo frutas y vegetales; estos aceites son valorados por su capacidad antimicrobiana, la cual

inhibe eficazmente el crecimiento de bacterias y hongos, previniendo así la el deterioro de los productos, además, las propiedades antioxidantes de estos aceites, son esenciales para neutralizar los radicales libres, protegiendo a los alimentos de la oxidación que podría llevar a la rancidez y a la degradación de su valor nutricional; por último, se los reconoce por su acción antifúngica, retrasando o inhibiendo el avance de mohos y levaduras **(Teixeira et al., 2022)**. En particular, hemos seleccionado el aceite esencial de orégano, distinguido por su robusta actividad antibacteriana y antifúngica; los agentes activos presentes en su composición como el carvacrol y timol son los protagonistas, desestabilizando la membrana celular de patógenos y conduciéndolos a la lisis celular **(Pontes et al., 2021)**; complementariamente, el aceite esencial de clavo de olor, enriquecido con eugenol, exhibe un fuerte efecto antimicrobiano, dicho compuesto ataca directamente la membrana y estructuras internas del hongo, inhibiendo su crecimiento o induciendo la muerte celular **(Debonne et al., 2022)**. Estos componentes actúan conjuntamente para brindar una solución multifacética en la lucha contra la proliferación de *B. cinerea* **(Wińska et al., 2019)**. Esta estrategia ofrece una alternativa natural y eficaz en comparación con estudios que utilizan fungicidas químicos, como el realizado por **(El-Morsy et al., 2022)**, que emplea pirimetanil, difenoconazol y azoxistrobina para controlar la infección por *B. cinerea*.

Además, los recubrimientos aplicados en las fresas generan una barrera más seca en superficie, lo que parece inhibir el crecimiento del hongo *B. cinerea*, dicha observación está en línea con hallazgos de investigaciones sobre recubrimientos comestibles, que destacan su función como barreras para el intercambio gaseoso y su capacidad de proporcionar protección antimicrobiana **(Espinoza, 2020)**. Adicionalmente, se ha notado que la disminución de los valores de pH en las frutas tratadas con estas películas de recubrimiento ayuda a preservarlas contra el crecimiento de hongos y bacterias, evidenciando así la eficacia de estas técnicas en la conservación de alimentos frescos **(Eshetu et al., 2019)**.

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se ha llevado con éxito el desarrollo de los biorecubrimientos, combinando componentes naturales como: cera de abeja, aceite de nuez, aceites esenciales de orégano y clavo de olor, estos recubrimientos no solo representan una alternativa ecológica a los productos sintéticos, también ofrecen propiedades antimicrobianas, gracias a los aceites esenciales incorporados; la versatilidad y eficacia de estos biorecubrimientos se demuestra en su capacidad para adaptarse a diferentes tipos de productos, lo que sugiere un amplio espectro de aplicaciones potenciales en la industria alimentaria y de empaques.
- Los tres tratamientos evaluados lograron aumentar la vida útil de las fresas, por 8 días a temperatura ambiente y 15 días en refrigeración, los ensayos realizados han demostrado que el uso de biorecubrimientos es una técnica prometedora para la conservación de fresas, sin embargo, el tratamiento 3, demostró resultados sobresalientes en términos de conservación y mantenimiento de las cualidades fisicoquímicas de las fresas a temperatura ambiente y refrigeración, este tratamiento incluye cera de abeja (10%) para reducir la pérdida de humedad y la transferencia de gases, aceite de nuez (42%) que aporta ácidos grasos para la integridad del recubrimiento y conservación de lípidos de las fresas, glicerol (9%) que actúa como plastificante manteniendo la suavidad de la fruta. Por otro lado, los aceites esenciales de orégano y clavo de olor (0.2% cada uno) proporcionan propiedades antimicrobianas y antifúngicas, esenciales para prevenir la descomposición, mientras que, el Tween 80 (1%) asegura una distribución uniforme de los componentes, por último, el agua (37.6%) actúa como solvente para los demás componentes, facilitando la aplicación del recubrimiento sobre las fresas. Sin embargo, se observó que este tratamiento afecta negativamente la apariencia de las fresas, dando lugar a tonos más opacos, posiblemente debido a la capa más gruesa de cera de abeja.

- La investigación sobre el efecto antimicrobiano de los biorecubrimientos formulados mostró una notable eficacia contra el hongo *B. cinerea* en condiciones de temperatura ambiente (17 - 22) °C, los tratamientos 2 y 3 demostraron ser barreras protectoras efectivas hasta el tercer día, especialmente contra la segunda y tercera suspensión de conidios, en donde, los resultados indicaron una incidencia y severidad de 10 para el tratamiento 2 y de 5 para el tratamiento 3 al tercer día, lo cual se atribuye a una disminución en la tasa de crecimiento del hongo bajo estas condiciones específicas de temperatura. En refrigeración (4 – 7) °C, se observó una protección mejorada; con la primera suspensión de conidios, los tratamientos proporcionaron una mayor protección hasta el quinto día, con la segunda y tercera suspensión, la eficacia de los recubrimientos se extendió, demostrando que las fresas pueden mantenerse aptas para el consumo hasta el sexto día. Estos hallazgos son cruciales para los productores y distribuidores, puesto que, los recubrimientos pueden ser una solución viable para preservar la calidad de las fresas durante la distribución y venta, reduciendo potencialmente el desperdicio y mejorando la rentabilidad; la variabilidad en la eficacia observada entre diferentes formulaciones subraya la importancia de entender las interacciones entre los componentes del biorecubrimiento y el patógeno, para optimizar la protección y extender la vida útil de las fresas postcosecha.

4.2. Recomendaciones

- Para lograr una correcta formación de la emulsión, es fundamental mezclar por separado los componentes oleosos y acuosos, luego se debe verter gradualmente la fase acuosa sobre la oleosa mientras se mantiene una agitación constante durante varios minutos, esta técnica de mezclado asegura una unión adecuada de las fases, favoreciendo así la formación estable de la emulsión. Además, para una evaluación exhaustiva de los biorecubrimientos, se podría evaluar la eficacia y durabilidad de los biorecubrimientos en varias condiciones de transporte. Así mismo, es importante explorar la aplicación de estos recubrimientos en una variedad de

productos alimenticios para comprender mejor su rango de efectividad y posibles limitaciones. Finalmente, establecer colaboraciones con empresas del sector alimentario y de empaques podría ser muy beneficioso, permitiendo realizar pruebas piloto y adaptar los biorecubrimientos a las necesidades específicas del mercado.

- Dada la eficacia del tratamiento 3 en la conservación de las fresas y teniendo en cuenta el impacto negativo en su apariencia, se recomienda investigar métodos para optimizar la formulación del biorecubrimiento, esto podría incluir la reducción de la concentración de cera de abeja o la incorporación de otros componentes que no alteren significativamente el color de las fresas.
- Impulsar el estudio de los biorecubrimientos para perfeccionar sus composiciones, enfocándose en maximizar su eficacia antimicrobiana contra *B. cinerea*, esto podría incluir ajustes en las concentraciones de aceites esenciales y la exploración de otros componentes naturales con propiedades antimicrobianas conocidas, además, sería beneficioso realizar ensayos a mayor escala y bajo diferentes condiciones ambientales para evaluar la consistencia de los biorecubrimientos en entornos reales de cultivo y almacenamiento. Por último, estudiar la integración de estos biorecubrimientos en sistemas de manejo integrado de plagas, en donde, se podría proporcionar una solución más integral y sostenible para el control de enfermedades en la agricultura.

A. MATERIALES DE REFERENCIA

- Agapito, A. R., Amaro, B., Díaz, G., Acosta, M. de L., Aguilar, L., García, E., & Téllez, M. (2021). Edible coatings for strawberry based on extracellular compounds of *Humphreya coffeata*. *BioResources*, *16*(3), 5556–5573. <https://doi.org/10.15376/biores.16.3.5556-5573>
- Aguilera, J. M., & Toledo, T. (2022). Wild berries and related wild small fruits as traditional healthy foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–15. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2156475>
- Ait Ihaj, Z., Bchitou, R., Gaboun, F., Abdelwahd, R., Benabdelouahab, T., Kabbour, M. R., Pare, P., Diria, G., & Bakhy, K. (2021). Moroccan Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Fruits: Nutritional Value and Mineral Composition. *Foods*, *10*(10), 2263. <https://doi.org/10.3390/foods10102263>
- Ali, L. M., Ahmed, A. E. A. E., Hasan, H. E., Suliman, A. E. E., & Saleh, S. S. (2022). Quality characteristics of strawberry fruit following a combined treatment of laser sterilization and guava leaf-based chitosan nanoparticle coating. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *9*(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00343-x>
- Alvarado-, Y.A., Mendoza, R., Sandoval, A., Vega, J.L., & Franco, I. (2020). Calidad fisicoquímica y sensorial de frutos de fresas obtenidos en dos sistemas de cultivo. *RIIIT. Revista internacional de investigación e innovación tecnológica*, *8*(43), 18-29. Epub 05 de febrero de 2021. Recuperado en 28 de diciembre de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-97532020000200002&lng=es&tlng=es.
- Alvarez, M. V., Pérez, M. B., Taberner, V., Settier, L., Martínez, V., & Palou, L. (2023). Postharvest Application of Novel Bio-Based Antifungal Composite Edible Coatings to Reduce Sour Rot and Quality Losses of ‘Valencia’ Oranges. *Coatings*, *13*(8), 1412. <https://doi.org/10.3390/coatings13081412>
- Anaya, L. M., Pérez, A., Ruvalcaba, J. M., Sánchez, J. A., Romero, R., & Montalvo, E. (2020). Funcionalización de los recubrimientos a base de quitosano para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. *TIP Revista Especializada En*

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.241>

- Asao, T., & Assaduzzaman, M. (2019). *Strawberry - Pre- and Post-Harvest Management Techniques for Higher Fruit Quality*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.73748>
- Baldwin, E. A., Hagenmaier, R. D., & Bai, Jinhe. (2012). *Edible coatings and films to improve food quality*. (pp. 221-237). CRC Press.
- Barrazueta, S., Falconí, J., Navarro, M, Oleas, J., & Mendoza, G. (2018). Physicochemical properties and application of edible coatings in strawberry (*Fragaria x Ananassa*) preservation. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 71(3), 8631–8641. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v71n3.73548>
- Basak, J. K., Madhavi, B. G. K., Paudel, B., Kim, N. E., & Kim, H. T. (2022). Prediction of Total Soluble Solids and pH of Strawberry Fruits Using RGB, HSV and HSL Colour Spaces and Machine Learning Models. *Foods*, 11(14), 2086. <https://doi.org/10.3390/foods11142086>
- Baswal, A. K., Dhaliwal, H. S., Singh, Z., Mahajan, B., Kalia, A., & S Gill, K. (2020). Influence of carboxy methylcellulose, chitosan and beeswax coatings on cold storage life and quality of Kinnow mandarin fruit. *Scientia Horticulturae*, 260, 108887. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108887>
- Blancas, F., Aguirre, L., Moreno, C., Fonseca, Á., Romero, L. del C., & González, R. (2022). Impact of edible coatings on quality of fruits: A review. *Food Control*, 139, 109063. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109063>
- Brizzolara, S., Manganaris, G. A., Fotopoulos, V., Watkins, C. B., & Tonutti, P. (2020). Primary Metabolism in Fresh Fruits During Storage. *Frontiers in Plant Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00080>
- Calderón Ordaz, A. K. (2018). Modelo de escalamiento en el proceso de investigación y desarrollo (I+ D) de una formulación sanitizante para fresa (*Fragaria x ananassa*, Duch).

- Cervantes, L., Ariza, M. T., Miranda, L., Lozano, D., Medina, J. J., Soria, C., & Martínez-Ferri, E. (2020). Stability of Fruit Quality Traits of Different Strawberry Varieties under Variable Environmental Conditions. *Agronomy*, *10*(9), 1242. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091242>
- Chettri, S., Sharma, N., & Mohite, A. M. (2023). Edible coatings and films for shelf-life extension of fruit and vegetables. *Biomaterials Advances*, *154*, 213632. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213632>
- Cruz, L., Escobar, K., Flores, M., Urbina, M. E., & Vázquez, A. (2021). Recubrimientos con cera de abeja, extractos de ajo y sauce para aumentar la vida postcosecha del banano Gran Enano. *Informador Técnico*, *85*(2). <https://doi.org/10.23850/22565035.3685>
- Dadzie, R. G., Ampofo-Asiama, J., Quaye, B., Kizzie-Hayford, N., Amoako-Andoh, F., Abano, E. E., & Amoah, R. S. (2023). Effect of Beeswax Coating on the Quality of Eggplant Fruit During Cold Storage and Optimization of Coating Conditions. *Journal of Food Quality*, *2023*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2023/5879085>
- Dam, M. S., To, X. T., Le, Q. T. P., Nguyen, L. L. P., Friedrich, L., Hitka, G., Zsom, T., Nguyen, T. C. T., Huynh, C. Q., Tran, M. D. T., & Nguyen, V. D. (2021). Postharvest quality of hydroponic strawberry coated with chitosan-calcium gluconate. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, *16*(S2), 141–151. <https://doi.org/10.1556/446.2020.20016>
- Das, S., Ghosh, A., & Mukherjee, A. (2021). Nanoencapsulation-Based Edible Coating of Essential Oils as a Novel Green Strategy Against Fungal Spoilage, Mycotoxin Contamination, and Quality Deterioration of Stored Fruits: An Overview. *Frontiers in Microbiology*, *12*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.768414>
- Debonne, E., Yilmaz, M. S., Sakiyan, O., & Eeckhout, M. (2022). Comparison of antifungal activity of essential oils of clove, lemongrass and thyme for natural preservation of dried apricots. *Food Science and Technology International*, *28*(7), 641–649. <https://doi.org/10.1177/10820132211049603>
- Dong, W., Lu, Y., Yang, T., Trouth, F., Lewers, K. S., Daughtry, C. S. T., & Cheng, Z.-M. (2020). Effect of Genotype and Plastic Film Type on Strawberry Fruit Quality

- and Post-Harvest Shelf Life. *International Journal of Fruit Science*, 20(4), 750–767. <https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1673873>
- Du, Y., Yang, F., Yu, H., Yao, W., & Xie, Y. (2022). Controllable Fabrication of Edible Coatings to Improve the Match Between Barrier and Fruits Respiration Through Layer-by-Layer Assembly. *Food and Bioprocess Technology*, 15(8), 1778–1793. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02848-7>
- El-Morsy, M., Koriem, A., Tawfik, A., & Elian, mohamed. (2022). Studies on Strawberry Fruit Rot Incited by *Botrytis cinerea*. *Journal of Productivity and Development*, 27(3), 331–338. <https://doi.org/10.21608/jpd.2022.255045>
- Eshetu, A., Ibrahim, A. M., Forsido, S. F., & Kuyu, C. G. (2019). Effect of beeswax and chitosan treatments on quality and shelf life of selected mango (*Mangifera indica* L.) cultivars. *Heliyon*, 5(1), e01116. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e01116>
- Espinoza, P. J. (2020). Recubrimiento Comestible para la Conservación de Frutas y Verduras: Una Revisión. *InfoANALÍTICA*, 150–179. <https://doi.org/10.26807/ia.vi.181>
- Fan, Z., Hasing, T., Johnson, T. S., Garner, D. M., Schwieterman, M. L., Barbey, C. R., Colquhoun, T. A., Sims, C. A., Resende, M. F. R., & Whitaker, V. M. (2021). Strawberry sweetness and consumer preference are enhanced by specific volatile compounds. *Horticulture Research*, 8(1), 66. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00502-5>
- FAOSTAT. (2023). Food and Agriculture Data. <https://www.fao.org/faostat/es/#data/QCL/visualize>
- Fierascu, R. C., Temocico, G., Fierascu, I., Ortan, A., & Babeanu, N. E. (2020). *Fragaria* Genus: Chemical Composition and Biological Activities. *Molecules*, 25(3), 498. <https://doi.org/10.3390/molecules25030498>
- Gupta, G., & Anjali, K. (2023). Environmentally Friendly Beeswax: Properties, Composition, Adulteration, and its Therapeutic Benefits. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1110(1), 012041. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1110/1/012041>

- Hernández, M., Guillén, M., Bautista, S., & Guillén D. (2018). Evaluación de películas biodegradables en el control de hongos postcosecha de la papaya. *Cultivos Tropicales*, 39(1), 52-60. Recuperado en 04 de enero de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-593620180001000006&lng=es&tlng=es.
- Hidrobo, J., Ramírez, D. X., Barriga, N., Herrera, K., & León, A. (2022). First report of *Neopestalotiopsis mesopotamica* causing root and crown rot on strawberry in Ecuador. *Plant Disease*, 106(3), 1066. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-21-1278-PDN>
- Hopf, A., Boote, K. J., Plotto, A., Asseng, S., Zhao, X., Shelia, V., & Hoogenboom, G. (2022). Dynamic Prediction of Preharvest Strawberry Quality Traits as a Function of Environmental Factors. *HortScience*, 57(10), 1336–1355. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16655-22>
- Hosseini, S. F., Mousavi, Z., & McClements, D. J. (2023). Beeswax: A review on the recent progress in the development of superhydrophobic films/coatings and their applications in fruits preservation. *Food Chemistry*, 424, 136404. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136404>
- Huacon, R. (2020). Desarrollo Morfológico y Rendimiento de tres variedades de fresa mediante un sistema hidropónico NFT Cantón Guayaquil. *Guayas (Doctoral dissertation, Universidad Agraria del Ecuador)*. <http://181.198.35.98/Archivos/HUACON%20COELLO%20RUBEN%20DARIO.pdf>
- Hwang, H., Kim, Y.-J., & Shin, Y. (2019). Influence of ripening stage and cultivar on physicochemical properties, sugar and organic acid profiles, and antioxidant compositions of strawberries. *Food Science and Biotechnology*, 28(6), 1659–1667. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00610-y>
- Ikegaya, A., Ohba, S., Nakajima, T., Toyozumi, T., Ito, S., & Arai, E. (2020). Practical long-term storage of strawberries in refrigerated containers at ice temperature. *Food Science & Nutrition*, 8(9), 5138–5148. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1817>

- Iñiguez, M., Ragazzo, J. A., & Calderón, M. (2021). An Extensive Review of Natural Polymers Used as Coatings for Postharvest Shelf-Life Extension: Trends and Challenges. *Polymers*, *13*(19), 3271. <https://doi.org/10.3390/polym13193271>
- Jafarzadeh, S., Mohammadi Nafchi, A., Salehabadi, A., Oladzad-abbasabadi, N., & Jafari, S. M. (2021). Application of bio-nanocomposite films and edible coatings for extending the shelf life of fresh fruits and vegetables. *Advances in Colloid and Interface Science*, *291*, 102405. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102405>
- Kahramanoğlu, İ., Panfilova, O., Kesimci, T. G., Bozhüyük, A. U., Gürbüz, R., & Alptekin, H. (2022). Control of Postharvest Gray Mold at Strawberry Fruits Caused by *B. cinerea* and Improving Fruit Storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. Volatile Essential Oils. *Agronomy*, *12*(2), 389. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020389>
- Katel, S., Mandal, H. R., Kattel, S., Yadav, S. P. S., & Lamshal, B. S. (2022). Impacts of plant growth regulators in strawberry plant: A review. *Heliyon*, *8*(12), e11959. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11959>
- Kaur, K., & Kumar, A. (2022). Enhancement of strawberry shelf life with coating: A review. *Modern Phytomorphology*, *16*, 44–48. <https://phytomorphology.org/>.
- Kessler, S. J., Cooksey, K., Pometto, A. L., Hurley, A., & Bridges, W. (2023). Shelf-Life Extension of Fresh Strawberries Packaged in Vented Clamshells through an In-Package Widget Designed to Promote Chlorine Dioxide Gas Distribution. *ACS Food Science & Technology*, *3*(3), 394–403. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00225>
- Khammayom, N., Maruyama, N., Chaichana, C., & Hirota, M. (2022). Impact of environmental factors on energy balance of greenhouse for strawberry cultivation. *Case Studies in Thermal Engineering*, *33*, 101945. <https://doi.org/10.1016/j.csite.2022.101945>
- Kim, D.-S., Park, K.-J., Choi, J. H., Lim, J.-H., & Kim, H.-J. (2023). Metabolomic analysis of strawberries at different maturities according to postharvest storage period. *Scientia Horticulturae*, *321*, 112283. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112283>

- Kocira, A., Kozłowicz, K., Panasiewicz, K., Staniak, M., Szpunar-Krok, E., & Hortyńska, P. (2021). Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality—A Review. *Agronomy*, *11*(5), 813. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>
- Kuchi S., & Sharavani S., (2019). Fruit Physiology and Postharvest Management of Strawberry. In *Strawberry - Pre- and Post-Harvest Management Techniques for Higher Fruit Quality* (pp. 1–23). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84205>
- Kumarihami, H. M. P. C., Kim, Y.-H., Kwack, Y.-B., Kim, J., & Kim, J. G. (2022). Application of chitosan as edible coating to enhance storability and fruit quality of Kiwifruit: A Review. *Scientia Horticulturae*, *292*, 110647. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110647>
- Lakhawat, S. S., Sharma, P. K., Kumar, S., Pandey, A., & Kumar, V. (2023). Deciphering the Plasticizers for the Development of Polysaccharide based Biodegradable Edible Coatings. *Current Nutrition & Food Science*, *19*(6), 582–589. <https://doi.org/10.2174/1573401318666220908105130>
- Leyva, N., Gutiérrez, E. P., Vazquez, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *22*(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Li, H., Han, J., Zhao, Z., Tian, J., Fu, X., Zhao, Y., Wei, C., & Liu, W. (2023). Roasting treatments affect oil extraction rate, fatty acids, oxidative stability, antioxidant activity, and flavor of walnut oil. *Frontiers in Nutrition*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1077081>
- Li, T., Zhou, J., & Li, J. (2023). Combined effects of temperature and humidity on the interaction between tomato and *Botrytis cinerea* revealed by integration of histological characteristics and transcriptome sequencing. *Horticulture Research*, *10*(2). <https://doi.org/10.1093/hr/uhac257>
- Li, Y., Rokayya, S., Jia, F., Nie, X., Xu, J., Elhakem, A., Almatrafi, M., Benajiba, N., & Helal, M. (2021). Shelf-life, quality, safety evaluations of blueberry fruits coated

with chitosan nano-material films. *Scientific Reports*, 11(1), 55. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80056-z>

- Liu, T., Li, M., Liu, Z., Ai, X., & Li, Y. (2021). Reannotation of the cultivated strawberry genome and establishment of a strawberry genome database. *Horticulture Research*, 8(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00476-4>
- Liu, T., Li, M., Liu, Z., Ai, X., & Li, Y. (2021). Reannotation of the cultivated strawberry genome and establishment of a strawberry genome database. *Horticulture Research*, 8(1), 41. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00476-4>
- Liu, Z., Liang, T., & Kang, C. (2023). Molecular bases of strawberry fruit quality traits: Advances, challenges, and opportunities. *Plant Physiology*, 193(2), 900–914. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad376>
- Lv, J., Zheng, T., Song, Z., Pervaiz, T., Dong, T., Zhang, Y., Jia, H., & Fang, J. (2022). Strawberry Proteome Responses to Controlled Hot and Cold Stress Partly Mimic Post-harvest Storage Temperature Effects on Fruit Quality. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.812666>
- MacKenzie, S. J., Chandler, C. K., Hasing, T., & Whitaker, V. M. (2011). The Role of Temperature in the Late-season Decline in Soluble Solids Content of Strawberry Fruit in a Subtropical Production System. *HortScience*, 46(11), 1562–1566. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.11.1562>
- Malekzadeh, M. R., Esmailizadeh, M., Roosta, H. R., Dąbrowski, P., Telesiński, A., & Kalaji, H. M. (2022). Supplemental light application can improve the growth and development of strawberry plants under salinity and alkalinity stress conditions. *Scientific Reports*, 12(1), 9272. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12925-8>
- Martinsen, B. K., Aaby, K., & Skrede, G. (2020). Effect of temperature on stability of anthocyanins, ascorbic acid and color in strawberry and raspberry jams. *Food Chemistry*, 316, 126297. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126297>
- Massoud, R., Khodaeii, D., Hamidi-Esfahani, Z., & Khosravi-Darani, K. (2023). The effect of edible probiotic coating on quality of fresh fruits and vegetables: fresh strawberries as a case study. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(4), 2517–2526. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01332-0>

- Matloob, A., Ayub, H., Mohsin, M., Ambreen, S., Khan, F. A., Oranab, S., Rahim, M. A., Khalid, W., Nayik, G. A., Ramniwas, S., & Ercisli, S. (2023). A Review on Edible Coatings and Films: Advances, Composition, Production Methods, and Safety Concerns. *ACS Omega*, 8(32), 28932–28944. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c03459>
- Md Nor, S., & Ding, P. (2020). Trends and advances in edible biopolymer coating for tropical fruit: A review. *Food Research International*, 134, 109208. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109208>
- Menzel, C. M. (2022). Effect of Temperature on Soluble Solids Content in Strawberry in Queensland, Australia. *Horticulturae*, 8(5), 367. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050367>
- Milani, J. M., & Nemati, A. (2022). Lipid-Based Edible Films and Coatings: A Review of Recent Advances and Applications. *Journal of Packaging Technology and Research*, 6(1), 11–22. <https://doi.org/10.1007/s41783-021-00130-3>
- Milosavljević, D., Maksimović, V., Milivojević, J., Djekić, I., Wolf, B., Zuber, J., Vogt, C., & Dragišić Maksimović, J. (2023). Sugars and Organic Acids in 25 Strawberry Cultivars: Qualitative and Quantitative Evaluation. *Plants*, 12(12), 2238. <https://doi.org/10.3390/plants12122238>
- Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAGAP). (2020). *Productores de fresa, de Tungurahua, buscan obtener certificación BPA*. <https://www.agricultura.gob.ec/productores-de-fresa-de-tungurahua-buscanobtener-certificacion-bpa/>
- Ministerio de Ambiente, Agua y Transición Ecológica (MAATE). (2023). *Resolución No. 001: Por la cual se establece el Reglamento del Comité de Calificación y Certificación de Programas, Fondos y/o Proyectos de Prevención, Protección, Conservación, Bioemprendimientos, Restauración y Reparación Ambiental*. Recuperado de <https://www.ambiente.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2023/02/Resolucion-001.pdf>

- Mohmed, G., Heynes, X., Naser, A., Sun, W., Hardy, K., Grundy, S., & Lu, C. (2023). Modelling daily plant growth response to environmental conditions in Chinese solar greenhouse using Bayesian neural network. *Scientific Reports*, *13*(1), 4379. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30846-y>
- Moreno, C., & Sotelo, A. K. (2020). Predicción del crecimiento del hongo *Botrytis spp* en fresa *Fragaria ananassa* por medio de termografía infrarroja. Universidad de La Salle. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/ing_alimentos/720
- Muley, A. B., & Singhal, R. S. (2020). Extension of postharvest shelf life of strawberries (*F. ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chemistry*, *329*, 127213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127213>
- Muley, A. B., Kedia, P., Pegu, K., Kausley, S. B., & Rai, B. (2022). Analyzing the physical and biochemical changes in strawberries during storage at different temperatures and the development of kinetic models. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *16*(1), 222–247. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01146-8>
- Nasrin, T. A. A., Arfin, M. S., Rahman, Md. A., Molla, M. M., Sabuz, A. A., & Matin, M. A. (2023). Influence of novel coconut oil and beeswax edible coating and MAP on postharvest shelf life and quality attributes of lemon at low temperature. *Measurement: Food*, *10*, 100084. <https://doi.org/10.1016/j.meafao.2023.100084>
- Nguyen, V. T. B., Nguyen, D. H. H., & Nguyen, H. V. H. (2020). Combination effects of calcium chloride and nano-chitosan on the postharvest quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Postharvest Biology and Technology*, *162*, 111103. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111103>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimentos*. Roma. Recuperado de <https://www.fao.org/3/ca6030es/CA6030ES.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2021). *Crops and Livestock Products: Strawberries*. FAOSTAT. Recuperado de <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

- Organización mundial de la Salud (OMS). (2018). *Food Additives*. Recuperado de <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-additives>
- Organización mundial de la Salud (OMS). (2019). *Global strategy for improving nutrition, physical activity and health*. Geneva: WHO Press. Recuperado de https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43035/9241592222_eng.pdf;jsessionid=2B802153E57F81D8D8F63E63C0510F56?sequence=1
- Palumbo, M., Cozzolino, R., Laurino, C., Malorni, L., Picariello, G., Siano, F., Stocchero, M., Cefola, M., Corvino, A., Romaniello, R., & Pace, B. (2022). Rapid and Non-Destructive Techniques for the Discrimination of Ripening Stages in Candonga Strawberries. *Foods*, *11*(11), 1534. <https://doi.org/10.3390/foods11111534>
- Pandey, V. K., Islam, R. U., Shams, R., & Dar, A. H. (2022). A comprehensive review on the application of essential oils as bioactive compounds in Nano-emulsion based edible coatings of fruits and vegetables. *Applied Food Research*, *2*(1), 100042. <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100042>
- Petrasch, S., Knapp, S. J., van Kan, J. A. L., & Blanco-Ulate, B. (2019). Grey mould of strawberry, a devastating disease caused by the ubiquitous necrotrophic fungal pathogen *B. cinerea*. *Molecular Plant Pathology*, *20*(6), 877–892. <https://doi.org/10.1111/mpp.12794>
- Pham, T. T., Nguyen, L. L. P., Dam, M. S., & Baranyai, L. (2023). Application of Edible Coating in Extension of Fruit Shelf Life: Review. *AgriEngineering*, *5*(1), 520–536. <https://doi.org/10.3390/agriengineering5010034>
- Pontes, G. M., Esteban, S., Pérez, J., Aguilar, M. R., & Vázquez, B. (2021). Oregano Essential Oil Micro- and Nanoencapsulation With Bioactive Properties for Biotechnological and Biomedical Applications. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.703684>
- Preciado, P., Troyo, E., Valdez, L. A., García, J. L., & Luna, J. G. (2020). Interactive Effects of the Potassium and Nitrogen Relationship on Yield and Quality of Strawberry Grown Under Soilless Conditions. *Plants*, *9*(4), 441. <https://doi.org/10.3390/plants9040441>

- Qiao, Q., Edger, P. P., Xue, L., Qiong, L., Lu, J., Zhang, Y., Cao, Q., Yocca, A. E., Platts, A. E., Knapp, S. J., van Montagu, M., van de Peer, Y., Lei, J., & Zhang, T. (2021). Evolutionary history and pan-genome dynamics of strawberry (*Fragaria* spp.). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(45). <https://doi.org/10.1073/pnas.2105431118>
- Quintana, S. E., Llalla, O., García-Risco, M. R., & Fornari, T. (2021). Comparison between essential oils and supercritical extracts into chitosan-based edible coatings on strawberry quality during cold storage. *The Journal of Supercritical Fluids*, 171, 105198. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105198>
- Rohr, J. R., & Cohen, J. M. (2020). Understanding how temperature shifts could impact infectious disease. *PLOS Biology*, 18(11), e3000938. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000938>
- Rojas, E. J. (2016). Estudio de la diversidad genética de *Botrytis spp* en orquídeas y la resistencia al ataque del hongo. *Universidad Politécnica de Madrid*. Recuperado de: <http://oa.upm.es/39846/>
- Rojas, J. E. (2016). Estudio de la diversidad genética de *Botrytis sp* en orquídeas y la resistencia al ataque del hongo. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Superior Técnica de Ingenieros Agrónomos. Recuperado de https://oa.upm.es/39846/1/JACQUELINE_ROJAS_ROJAS.pdf
- Romero, A. R., Contigiani, E. v., González, H. H. L., Alzamora, S. M., Gómez, P. L., & Raffellini, S. (2019). Botrytis cinerea response to pulsed light: Cultivability, physiological state, ultrastructure and growth ability on strawberry fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 309, 108311. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108311>
- Saad, A., Ali, E., El-Didamony, M., & Azam, M. (2023). The kinetics of strawberry quality changes during the shelf-life. *Current Research in Agricultural Sciences*, 10(1), 11–21. <https://doi.org/10.18488/cras.v10i1.3304>
- Salazar, S., Bayas, F., Niño, Z., Guevara, J., Ruilova, M., Merino, O. & Guamán, J. (2018). Morphological and biochemical indicators of *Fusarium oxysporum* f sp. *fragariae*

in strawberry crops (*Fragaria x ananassa* Duch) in the province of Pichincha, Ecuador.

- Samadani, F., Behzad, T., & Enayati, M. S. (2019). Facile strategy for improvement properties of whey protein isolate/walnut oil bio-packaging films: Using modified cellulose nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, *139*, 858–866. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.042>
- Scott, G., Williams, C., Wallace, R. W., & Du, X. (2021). Exploring Plant Performance, Fruit Physicochemical Characteristics, Volatile Profiles, and Sensory Properties of Day-Neutral and Short-Day Strawberry Cultivars Grown in Texas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *69*(45), 13299–13314. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c00915>
- Sengun, I. Y., Kilic, G., & Ozturk, B. (2020). Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials. *Food Science and Biotechnology*, *29*(3), 401–408. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00678-6>
- Shahbazi, Y. (2019). Antioxidant, antibacterial, and antifungal properties of nanoemulsion of clove essential oil. *Nanomedicine Research Journal*, *4*(4), 204–208. <https://doi.org/10.22034/NMRJ.2019.04.001>
- Sharma, S. K., Pal, J., & Sharma, A. (2021). Postharvest Diseases of Strawberry and Their Management. In *Postharvest Handling and Diseases of Horticultural Produce* (pp. 281-286). CRC Press.
- Simkova, K., Veberic, R., Hudina, M., Grohar, M. C., Ivancic, T., Smrke, T., Pelacci, M., & Jakopic, J. (2023). Variability in ‘Capri’ Everbearing Strawberry Quality during a Harvest Season. *Foods*, *12*(6), 1349. <https://doi.org/10.3390/foods12061349>
- Song, H., Cong, Z., Wang, C., He, M., Liu, C., & Gao, P. (2022). Research progress on Walnut oil: Bioactive compounds, health benefits, extraction methods, and medicinal uses. *Journal of Food Biochemistry*, *46*(12). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14504>
- Sultan, M., Hafez, O. M., Saleh, M. A., & Youssef, A. M. (2021). Smart edible coating films based on chitosan and beeswax-pollen grains for the postharvest preservation

of *Le Conte pear*. *RSC Advances*, *11*(16), 9572–9585.
<https://doi.org/10.1039/d0ra10671b>

Taghavi, T., Siddiqui, R., & K. Rutto, L. (2019). The Effect of Preharvest Factors on Fruit and Nutritional Quality in Strawberry. In *Strawberry - Pre- and Post-Harvest Management Techniques for Higher Fruit Quality*. IntechOpen.
<https://doi.org/10.5772/intechopen.84619>

Teixeira, R. F., Balbinot Filho, C. A., & Borges, C. D. (2022). Essential oils as natural antimicrobials for application in edible coatings for minimally processed apple and melon: A review on antimicrobial activity and characteristics of food models. *Food Packaging and Shelf Life*, *31*, 100781.
<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100781>

Thurner, M. & Pimentel, J. (2021). *New World Objects of Knowledge: A Cabinet of Curiosities* (M. Thurner & J. Pimentel, Eds.). University of London.
<https://doi.org/10.14296/2104.9781908857835>

U.S. Food and Drug Administration (FDA). (2022). Food Ingredient & Packaging Terms. FDA. Recuperado de <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/food-ingredient-packaging-terms#:~:text=Food%20Additive%20%2D%20A%20food%20additive,substance%20intended%20for%20use%20in>

Vásquez, C., Pérez, M., Dávila, M., Mangui, J., & Telenchana, N. (2018). Biological parameters of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on strawberry cultivars in Ecuador. *Revista Chilena De Entomología*, *44*(3). Retrieved from <https://www.biotaxa.org/rce/article/view/40262>

Wang, J., Yang, E., Chaurand, P., & Raghavan, V. (2021). Visualizing the distribution of strawberry plant metabolites at different maturity stages by MALDI-TOF imaging mass spectrometry. *Food Chemistry*, *345*, 128838.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128838>

- Weber, N. C. (2020). Field and Post-Harvest Factors Affecting the Quality and Shelf Life of Soft Fruits. *Modern Concepts & Developments in Agronomy*, 6(2). <https://doi.org/10.31031/MCDA.2020.06.000634>
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? *Molecules*, 24(11), 2130. <https://doi.org/10.3390/molecules24112130>
- Woch, J., Małachowska, E., Korasiak, K., Lipkiewicz, A., Dubowik, M., Chrobak, J., Iłowska, J., & Przybysz, P. (2022). Barrier Dispersion-Based Coatings Containing Natural and Paraffin Waxes. *Molecules*, 27(3), 930. <https://doi.org/10.3390/molecules27030930>
- Yang, S., Chen, R., Johnb, S., Ye, J., Fan, G., Zhou, H., Peng, L., & Pana, S. (2018). Physiological and Quality Changes of Postharvest Strawberries at Different Storage Temperature and Their Relationships to Fruit Discoloration. *Journal of Food and Nutritional Sciences*, 4(2), 81-88. <https://doi.org/10.15436/2377-0619.17.1517>
- Yang, X., Du, R., He, D., Li, D., Chen, J., Han, X., Wang, Z., & Zhang, Z. (2023). Optimal combination of potassium coupled with water and nitrogen for strawberry quality based on consumer-orientation. *Agricultural Water Management*, 287, 108461. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108461>
- Yuvaraj, D., Iyyappan, J., Gnanasekaran, R., Ishwarya, G., Harshini, R. P., Dhithya, V., Chandran, M., Kanishka, V., & Gomathi, K. (2021). Advances in bio food packaging – An overview. *Heliyon*, 7(9), e07998. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07998>
- Zambrano, M. L., Quintanar, D., del Real, A., González, R. M., Cornejo, M. A., & Gutiérrez, E. (2020). Effect of Nano-Edible Coating Based on Beeswax Solid Lipid Nanoparticles on Strawberry's Preservation. *Coatings*, 10(3), 253. <https://doi.org/10.3390/coatings10030253>
- Zeist, R. A., de Resende, J. V., Zeist, A. R., Botelho, R. V., Verhalem-Arantes, J. H., & Ovalles Morillo, L. A. (2021). Overcoming dormancy of achenes and physiology

of strawberry treated with plant regulators. *Acta Horticulturae*, 1309, 677–684.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1309.98>

Zeliou, K., Papatropoulos, V., Manoussopoulos, Y., & Lamari, F. N. (2018). Physical and chemical quality characteristics and antioxidant properties of strawberry cultivars (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) in Greece: assessment of their sensory impact. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(11), 4065–4073.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.8923>

Zurn, J. D., Hummer, K. E., & Bassil, N. v. (2022). Exploring the diversity and genetic structure of the U.S. National Cultivated Strawberry Collection. *Horticulture Research*, 9. <https://doi.org/10.1093/hr/uhac125>

ANEXOS

Anexo 1. Documentación, Adquisición de Materia Prima y Evaluación Fisicoquímica

Figura 17. Registro único de contribuyentes asociado a la compra de fresa

 **REGISTRO UNICO DE CONTRIBUYENTES PERSONAS NATURALES** 

NUMERO RUC: 1712175932001
APELLIDOS Y NOMBRES: BAYAS FREIRE MARIA JESUS
NOMBRE COMERCIAL: VIVERES SEBASTIAN
CLASE CONTRIBUYENTE: OTROS **OBLIGADO LLEVAR CONTABILIDAD:** NO
CALIFICACIÓN ARTESANAL: NUMERO:

FEC. NACIMIENTO: 17/09/1975 **FEC. ACTUALIZACION:** 11/08/2020
FEC. INICIO ACTIVIDADES: 11/10/2007 **FEC. SUSPENSION DEFINITIVA:**
FEC. INSCRIPCION: 11/10/2007 **FEC. REINICIO ACTIVIDADES:**

ACTIVIDAD ECONOMICA PRINCIPAL:
VENTA AL POR MENOR DE GRAN VARIEDAD DE PRODUCTOS EN TIENDAS, ENTRE LOS QUE

DOMICILIO TRIBUTARIO:
Provincia: TUNGURAHUA Cantón: QUERO Parroquia: QUERO Calle: PRINCIPAL Número: S/N Referencia: COMUNIDAD PUEBLO VIEJO, BARRIO LA VICTORIA, JUNTO A LA MUEBLERIA ANGEL SANCHEZ, CASA DE DOS PISOS, ENLUCIDO
Teléfono: 032746566 Email: mariabayas78@yahoo.com Celular: 0961811066

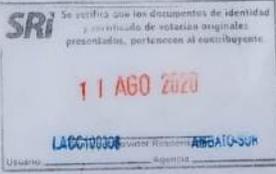
DOMICILIO ESPECIAL:

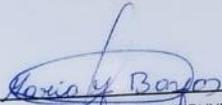
OBLIGACIONES TRIBUTARIAS:

* DECLARACIÓN DE IVA

Son derechos de los contribuyentes: Derechos de trato y confidencialidad, Derechos de asistencia o colaboración, Derechos económicos, Derechos de información, Derechos procedimentales; para mayor información consulte en www.sri.gob.ec.
Las personas naturales cuyo capital, ingresos anuales o costos y gastos anuales sean superiores a los límites establecidos en el Reglamento para la Aplicación de la Ley de Régimen Tributario Interno están obligados a llevar contabilidad, convirtiéndose en agentes de retención, no podrán acogerse al Régimen Simplificado (RISE) y sus declaraciones de IVA deberán ser presentadas de manera mensual.
Recuerde que sus declaraciones de IVA podrán presentarse de manera semestral siempre y cuando no se encuentre obligado a llevar contabilidad, transfiera bienes o preste servicios únicamente con tarifa 0% de IVA y/o sus ventas con tarifa diferente de 0% sean objeto de retención del 100% del IVA.

DE ESTABLECIMIENTOS REGISTRADOS: del 001 al 001 **ABIERTOS:** 1
JURISDICCION: ZONA 3 TUNGURAHUA **CERRADOS:** 0


Se verifica que los documentos de identidad y el resultado de verificación de estadía migratoria presentados, pertenecen al contribuyente.
11 AGO 2020
LACC100308 Usuario: Ambato-SUR Agencia


FIRMA DEL CONTRIBUYENTE

SERVICIO DE RENTAS INTERNAS

Declaro que los datos contenidos en este documento son exactos y verdaderos, por lo que asumo la responsabilidad legal que de ella se deriven (Art. 97 Código Tributario, Art. 9 Ley del RUC y Art. 9 Reglamento para la Aplicación de la Ley del RUC).

Usuario: LACC100308 Lugar de emisión: AMBATO/AV. MANUELITA Fecha y hora: 11/08/2020 10:30:47

Página 1 de 2

Figura 18. *Recolección de las fresas*



Figura 19. *Elaboración de los biorecubrimientos*



Figura 20. *Fresas recubiertas*



Figura 21. *Análisis de pH*



Figura 22. *Análisis de pérdida de peso*



Figura 23. *Análisis colorimétrico*



Anexo 2. Resultados de Pruebas Fisicoquímicas a Temperatura Ambiente y Refrigeración

Tabla 5. Pruebas Fisicoquímicas a Temperatura Ambiente

Pérdida de Peso	Día 2	Día 4	Día 6	Día 8
Tratamiento 1	4,69±0,7	5,97±0,7	8,68±0,7	10,13±0,5
Tratamiento 2	3,97±0,5	4,26±0,6	6,46±0,6	9,55±0,4
Tratamiento 3	3,65±0,3	4,15±0,5	5,26±0,5	7,64±0,3
Control	5,25±0,6	6,12±0,4	9,90±0,8	12,68±0,7
% de pudrición	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	10,00±0,2	19,44±0,3	38,10±0,3	56,25±0,5
Tratamiento 2	7,50±0,2	15,79±0,4	31,25±0,5	40,91±0,6
Tratamiento 3	5,00±0,2	10,53±0,2	29,41±0,5	33,33±0,5
Control	10,00±0,2	19,44±0,5	45,00±0,4	69,05±0,6
Luminosidad	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	35,13±2,8	33,33±2,3	32,35±2,0	31,65±2,5
Tratamiento 2	35,55±2,6	32,27±2,3	31,82±2,5	30,49±2,2
Tratamiento 3	35,72±2,7	33,77±2,6	31,25±2,9	30,15±3,1
Control	35,65±2,5	33,54±2,1	32,27±2,2	31,45±3,2
Angulo Hue	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	32,25±1,6	37,56±1,8	38,41±1,7	42,66±1,5
Tratamiento 2	30,03±1,5	33,72±1,9	36,03±2,5	40,07±2,4
Tratamiento 3	29,12±1,9	32,15±1,5	34,39±1,8	35,17±1,6
Control	27,70±1,9	35,57±2,2	40,70±2,7	44,25±2,4
SST	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	7,50±0,5	8,50±0,3	9,67±0,3	10,00±0,2
Tratamiento 2	7,67±0,3	8,50±0,4	9,33±0,4	9,58±0,4
Tratamiento 3	7,67±0,3	7,83±0,2	9,00±0,5	9,17±0,3
Control	8,00±0,4	9,00±0,4	10,00±0,4	11,50±0,3
pH	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	3,38±0,4	2,91±0,6	2,73±0,7	2,78±0,3

Tratamiento 2	3,56±0,5	3,04±0,5	2,91±0,6	2,90±0,6
Tratamiento 3	3,37±0,4	3,31±0,3	3,15±0,2	3,04±0,4
Control	3,43±0,4	2,99±0,6	2,81±0,6	2,52±0,2
Acidez titulable	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4
Tratamiento 1	0,52±0,04	0,43±0,04	0,35±0,03	0,31±0,03
Tratamiento 2	0,53±0,04	0,46±0,05	0,35±0,05	0,31±0,03
Tratamiento 3	0,54±0,05	0,48±0,04	0,39±0,06	0,33±0,02
Control	0,51±0,05	0,42±0,06	0,35±0,04	0,29±0,02

Tabla 6. Pruebas Fisicoquímicas en Refrigeración

Pérdida de Peso	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	3,45±0,5	3,87±0,7	4,64±0,7	5,12±0,9	6,69±0,9
Tratamiento 2	3,15±0,3	3,60±0,6	4,16±0,6	4,91±0,7	6,25±0,8
Tratamiento 3	2,65±0,3	2,98±0,5	3,45±0,6	3,86±0,9	5,15±0,7
Control	4,05±0,4	4,65±0,5	5,29±0,6	5,69±0,9	7,58±0,9
% de Pudrición	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	0,00±0,0	2,50±0,1	18,03±1,1	40,59±0,4	52,78±0,6
Tratamiento 2	0,00±0,0	0,00±0,0	12,50±0,9	31,37±0,9	48,83±1,1
Tratamiento 3	0,00±0,0	0,00±0,0	12,50±1,3	28,59±0,7	44,23±0,5
Control	0,00±0,0	2,50±0,1	20,53±0,7	51,67±0,6	57,74±0,9
Luminosidad	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	35,28±3,9	34,92±2,8	32,98±3,05	31,15±2,05	30,15±2,95
Tratamiento 2	34,25±3,5	33,45±2,9	31,68±2,6	30,25±2,51	29,89±1,96
Tratamiento 3	33,29±3,0	32,49±2,5	31,25±2,6	29,85±2,98	29,14±3,07
Control	36,24±3,7	35,96±3,1	33,45±2,3	31,49±2,21	30,25±3,7
Hue	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	33,45±1,6	35,25±1,8	36,28±1,5	38,29±2,05	39,26±2,0
Tratamiento 2	33,03±1,5	33,69±1,4	33,25±1,6	36,19±1,9	37,64±1,9
Tratamiento 3	32,25±1,8	31,09±1,3	32,16±1,6	33,37±1,98	32,13±1,6
Control	34,68±1,5	35,49±1,3	37,81±1,8	40,59±1,7	41,17±1,7
SST	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5

Tratamiento 1	6,67±0,5	7,00±0,3	8,33±0,3	9,17±0,2	9,83±0,3
Tratamiento 2	6,67±0,3	7,00±0,4	7,67±0,4	8,83±0,4	9,50±0,4
Tratamiento 3	6,50±0,3	7,00±0,2	7,50±0,5	8,67±0,3	9,50±0,3
Control	6,67±0,4	7,50±0,4	8,50±0,4	9,50±0,3	10,83±0,3
pH	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	3,22±0,3	3,28±0,3	3,30±0,3	2,97±0,2	2,73±0,3
Tratamiento 2	3,12±0,3	3,31±0,4	3,20±0,4	2,95±0,4	2,87±0,2
Tratamiento 3	3,27±0,3	3,41±0,2	3,28±0,3	3,37±0,3	2,97±0,3
Control	3,25±0,3	3,35±0,4	2,90±0,4	2,60±0,3	2,53±0,3
Acidez titulable	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1	0,55±0,04	0,52±0,06	0,42±0,03	0,37±0,02	0,29±0,03
Tratamiento 2	0,54±0,03	0,54±0,05	0,41±0,04	0,34±0,04	0,29±0,02
Tratamiento 3	0,59±0,05	0,56±0,05	0,44±0,03	0,40±0,03	0,34±0,02
Control	0,53±0,06	0,51±0,04	0,41±0,02	0,35±0,03	0,29±0,02

Tabla 7. Evaluación de la efectividad de los biorecubrimientos a temperatura ambiente

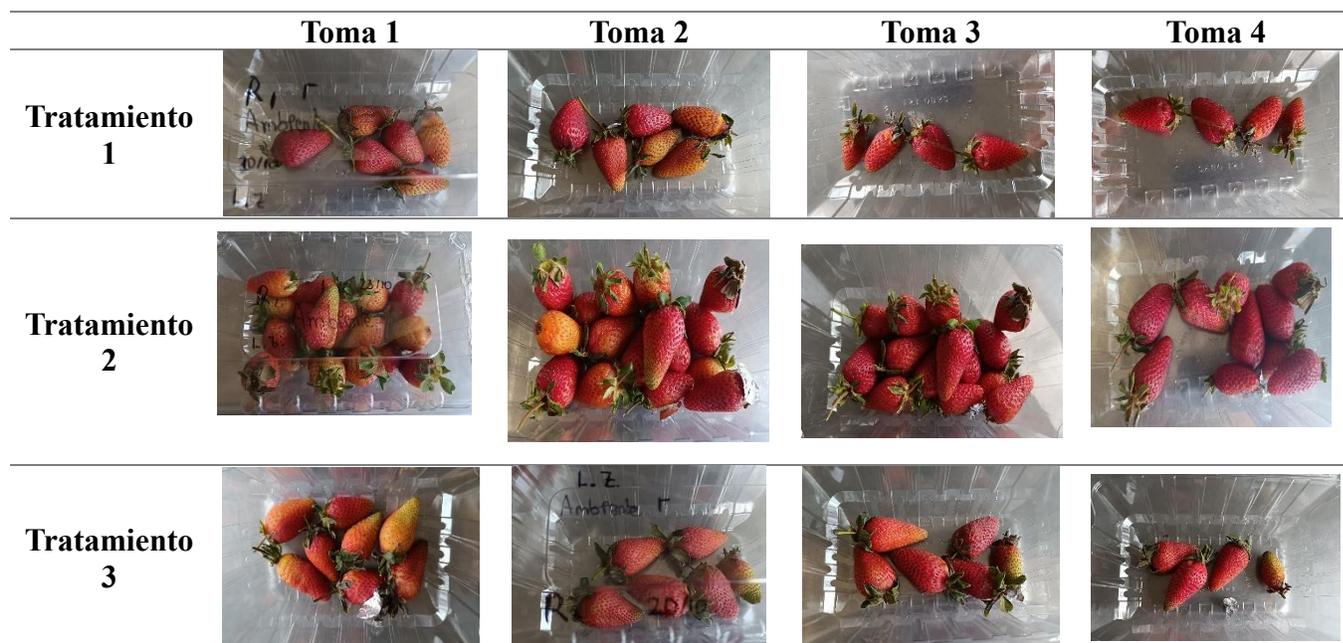


Tabla 8. *Evaluación de la efectividad de los biorecubrimientos en refrigeración*

	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5
Tratamiento 1					
Tratamiento 2					
Tratamiento 3					

Anexo 3. Análisis Microbiológico en las fresas

Figura 24. Multiplicación de *B. cinerea*



Figura 25. Elaboración de las suspensiones de *B. cinerea*



Tabla 9. Análisis Microbiológico a Temperatura Ambiente

Primera Suspensión	Tercer día		Cuarto día		Quinto día	
	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	15	15	30	45	65	140
Tratamiento 2	15	15	25	40	55	135
Tratamiento 3	10	10	25	40	45	110
Control	15	15	35	55	75	180
Segunda Suspensión	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	10	10	25	35	50	110
Tratamiento 2	10	10	20	30	50	105
Tratamiento 3	10	10	20	25	45	90
Control	15	15	25	45	60	125
Tercera Suspensión	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	10	10	20	30	40	65
Tratamiento 2	5	5	15	25	40	60
Tratamiento 3	5	5	15	20	35	50
Control	10	10	25	35	50	100

Tabla 10. *Pruebas Microbiológicas en Refrigeración*

Primera Suspensión	Quinto día		Sexto día		Séptimo día		Octavo día	
	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	10	10	15	15	25	35	40	55
Tratamiento 2	10	10	15	15	25	30	30	45
Tratamiento 3	10	10	10	10	20	25	30	40
Control	10	10	15	25	30	45	50	70
Segunda Suspensión	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	10	10	15	15	15	20	25	40
Tratamiento 2	5	5	10	10	15	15	20	25
Tratamiento 3	5	5	10	10	15	15	20	25
Control	10	10	15	25	25	30	40	60
Tercera Suspensión	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad	Incidencia	Severidad
Tratamiento 1	0	0	5	5	10	10	15	20
Tratamiento 2	0	0	5	5	10	10	15	15
Tratamiento 3	0	0	5	5	5	5	15	15
Control	0	0	10	10	15	15	25	25

Anexo 4. Análisis estadísticos de Incidencia y Severidad a Temperatura Ambiente

Figura 26. Prueba de Pareto para Incidencia a ambiente

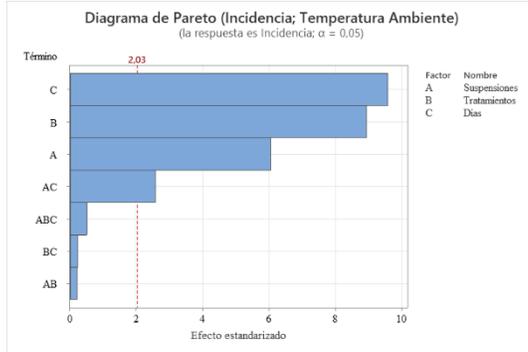


Figura 27. Prueba de Pareto para Severidad a ambiente

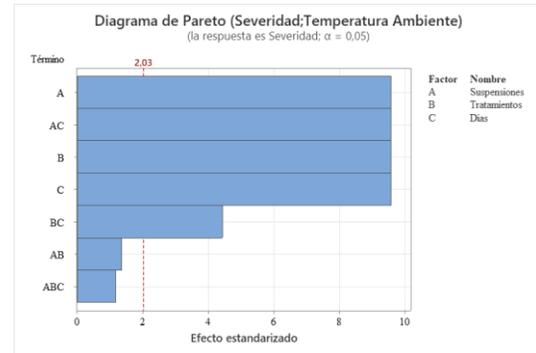


Figura 28. Gráfica de medias para Incidencia a ambiente

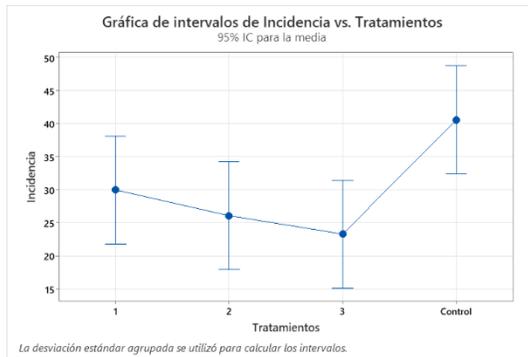


Figura 29. Gráfica de medias para Severidad a ambiente

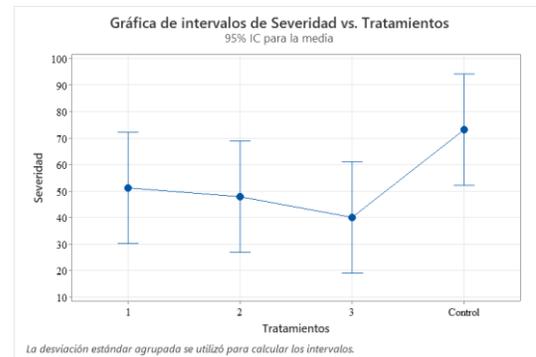


Tabla 11. Prueba LSD de Fisher para Incidencia a temperatura ambiente

Tratamientos	N	Media	Agrupación
Control	18	40,56	A
Tratamiento 1	18	30,00	A B
Tratamiento 2	18	26,11	B
Tratamiento 3	18	23,33	B

Nota. Análisis con una confianza del 95%. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 12. Prueba LSD de Fisher para Severidad a temperatura ambiente

Tratamientos	N	Media	Agrupación
Control	18	64,17	A
Tratamiento 1	18	50,15	A B
Tratamiento 2	18	45,82	B
Tratamiento 3	18	40,00	B

Nota. Análisis con una confianza del 95%. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 5. Análisis estadísticos de Incidencia y Severidad en refrigeración

Figura 30. Prueba de Pareto para Incidencia en refrigeración

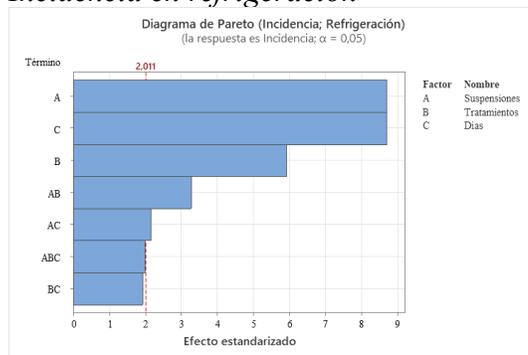


Figura 31. Prueba de Pareto para Severidad en refrigeración

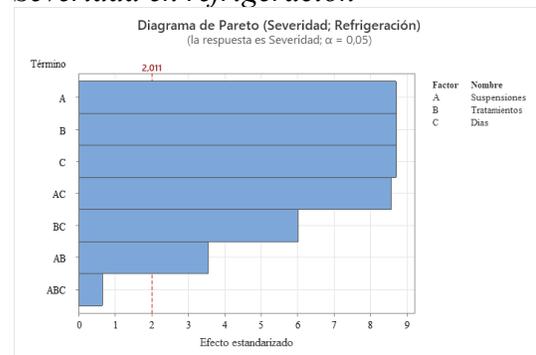


Figura 32. Gráfica de medias para Incidencia en refrigeración

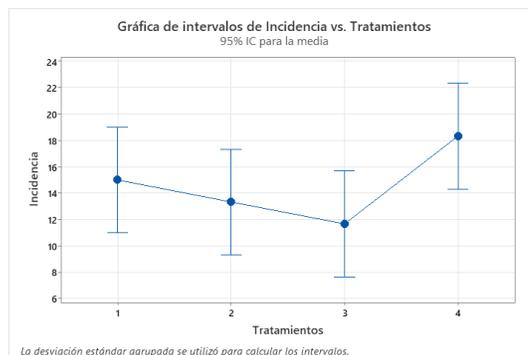


Figura 33. Gráfica de medias para Severidad en refrigeración

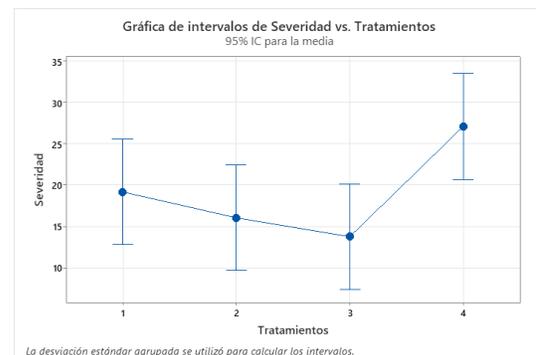


Tabla 13. Prueba LSD de Fisher para Incidencia en Refrigeración

Tratamientos	N	Media	Agrupación	
Control	24	18,33	A	
Tratamiento 1	24	15,00	A	B
Tratamiento 2	24	12,33	B	
Tratamiento 3	24	11,67	B	

Nota. Análisis con una confianza del 95%. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 14. Prueba LSD de Fisher para Severidad en Refrigeración

Tratamientos	N	Media	Agrupación	
Control	24	27,08	A	
Tratamiento 1	24	19,17	A	B
Tratamiento 2	24	16,04	B	
Tratamiento 3	24	13,75	B	

Nota. Análisis con una confianza del 95%. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Figura 34. *Signos de pudrición a temperatura ambiente*



Figura 35. *Signos de pudrición en refrigeración*

