



Universidad Central de Venezuela

Facultad de Ciencias

Escuela de Biología

Evaluación de la vainillina y el benzoato de sodio como agentes antimicrobianos en piña (*Ananas comosus*) deshidratada.

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

*Presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la bachiller Bastidas Mariana
como requisito parcial para optar
al título de Licenciado en Biología.*

Tutor(as): *M.Sc. Palomino, Carolina*

M.Sc. Pérez, Liz

Caracas, Venezuela

Octubre, 2013

RESUMEN

La piña es el principal miembro comestible perteneciente a la familia Bromeliaceae y al género *Ananas*. Asimismo, representa el tercer cultivo comercial más importante de frutas tropicales en el mundo. Su procesamiento se realiza incluso en las zonas templadas pero su comercio precoz se limita a las rutas de transporte relativamente cortas, debido a la breve vida útil de la piña fresca. Las piñas son perecederas por su alto contenido de agua y no pueden almacenarse durante largos períodos ni bajo congelación, por lo que surge la necesidad de encontrar alternativas para su conservación. A este respecto, la tecnología de obstáculos (o de métodos combinados), permite mejoras en la inocuidad y calidad, así como en las propiedades económicas, mediante una combinación inteligente de obstáculos que aseguran la estabilidad, seguridad microbiana y propiedades nutritivas.

Por tal motivo, el objetivo de esta investigación fue evaluar la acción antimicrobiana del benzoato de sodio y la vainillina en rodajas de piña deshidratada, por convección de aire caliente (T1) y la combinación de secado osmótico + secado por convección de aire caliente (T2). Para ello, se evaluaron tres (3) lotes de piña en cada técnica de secado. Cada lote estuvo compuesto por 80kg de piña fresca dividido en; 20 kg de piña en el control (control, sin antimicrobiano), 20 kg de piña en el tratamiento B (vainillina), 20 kg de piña en el tratamiento C (benzoato de sodio) y 20kg de piña en el tratamiento D (benzoato de sodio + vainillina).

En las rodajas de piña T1, se obtuvo tres (3) kg para los tratamientos (A, B, C y D), y en las rodajas de piña T2 se obtuvo alrededor de cuatro kilos y medio (4,5) para dichos tratamientos. Cada lote fue sometido al procedimiento de muestreo para inspección por atributos Covenin (3133-1:2001), aplicándose una inspección del tipo II (normal), en la

cual se analizaron microbiológicamente dos muestras por cada tratamiento, obteniéndose un total de 48 muestras (24 muestras por cada técnica de secado).

Se realizaron ensayos fisicoquímicos (a_w , pH, % de ácido cítrico y % de humedad), tanto en la materia prima como en las rodajas de piña deshidratada, y ensayos microbiológicos (aerobios mesófilos, hongos, coliformes y enterobacterias totales) en las rodajas de piña T1 y T2.

La materia prima empleada presentó valores fisicoquímicos análogos con Montilla (1997), sobre la variedad Cayena Lisa. Los valores demostraron la corta vida útil que presentaría dicho fruto, producto del deterioro microbiano y de las reacciones químicas, en caso de no aplicarse alguna técnica de preservación.

Hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en los tratamientos de las rodajas de piña T2, en cuanto a la población de aerobios mesófilos y enterobacterias totales. Hubo diferencia estadísticamente significativa entre T1 y T2 en las poblaciones de aerobios mesófilos y hongos

El tipo de técnica de secado aplicada es muy importante en la reducción de la población de ciertos microorganismos; como aerobios mesófilos, hongos. Durante la presente investigación la combinación de dos técnicas de deshidratación tuvo la mayor efectividad, en cuanto a la reducción de las poblaciones microbianas. Sin embargo, para enterobacterias y coliformes totales no hubo diferencia entre las técnicas de deshidratación aplicadas en cuanto a la reducción de dichas poblaciones.

La población de aerobios mesófilos, coliformes totales y enterobacterias totales en las rodajas de piña T1 y T2 se encontraron dentro de los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (2009), utilizado como referencia en esta investigación. Esto, de algún modo, revela la aplicación de Buenas Prácticas de Higiene y Manufactura durante la elaboración de dichas rodajas. Por otra parte, la población de hongos en las rodajas de piña T1, luego de la aplicación de los tratamientos A y B, sobrepasaron los límites establecidos por dicho reglamento. Contrariamente, esta misma población en las rodajas de piña T2 se mantuvo dentro de los límites acotados, lo que recalca la importancia del tipo de deshidratación aplicada.

Con la aplicación de los tratamientos B y C en las rodajas de piña T1, se obtuvo una mejor reducción en la población de microorganismos, mientras que en las rodajas de piña T2, una reducción satisfactoria de las distintas poblaciones microbianas se alcanzó con los tratamientos B y D. Esta situación coloca de manifiesto la probable influencia de la técnica de secado sobre la acción del antimicrobiano.

AGRADECIMIENTOS

- * A la Universidad Central de Venezuela por brindarme una educación gratuita de excelente nivel académico. Especialmente a todos los profesores que contribuyeron con mi educación durante toda la carrera.

- * Agradezco muy especialmente a la MSc. Carolina Palomino y a la MSc. Liz Pérez por sus enseñanzas en la elaboración de esta tesis.

- * Agradezco al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimento (ICTA), especialmente a los laboratorios del área de Biotecnología y Control Microbiano por permitirme realizar los ensayos en sus instalaciones, así como la utilización de sus equipos.

- * A la empresa DEVENALSA, S.A. Deshidratadora Venezolana de Alimentos; por su financiamiento en la compra de materia prima e insumos, infraestructura, equipos y asesoría.

- * A la Dra. Davdmary Cueto miembro de la empresa DEVENALSA, S.A por su excelente disposición y su desinteresada colaboración.

- * Agradezco a Dios por permitirme despertar un día más.

- * Por último, mi especial gratitud a mi familia que apoyó mi esfuerzo para la realización de este trabajo y que siempre me acompaña.

DEDICATORIA

- * A Dios, por guiarme por el camino correcto, darme salud y fortaleza espiritual para seguir cada día.
- * A mis padres, Sunción Bastidas y María Cabezas, por enseñarme que lo importante de la vida se logra con esfuerzo y perseverancia, a no rendirme ante lo difícil, por educarme, comprenderme y guiarme a ser quien soy.
- * A mis hermanos, Marianella, Maritza, Luis y Eduardo Bastidas, por apoyarme siempre.
- * A mi compañero Enrique Marín, por apoyarme y sacarme una sonrisa ante todas las dificultades.
- * A mis amigos, Jessaid Clisanchez, María Eugenia Ramos, Vanessa García, y a mis compañeros Daniela Gómez, David Fernández, Ruth Serrano, Jennifer Rodríguez. Con perseverancia y ánimo todo se puede.
- * A todas las personas que compartieron conmigo a lo largo de esta etapa.

ÍNDICE GENERAL

I INTRODUCCIÓN.....	15
II REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	18
1. La piña.....	18
1.1 Origen.....	18
1.2 Taxonomía.....	18
1.3 Composición.....	19
1.4 Requerimientos ambientales de crecimiento.....	20
1.5 Microorganismos de la piña.....	20
1.6 Variedades cultivadas en Venezuela y zonas de cultivo.....	22
1.7 Producción de piña en el mundo y en Venezuela.....	23
1.8 Propiedades fisicoquímicas de la piña.....	24
1.9 Usos comerciales e industriales.....	25
2. Deshidratación.....	26
2.1 Tipos de deshidratación.....	27

2.2	Secadores de aire por convección.....	28
2.3	Secadores de bandeja.....	28
2.4	Deshidratación osmótica.....	28
3.	Frutas deshidratadas y microorganismos asociados.....	29
4.	Antimicrobianos.....	31
4.1	Tipos de antimicrobianos.....	32
4.2	Acción de los antimicrobianos.....	33
4.3	Mezclas de antimicrobianos.....	34
4.4	Permisividad de los antimicrobianos.....	35
5.	Vainillina.....	36
6.	Benzoato de sodio.....	37
7.	Investigaciones relacionadas.....	38
III OBJETIVOS.....		41
1.	Objetivo general.....	41
1.1	objetivos específico.....	41
IV MATERIALES Y MÉTODOS.....		42
1.	Materia prima.....	42

1.1	Diseño experimental.....	42
1.2	Muestro.....	43
1.3	Tratamientos.....	44
1.3.1	Deshidratación por convección de aire caliente (T1).....	44
1.3.2	Deshidratación por combinación de secado osmótico + secado	
1.3.3	por convección de aire caliente.....	44
1.4	Caracterización fisicoquímica de la materia prima y de las rodajas de	
	piña T1 y T2.....	47
1.5	Cuantificación de los antimicrobianos en las rodajas de piña T1 y T2....	48
1.5.1	Cuantificación de la vainillina.....	48
1.5.2	Cuantificación del benzoato de sodio.....	49
1.6	Evaluación microbiológica.....	50
1.6.1	Evaluación de la calidad microbiológica de las rodajas de	
	piña T1 y T2.....	50
1.6.1.1	Determinación de aerobios mesófilos.....	

1.6.1.2	Determinación de hongos.....	50
1.6.1.3	Determinación de <i>E.coli</i> /coliformes totales.....	51
1.6.1.4	Determinación de enterobacterias totales.....	51
1.7	Análisis estadístico de los resultados.....	53
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	54
1.	Caracterización de la materia prima fresca... ..	54
1.1	Deshidratación T1 y T2.....	57
1.2	Características fisicoquímicas de las rodajas de piña T1 y T2.....	59
1.3	Recuento de microorganismos en las rodajas de piña T1 y T2.....	63
1.3.1	Recuento de aerobios mesófilos en las rodajas de piña T1 y T2.....	66
1.3.2	Recuento de hongos en las rodajas de piña T1 y T2.....	69
1.3.3	Recuento de coliformes totales en las rodajas de piña T1 y T2.....	76
1.3.4	Recuento de enterobacterias totales en las rodajas de piña T1 y T2.....	80
1.4	Correlación entre los microorganismos y los parámetros fisicoquímicos de las	

rodajas de piña T1 y T2.....	83
1.5 Cuantificación de los antimicrobianos.....	88
1.5.1 Cuantificación de la vainillina.....	88
1.5.2 Cuantificación del benzoato de sodio.....	91
VI. CONCLUSIONES.....	94
VII. RECOMENDACIONES.....	97
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	98
IX .ANEXOS.....	115

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla #1: Composición nutricional en 100 g de piña fresca.....	19
Tabla #2: Principales plagas y enfermedades de la piña.....	21
Tabla #3: Producción de piña en Venezuela.....	24
Tabla #4: Características fisicoquímicas de la piña (<i>Ananas comosus</i>).....	25
Tabla #5: Determinación fisicoquímica de la materia prima y de las rodajas de Piña T1 y T2.....	47
Tabla #6: Parámetros fisicoquímicos evaluados en la materia prima.....	55
Tabla #7: Parámetros fisicoquímicos evaluados en las rodajas de piña T1 y T2.....	60
Tabla #8: Poblaciones de aerobios mesófilos en las rodajas de piña T1 y T2 con distintos tratamientos (A: Control, B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina).....	67
Tabla #9: Poblaciones de hongos en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (A: Control, B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina).	70
Tabla #10: Poblaciones de coliformes totales en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (A: Control, B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina).....	77
Tabla #11: Poblaciones de enterobacterias totales en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (A: Control, B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina).....	82

Tabla #12: Soluciones patrón empleadas en la determinación de la vainillina.....	89
Tabla #13: Concentración inicial y final de la vainillina en las rodajas de piña T1 y T2.....	90
Tabla #14: Soluciones patrón empleadas en la determinación del benzoato de sodio.....	91
Tabla #15: Concentración inicial y final del benzoato de sodio en las rodajas de piña T1 y T2.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura #1: Esquema del plan de muestro de las rodajas de piña en las bandejas.....	43
Figura #2: Flujograma del proceso de deshidratación de las rodajas de piña T1 (convección de aire caliente).....	45
Figura #3: Flujograma del proceso de deshidratación de las rodajas de piña T2 (secado osmótico + secado por convección de aire caliente).....	46
Figura #4: Flujograma del proceso de cuantificación de la vainillina en las rodajas de piña deshidratada; a: Preparación de las muestras patrón b: Preparación de la muestra para la determinación de la vainillina.....	48
Figura #5: Flujograma del proceso de cuantificación del benzoato de sodio en las rodajas de piña deshidratada; a: Preparación de las muestras patrón b: Preparación de la muestra para la determinación de benzoato de sodio.....	49
Figura #6: Procedimiento del análisis microbiológico en las rodajas de piña T1 y T2, sometidas a los diferentes tratamientos. a y b.....	52
Figura #7: Procedimiento del análisis microbiológico en las rodajas de piña T1 y T2, sometidas a los diferentes tratamientos. a y b.....	53
Figura #8: Estado de madurez de la piña (<i>Ananas comosus</i>).....	57
Figura #9: Incidencia de los distintos microorganismos evaluados en cada Tratamiento en las rodajas de piña T1.....	65
Figura #10: Incidencia de los distintos microorganismos evaluados en cada	

tratamiento en las rodajas de piña T2.....	65
Figura #11: Curva de calibración de la vainillina	89
Figura #12: Curva de calibración del benzoato.....	91

I. Introducción

Hoy en día existe una tendencia mundial hacia un mayor consumo de frutas y hortalizas, motivado fundamentalmente por una dieta más sana y equilibrada, con menor proporción de carbohidratos, grasas y aceites, y con una mayor participación de la fibra, vitaminas y minerales (Rodríguez, 2011). Las frutas y hortalizas constituyen los recursos fitogenéticos para la alimentación, contribuyendo al sustento de todas las personas en la tierra (FAO, 1996). Sin embargo, estos son productos altamente perecederos, con pérdidas de hasta un 23%, debido a deterioros microbiológicos y fisiológicos, pérdida de agua, daño mecánico durante la cosecha o el envasado, y a las inadecuadas condiciones de traslado.

La reducción en las pérdidas de frutas y hortalizas requiere la adopción de varias medidas de control durante la cosecha, manipulación, almacenamiento, envasado y procesamiento, para garantizar la conservación del alimento (Alzamora y col., 2004). Mediante la creación de un ambiente hostil, variación de pH, disminución de la actividad de agua (a_w), adición de conservantes, tanto naturales como artificiales, limitación de nutrientes, cambios de temperaturas, entre otros, se puede lograr retardar el crecimiento o provocar la muerte de los microorganismos (Alzamora y col., 2004).

La preservación de los alimentos puede definirse como el conjunto de tratamientos que prolongan la vida útil de aquellos, manteniendo, en el mayor grado posible, sus atributos de calidad, incluyendo color, textura, sabor y especialmente valor nutritivo. Esta definición involucra una amplia escala de conservación, desde períodos cortos, dados por métodos domésticos de cocción y almacenamiento en frío, hasta períodos muy prolongados, involucrando procesos industriales estrictamente controlados como es el caso de la congelación y la deshidratación (Leistner y Gould, 2002).

La deshidratación es una de las técnicas más utilizadas en la industria de alimentos para preservar los alimentos, consiste en extraer el agua del alimento mediante la evaporación de esta, lo que impide el crecimiento de la mayoría de los microorganismos que no pueden vivir en un medio seco. No obstante, este proceso, por sí sólo no es suficiente para prevenir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos, los cuales se encuentran involucrados en el deterioro de estos productos. Debido a limitaciones de los métodos de conservación individuales, una combinación de tecnologías de obstáculos pueden utilizarse para maximizar la vida útil de las frutas (Leistner y Gould, 2000). Generalmente, se combinan una o varias tecnologías para asegurar la protección frente a la contaminación microbiana. Si a pesar de todo el alimento corre riesgo de sufrir una recontaminación, la aplicación de un aditivo conservante puede ser necesaria (Mundo alimentario, 2006).

Hoy en día la industria de alimentos deshidratados constituye un sector muy importante dentro de la industria alimentaria extendido por todo el mundo. En el mercado puede encontrarse una amplia variedad de productos deshidratados o formulados a partir de ingredientes deshidratados como es el caso de las salsas y sopas en polvo (Maupoey y col., 2012). El mercado alimenticio está íntimamente ligado con la innovación; una mayor conciencia por el desarrollo de hábitos alimenticios saludables ha hecho que las frutas y hortalizas tomen un papel preponderante en la alimentación de los consumidores.

En nuestro país, se han perdido muchas oportunidades de mercado por falta de alternativas de procesamiento para frutas de producción estacional. En relación a esto, los procesos de deshidratación, tras condiciones de empaque y comercialización apropiada, prolongan la vida útil de estos productos, lo que puede representar una gran alternativa para

promover el consumo de frutas en las comunidades. De igual manera, la deshidratación de frutas es una alternativa para reducir las pérdidas postcosecha y también un proceso para producir frutos secos que pueden ser consumidos en cualquier época del año (Maupoey y col., 2012).

La Piña (*Ananas comosus*), es una de las frutas tropicales más populares, es conocida por sus propiedades nutritivas y promotoras de salud (Mortón, 1987). Se utiliza comúnmente como fruta de mesa o en postres. La vida útil de la piña madura es corta y limitada a 4-6 días (Mortón, 1987). La piña fresca contiene una espesa cáscara espinosa no comestible y una gran corona que consume espacio de almacenamiento y también resulta en mayores costos de transporte (Fernández y García, 2010). Por lo tanto, la adición de valor mediante la transformación de un producto listo para consumo es una alternativa atractiva.

Siendo la piña deshidratada (*Ananas comosus*), uno de los productos con mayor aceptación en el mercado nacional, surge la necesidad de encontrar más alternativas en su preservación. En torno a esto, el propósito de la siguiente investigación es evaluar la acción antimicrobiana de dos compuestos, la vainillina de origen natural y el benzoato de sodio de origen químico, sobre la calidad microbiológica de piña deshidratada mediante procesos combinados de secado.

II Revisión Bibliográfica

1. La Piña

La piña es el miembro principal comestible perteneciente a la familia de Bromeliaceae y al género *Ananas*, es una planta perenne monocotiledónea que tiene una

inflorescencia terminal y un fruto múltiple, su cultivo se hace por medio de la propagación vegetativa (Coppens d' Eeckenbrugge y Leal, 1996); utilizando retoños de la misma planta, obteniéndose el fruto hasta 24 meses después de la siembra, esto según el retoño que se cultive.

1.1 Origen

La piña se originó en América del Sur y fue domesticada por los indios tupí-guaraníes. La excelente selección obtenida por los amerindios, el conocimiento del cultivo, la distribución y variedad de la piña indican una domesticación antigua, que se remonta a varios miles de años (Coppens d' Eeckenbrugge y Leal, 2003). Tras su descubrimiento fue introducida en varios países extranjeros, por accidente o con intención (Mortón, 1987).

1.2 Taxonomía

Desde la primera observación de la piña por los exploradores europeos hasta la actualidad, la taxonomía de la piña ha variado considerablemente. La primera descripción la realizó Charles Plumier al final del siglo XVII, creando el género *Bromelia* para las plantas, llamado Karatas. En el siglo XVIII y XIX, la clasificación de la piña dio lugar a una serie de nombres diferentes. Estableciéndose por Merrill, la binomial de *Ananas comosus*, manteniéndose hasta la actualidad (Leal y Coppens d' Eeckenbrugge, 1998).

1.3 Composición

La piña es rica en carotenos y azúcares. El contenido de azúcares permanece constante después de la cosecha, mientras que la acidez y el contenido de carotenos se incrementan moderadamente y la concentración de esteres y el color aumentan considerablemente. El sabor depende principalmente del contenido de azúcares totales, el

cual se puede alterar por la temperatura y la intensidad de la luz durante el crecimiento del fruto, así como por la estación, el clima, el grado de madurez en la cosecha y las sustancias empleadas para su crecimiento como hormonas y pesticidas (Montilla y col., 1997).

Tabla 1: Composición nutricional en 100g de piña fresca.

Componente	Piña fresca (g)
Agua	86
Proteína	1
lípidos	0,1
Carbohidratos	8
Fibra dietaría	2
Sodio	0,002
Potasio	0,18
Calcio	0,027
Magnesio	0,011
Hierro	0,0003
Zinc	0,0002
B-Caroteno	2,5x10-5
Tiamina	0,00004
Riboflavina	0,00003
Vitamina C	0,000021

Fuente: Sistema de Inteligencia de Mercados del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. Perfil de producto Piña.

1.4 Requerimientos ambientales de crecimiento.

La temperatura óptima para obtener un cultivo adecuado de la piña fluctúa entre 22 y 30°C, temperaturas inferiores a 22°C aceleran la floración disminuyendo el tamaño del fruto haciéndolo más ácido. Las temperaturas superiores a 30°C pueden quemar la epidermis y tejidos subyacentes. La precipitación anual óptima está entre los 1000 y los

1500mm. En la mayor parte de los trópicos, el cultivo de piña tiene gran éxito entre los 100 y 800 metros sobre el nivel del mar, ya que la temperatura en esta elevación varía cerca del grado óptimo. No debe haber vientos fuertes, ya que la fruta puede ser removida con facilidad, ni vientos secos porque se activa la transpiración y se produce desecamiento de las hojas. Los suelos deben ser profundos, fértiles, con buen drenaje y un pH entre 5,5-6,2 (Dirección General de Técnicas Agropecuarias, 1983).

1.5 Microorganismos de la piña

El medio ambiente agrícola es sumamente rico en microorganismos; el suelo junto a la vegetación y plantas en descomposición contienen una amplia gama de estos. Las superficies externas de la planta se contaminan con una microflora rica y variada; los órganos subterráneos y los que descansan normalmente próximos o sobre el suelo presentan abundantes especies microbianas que tiene su asiento en el mismo, mientras que las frutas de los árboles se contaminan más fácilmente con esporas procedentes de las infecciones que padecen las plantas que los rodean (Brackett, 1997). Los microorganismos que suelen aparecer normalmente son micrococos, Acromobacteriaceae, Pseudomonadaceae y Enterobacteriaceae. Estos microorganismos, son incapaces por si mismos de iniciar la alteración de los tejidos sanos y por consiguiente no tiene una gran importancia su presencia en los productos frescos, sin embargo, pueden tener unas transcendencia mucho mayor según sean los métodos de conservación y manipulación (Brackett, 1997).

Tabla 2: Principales plagas y enfermedades de la piña

Nombre científico	Plaga
Cochinilla (<i>Dyscocus brevipes</i> y <i>Pseudococus brevipes</i>)	La larva de este insecto provoca crecimiento raquítico de la planta
Barrenador <i>Tecla sp</i>	Es una larva que ocasiona que la pulpa de la fruta adquiera una coloración negruzca.

Gallina ciega <i>Phyllophaga sp</i>	La larva de este insecto provoca crecimiento raquítico de la planta
Nombre científico	Enfermedad
Pudrición del cogollo <i>Erwinia sp</i>	Provoca que las hojas se desprendan al halarlas suavemente
Podredumbre del corazón <i>Phytophthora parasítica</i> y <i>Phytophthora cinnamoni</i>	Se produce en los meses de mayor lluvia. Es la causante de la pudrición del cuello, el tallo, la raíz y el fruto
Wilt <i>Mealy bugwilt</i>	Provoca enrojecimiento y amarillamiento de las hojas más viejas y pudrición de las raíces. El fruto es desabrido y poco desarrollado
<i>Thielaviopsis paradoxa</i>	Es un hongo que daña el material de siembra (hijuelo), tallo, hojas y frutos. Aparece por el manejo del fruto en altas temperaturas y humedad

Fuente: Piña. Estudio agroindustrial en el Ecuador: Competitividad de la cadena de valor y perspectivas del mercado, 2006.

El pH constituye un factor importante que determina los tipos de microorganismos que pueden desarrollarse sobre los tejidos de las frutas, la mayoría posee un pH bajo, que oscila desde 2,4 hasta 5, lo cual constituye un obstáculo eficaz para el crecimiento de la mayor parte de las bacterias, pero no para los hongos, siendo estos los principales microorganismos presentes en la piña (*Ananas comosus*), tanto fresca como sometida a procesos de deshidratación. La piña por poseer una piel gruesa, puede protegerse contra un daño superficial y del crecimiento subsecuente de los microorganismos. Sin embargo, la sola presencia de una herida, que exponga parte del tejido interno, permitirá la invasión por los microorganismos que se encuentran en la corteza, causando daños como fermentación por levaduras, y generando que la pulpa se vuelva blanda, de color amarillo brillante y pérdida de continuidad, debido a la presencia de cavidades con gas (Frutas y Hortalizas, 2007). Si el microorganismo no ha ingresado al tejido interno, este se puede eliminar con tratamientos de desinfección, por ejemplo, durante el empaquetado (Frutas y hortalizas, 2007).

1.6 Variedades cultivadas en Venezuela y zonas de cultivo.

La producción comercial actual de piña está sustentada por algunas variedades, Cayena Lisa, Singapore Spanish, Queen, Española Roja, Perola y Perolera (Coppens d' Eeckenbrugge y Leal, 1996). En Venezuela, se cultivan distintas variedades de estas; la Española Roja (en el estado Lara), la Cumanesa (en el Oriente del país), la Valera (en el estado Trujillo), la perolera (en el estado Táchira) y la Maipure, la Brecheche y la Panare, en el sur del Orinoco (Montilla y col., 1997). El cultivo de Cayena Lisa en nuestro país está muy restringido. El 84% de la producción de esta variedad se encuentra destinado al consumo fresco, el 10% es procesado en la industria y el 6% va al mercado externo (Montilla y col., 1997). A nivel mundial, Venezuela ocupa el puesto número 12 entre los principales países productores (FAO, 2009).

A continuación se describen las variedades de mayor producción comercial en nuestro país:

Cayena Lisa: Plantas medianas, de hojas largas y anchas con bordes lisos, de color verde oscuro con manchas rojizas, su fruto es alargado y cilíndrico, con un peso de 2-2,5 kg; el fruto contiene poca fibra y mucho jugo, los ojuelos son pequeños, planos y poco profundos, dándole a la cascara un aspecto liso. La pulpa es de color amarillo claro y tiene la tendencia a decolorarse hacia los bordes de los ojuelos, el color del fruto cuando está maduro es amarillo con manchas verdes o amarillo únicamente (Covenin, 1983).

Española Roja: Existen dos tipos de esta variedad, uno de estos tiene espinas a todo lo largo de los bordes de las hojas y el otro tipo tiene espinas más cortas y únicamente en el ápice y

en la base de las hojas; los ojelos son grandes y planos, elevados hacia las esquinas, el fruto tiene forma de barril y pesa entre 0,8-2,25kg (Covenin, 1983).

Queen: Presenta hojas cortas, fuertemente espinosas, con extremidades rojizas y flores de color lila. Frutos de 1,3 Kg., pulpa amarilla, aroma pronunciado; recomendable para consumo del fruto fresco (Castañeda, 2003).

Perolera: Las plantas son grandes; de hojas cortas, de color verde oscuro con manchas rojizas, bordes lisos y un agujón en la punta. El fruto tiene forma de bloque y pesa entre 1,5-3kg, su pulpa es de color amarillo y los ojelos son profundos (Covenin, 1983).

1.7 Producción de Piña en el mundo y en Venezuela

La Piña (*Ananas comosus*), es en gran parte producida en varios países con una producción de más de 18 millones de toneladas en 2006, según la FAOSTAT (2007). Algunos países tropicales como Tailandia, Brasil, India, Filipinas y China poseen grandes cultivos que tienen como objetivo la exportación de la fruta. Es el tercer cultivo comercial mas importante de frutas tropicales en el mundo, su procesamiento se realiza incluso en las zonas templadas pero su comercio precoz se limita a las rutas de transporte relativamente cortas, debido a la breve vida útil de la piña fresca.

En Venezuela, las zonas productoras sólo satisfacen algunos requerimientos edafoclimáticos; como las sabanas de Anzoátegui y la zona andina, la cual se concentra en los estados Trujillo y Táchira, y el sur del Orinoco (Montilla y col., 1997). Existen suelos de sabana con posibilidades de riego que representan un gran potencial que no ha sido aprovechado, cuya incorporación al cultivo permitiría dar un giro favorable a la producción de piña en Venezuela (Montilla y col., 1997).

A continuación se presenta la producción en toneladas de piña, en Venezuela, entre los años 2008 y 2011.

Tabla 3: Producción de piña en Venezuela.

Año	2008	2009	2010	2011
Rubro				
Piña (toneladas)	358,796	365,332	380,179	429,431

Fuente: www.fedeagro.org

1.8 Propiedades fisicoquímicas de la piña.

Según la variedad, el fruto puede tener forma cilíndrica más o menos alargada, conocida como forma de barril, su peso varía entre unos 0,5 a 4 kilogramos, el tamaño oscila entre 13 y 30 centímetros con un diámetro de 15 centímetros, el color de la pulpa puede ser amarillo o blanco, los sólidos solubles (°Brix) varían entre 10-12 (García y col., 2006).

Tabla 4: Caracterización fisicoquímica de la piña (*Ananas comosus*).

Propiedades	Contenido
Peso	2-4 kg
Color de la pulpa	Amarillo claro
% Humedad*	85,00
% Acidez*	0,70
pH**	3,5

Fuente:

*Montilla (1997), el cultivo de piña en Venezuela.

** Ramírez y Pacheco (2011), Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana.

1.9 Usos comerciales e industriales.

La piña se cultiva principalmente por su fruta que se consume fresca, enlatada en almíbar, deshidratada y/o en zumo. La piña es la única fuente de bromelina, una enzima proteolítica compleja, utilizada en el mercado farmacéutico y como un agente tenderizador de carne. Los tallos y hojas son una fuente de fibra utilizada para elaborar papel con notables cualidades de finura, suavidad y flexibilidad (Collins, 1960). Los restos de la planta se utilizan para el ensilaje y heno destinado al ganado, así como para la obtención de alcoholes, azúcares y vinagres (Ramírez y Pacheco, 2011).

Por ser una fruta no climatérica, es decir, tiene baja velocidad de respiración que declina lentamente después de su cosecha (Flores, 1968), debe cuidarse su tiempo de cosecha, debe retirarse de la planta una vez que ha madurado, ya que no continúa madurando después de la cosecha, por lo que es recomendable procesarla lo más rápido posible para minimizar su deterioro. Además, el exceso de producción es frecuente y la fruta se pierde también después de la cosecha, debido a que las piñas son perecederas (alto contenido de agua) y no pueden almacenarse durante largos períodos, ni bajo congelación (Fernández y col., 2008; Monsalve y Machado 2007). Una alternativa para conservar la fruta y comercializar el excedente de la producción es la deshidratación de las piñas que no serán inmediatamente consumidas. Las piñas deshidratadas, adicionalmente, se pueden utilizar como ingredientes de tortas, pasteles, salsas y otros productos alimenticios (Fernández y col., 2008).

2. Deshidratación

Es una técnica que consiste en la eliminación de agua, se da en una serie de etapas diferenciadas entre sí por la velocidad de secado. La etapa inicial ocurre cuando el producto

y el agua contenida en él se calientan ligeramente, posteriormente se produce una reducción importante del contenido en agua a velocidad de secado constante. Además de la conservación, por la estabilidad microbiológica y fisicoquímica del producto, la deshidratación convierte el alimento crudo en un sólido seco, lo que reduce; los costos, la dificultad de embalaje, el manejo, el almacenamiento y el transporte (Cañizares y col., 2007).

El agua es uno de los componentes principales de las frutas y en la mayoría de los productos alimenticios, su importancia radica en que sirve de transporte para sustancias y es clave para el desarrollo de microorganismos. La alteración de los alimentos por los microorganismos puede producirse con gran rapidez, mientras que las reacciones químicas y enzimáticas siguen un curso más lento, pero en ambos casos el principal factor que determina el grado de alteración, es el contenido de agua disponible y este se expresa mediante la actividad de agua (a_w), la cual puede definirse como la relación entre la presión de vapor del agua del sistema alimenticio (PV) y la presión de vapor del agua pura, a la misma presión y temperatura (PV_w); es decir, $a_w = PV/PV_w$, (Chirife y col., 1980). Así, para el agua pura la a_w tiene un valor de uno (1) y es el máximo valor que puede tener un alimento. Entre menor es el valor de a_w , el crecimiento de los microorganismos se detiene, no lo lleva a la muerte, sino que se mantiene en condiciones de resistencia durante un tiempo largo, permitiendo aumentar la vida de anaquel del producto (Strumillo, 1996). El crecimiento de microorganismos puede inhibirse con valores por debajo de 0,6 de a_w . En cuanto al oscurecimiento no enzimático, los valores entre 0,4 y 0,65 disminuyen las velocidades de reacción (Strumillo, 1996).

La deshidratación se puede combinar con la adición de antimicrobianos y así aumentar la eficiencia en la conservación del alimento (Leistner y Gould,2000).

2.1 Tipos de deshidratación.

Los procedimientos de deshidratación pueden clasificarse en: secado por aire o por contacto a presión atmosférica, donde el calor se aporta al alimento por medio de aire caliente (convección) o mediante una superficie caliente (conducción).En ambos casos, el vapor de agua formado se mezcla con el aire, que constituye así el medio que sirve para eliminar el vapor. También existen el secado bajo vacío, el secado de frío-deseccación (liofilización) y en la actualidad se cita frecuentemente la deshidratación osmótica (Cañizares y col., 2007).

En el secado por convección se tiene: secador de horno, de bandeja, de túnel, de cinta transportadora, de lecho fluidizado, rotatorio y de aspersion (Brennan y col., 1970).

En el secado por conducción se tiene: Secador de bandejas, de rodillos y de tornillo sin fin (Brennan y col., 1970).

2.2 Secadores de aire por convección

El material a secar se pone en contacto directo con gases que se calientan indirectamente en un intercambiador de calor (de carcasa), por cuyo interior circula vapor de agua. El aire también puede ser calentado mediante resistencias eléctricas, que arrastran fueradel secador los vapores producidos. Este proceso de secado presenta una gran eficiencia, ya que los equipos construidos pueden controlar la temperatura, la velocidad de aire y la disposición del alimento a secar (Águila y Romero, 2000).

2.3 Secadores de bandejas

Están formados por una cámara metálica rectangular que contiene unos soportes móviles sobre los que se apoya los bastidores. Cada bastidor lleva un cierto número de bandejas poco profundas, montadas unas sobre otras con una separación conveniente que se carga con el material a secar (Maupoey y col., 2001). Se hace circular aire caliente entre las bandejas por medio del ventilador (acoplado al motor), haciéndole pasar previamente por el calentador, constituido por un haz de tubos, por cuyo interior circula normalmente vapor de agua. Los tabiques distribuyen uniformemente el aire sobre las pilas de bandejas. A través del conducto de salida se evacúa continuamente aire húmedo y por medio de la abertura de entrada penetra aire fresco (Maupoey y col., 2001).

2.4 Deshidratación Osmótica

La deshidratación osmótica es una técnica de secado parcial de alimentos que consiste en la inmersión de los mismos en soluciones acuosas de solutos; como azúcares y/o sales de alta presión osmótica. La fuerza impulsadora requerida para el flujo del agua es la diferencia de potencial químico entre la disolución y el fluido intracelular (Della Rocca y Mascheroni, 2011). Los alimentos no presentan membranas perfectamente semipermeables, por su compleja estructura interna. Por ello, siempre se produce alguna difusión del soluto al alimento y una lixiviación de los componentes del alimento hacia la solución (Della Rocca y Mascheroni, 2011). Las frutas sometidas a este proceso mantienen las propiedades nutricionales y sensoriales de la fruta fresca (Torregianni, 1993), aspectos que hacen parte de las exigencias del consumidor y por ende de la industria de alimentos. Esta técnica se puede realizar a bajas temperaturas sin cambio de fase, originando productos de alta calidad y bajos costos de operación (Yao y Le Maguer, 1996).

La sacarosa es uno de los azúcares predominantes en las frutas, y por eso su uso frecuente en la deshidratación osmótica de las mismas. Dicha técnica de secado le confiere cambios mínimos a las propiedades sensoriales del producto (Torregiani, 1993).

La combinación de los métodos de deshidratación, previamente citados, es una manera de garantizar ampliamente la prolongación de su vida útil. La deshidratación osmótica, por ejemplo, es empleada en la actualidad como un pre-tratamiento antes de aplicar otra técnica, como el secado por convección (Hernández y Cornejo, 2010).

3. Frutas deshidratadas y microorganismos asociados.

El objetivo de la deshidratación de las frutas es el poder preservar el producto para evitar que se dañe y pierda su valor, además de obtener un producto refinado. Diversas frutas se deshidratan para originar productos de humedad intermedia cuya conservación se basa, como mecanismo principal, en una a_w baja. Pasas, ciruelas e higos son los productos secos que más se consumen, aunque también son populares manzanas, albaricoques y melocotones. Dependiendo del método de desecación seguido, sus niveles de humedad varían del 5% al 35%. En general, casi todas las frutas secas tienen una a_w lo suficientemente baja, como para inhibir el desarrollo de la mayor parte de las bacterias. Su alteración se limita casi exclusivamente a la producida por levaduras osmófilas y mohos xerotolerantes. Los recuentos de mohos de las frutas desecadas alcanzan una media de 10^3 UFC/g. Las levaduras implicadas corrientemente en la alteración de las frutas deshidratadas son *Zygosaccharomyces rouxii* y especies de *Hanseniaspora*, *Candida*, *Debaryomyces* y *Pichia*. Entre los mohos que crecen a a_w por debajo de 0,85 se incluyen diversas especies de *Penicillium* y *Aspergillus*, de *Eurotium* y *Wallemia sebi* (Doyle y col., 1997).

Las frutas antes de ser deshidratadas pueden ser sometidas a pre-tratamiento con el objetivo de inactivar enzimas, destruir sustratos, limpiar el producto o favorecer la rehidratación, lo cual influye en la carga microbiana. Estos procesos dependerán de las propiedades de las frutas y del método de secado a utilizar.

Para frutas deshidratadas la *Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos* ICMSF (2005) establece lo siguiente:

- El recuento de aerobios en placas es una medida útil de control e higiene del proceso.
- La población microbiana variará de acuerdo al tipo de fruta y a las condiciones de crecimiento y procesamiento.
- La presencia de coliformes no es un indicador útil de contaminación fecal.
- La presencia de *E. coli* puede indicar preocupación.
- Las frutas deshidratadas pueden deteriorarse debido al crecimiento de hongos filamentosos.

En Perú, la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. R.M. N° 591-2008/MINSA del 27 de Agosto de 2008, considera para las frutas desecadas, deshidratadas o liofilizadas, lo siguiente:

Agentes microbianos	Categoría	Clases	n	c	Límite por g/ml	
					M	M
Hongos	3	3	5	1	10	10 ²
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	5 x 10 ²
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	-----

Por su parte, Colombia, en el Reglamento Técnico Sanitario (2011), que deben cumplir las frutas deshidratadas establece los siguientes requisitos microbiológicos:

Parámetro	n	m	M	C
Recuento de hongos/g o ml	5	10	100	1

n: número de unidades a examinar

m: índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad

M: índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad

c: Número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.

4. Antimicrobianos

Son sustancias que prolongan la vida útil de los alimentos protegiéndolos del deterioro ocasionado por microorganismos (Covenin, 2000). Los antimicrobianos se clasifican en tradicionales y naturales, siendo los tradicionales aquellas sustancias químicas incluidas dentro de la normativa vigente y los antimicrobianos naturales, sustancias que se obtiene de materiales o procesos biológicos, y cuya inocuidad se atribuye a la degradación por el organismo, tras la ingesta de las mismas (García, 2004).

4.1 Tipos de antimicrobianos

Antimicrobianos químicos o tradicionales: La Administración de Alimentos y Medicamentos (por sus siglas en ingles FDA) los define como cualquier compuesto de carácter sintético que cuando se adiciona a un alimento tienden a prevenir o retardar su deterioro, pero no se incluye sal común, azúcares, vinagres, especias y sustancias que se adicionan al alimento por exposición directa como humo de madera (García, 2004). El uso

de los compuestos químicos que actúan como antimicrobianos o conservantes, sólo está permitido en concentraciones relativamente pequeñas (Adarme y Rincones, 2008).

Antimicrobianos naturales: Son compuestos naturales capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos y se clasifican según su origen, como se describe a continuación (Beuchat, 2001):

-Origen animal: Incluye proteínas, enzimas lipídicas, lactoperoxidasa, lactoferrina, hidrolasas como las lipasas y proteasas (Beuchat, 2001) y polisacáridos como el quitosan.

-Origen microbiano: incluye compuestos producidos por microorganismos donde se encuentran los antibióticos, tales como nisina, pediocina, piramicina, subtilina, natamicina entre otros.

-Origen vegetal: Incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001).

4.2 Acción de los antimicrobianos

La acción de los antimicrobianos sobre las células de los microorganismos, durante la conservación de los alimentos, está basada en una gran variedad de efectos individuales, dentro de los que se incluyen mecanismos físicos, fisicoquímicos y reacciones bioquímicas de la célula afectada (Adarme y Rincones, 2008); entre estos efectos se encuentran:

-Interferencia en la membrana celular, al destruir su carácter semipermeable, lo que inhibe el intercambio metabólico del microorganismo con el medio.

-Inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o pared celular.

-Disminución de las actividades enzimáticas, al afectar la naturaleza de las proteínas o al producir una inhibición competitiva por combinación del antimicrobiano con el grupo activo de la enzima.

-Daño del material genético; genera que la célula pierda su capacidad para reproducirse o causa mutaciones, impidiendo el crecimiento de estas.

-Interferencia con la gran variedad de procesos metabólicos esenciales (Adarme y Rincones, 2008)

Algunos antimicrobianos pueden afectar a muchos tipos de microorganismos, mientras que otros muestran un espectro de acción inhibitoria más reducida. De igual forma, algunos antimicrobianos pueden ser bactericidas y otros bacteriostáticos (García, 2004). La actividad antimicrobiana, se mide determinando la cantidad más pequeña del agente antimicrobiano que se necesita para inhibir el crecimiento de un organismo control y esto se conoce como concentración mínima inhibitoria (CMI) (Andrews, 2001).

4.3 Mezclas de antimicrobianos

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos o fungistáticos, es decir, sistemas de conservación que impiden el desarrollo de microorganismos, en lugar de bactericidas o fungicidas, sistemas de conservación que destruyen los microorganismos, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de frutas o alimentos en general (Blanchard, 2000).

Cuando se combinan dos o más antimicrobianos, pueden suceder los siguientes efectos:

Efecto aditivo: Ocurre cuando la actividad antimicrobiana del compuesto no aumenta ni disminuye con la presencia de otro compuesto antimicrobiano (Schmidt-Hebbel, 1990).

Efecto sinérgico: Se refiere al incremento de la actividad antimicrobiana de un compuesto con la presencia de un segundo agente antimicrobiano, o se logra una acción inhibitoria mayor con una dosis menor que la de los compuestos separados (Schmidt-Hebbel, 1990).

Efecto antagónico: Ocurre cuando la actividad antimicrobiana de un compuesto es reducida con la presencia de un segundo agente antimicrobiano, necesitando una dosis mayor que la de los componentes por separado (Davidson y Parish, 1989).

4.4 Permisividad de los antimicrobianos.

Las condiciones de uso de los antimicrobianos están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Actualmente, existen límites a la cantidad que se puede añadir. Existe una estimación efectuada de la cantidad de aditivos, que se expresa respecto al peso corporal, que una persona pueda ingerir diariamente durante toda su vida sin riesgos para su salud (Covenin, 2000).

Cuando adquirimos en el supermercado un alimento no procesado como frutas y hortalizas, es posible que dicho alimento pueda haber sufrido alguna contaminación de

manera no intencional, encontrándose componentes naturales del propio alimento, toxinas producidas por alguna bacteria, productos derivados del procesamiento y la manipulación, e incluso aditivos; sustancias dotadas o no de valor nutritivo, que pueden ser agregadas al alimento durante la fabricación, preparación, elaboración, tratamiento, empaçado, conservación, transporte y almacenamiento. Estos aditivos se añaden con un fin tecnológico (Covenin 2000).

Las industrias de alimentos son las principales interesadas en controlar las poblaciones microbianas indeseables, que pueden alterar o dañar las características de los alimentos (Adarme y Rincones, 2008), debido a que el principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano, por medio de alimentos inocuos y nutricionalmente adecuados, además de cubrir las expectativas en cuanto a sabor, aroma, apariencia y mayor comodidad (Rodríguez, 2011). En base a esto, distintos compuestos, químicos o naturales, se utilizan como antimicrobianos. Sin embargo, el empleo de estos compuestos debe depender de las características del alimento y de los efectos que pueda ejercer el conservante sobre el producto; en cuanto a olor, sabor y textura. Además, se deben considerar los posibles efectos secundarios en los consumidores, porque la preservación de productos alimenticios se enfoca fundamentalmente en la reacción del consumidor frente a un determinado producto (Adarme y Rincones, 2008).

5. Vainillina.

La vainillina (4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído), es un aceite esencial que se encuentra en las vainas de la orquídea de la vainilla. Es un compuesto de bajo peso molecular (152,15 g/mol), densidad (1g/cm³) (Fitzgerald y col., 2003; Merck, 1999). Se ha mostrado muy eficaz en frutas como la manzana, las fresas, el mango y la piña (Cerrutti y

Alzamora, 1996; Cerruti y col., 1997; López-Malo y col., 1995, 1997, 1998; Matamoros-León, 1999). La vainillina se ha utilizado ampliamente en la industria alimentaria, como saborizante y aromatizante, también es empleada en la industria farmacéutica (Martínez y col., 2011). Esta sustancia es Generalmente reconocido como seguro (GRAS, por sus siglas en inglés) y es bien aceptada por muchos consumidores. Tiene acción antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, hongos (Jay y Rivers, 1984).

Su modo de acción consiste en perturbar la membrana citoplasmática, el flujo de electrones en la fuerza protón motriz, el transporte activo y la coagulación de los contenidos celulares en el citoplasma (Burt, 2004).

La vainilla es cultivada en muchos países tropicales y aunque se produce una alta cantidad de vainillina cada año, menos del 1% es natural, es decir, extraída de la vainilla. El resto se sintetiza, con menores costos, a través de procesos químicos, obteniéndose del tabaco o de la lignina, un polímero complejo de las plantas leñosas, la cual constituye un subproducto en la manufactura de la pulpa de papel (Geissman, 1974).

6. Benzoato de sodio

Es una sal del ácido benzoico que se obtiene reaccionando este con hidróxido de sodio. Esblanca, cristalina, gelatinosa o granulada, de fórmula C_6H_5COONa , soluble en agua y ligeramente soluble en alcohol. Representa uno de los agentes químicos que se utiliza desde hace mucho tiempo en la industria de alimentos, fármacos y cosméticos. Fue el primer conservante químico aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) (Barbosa, 1999).

Presenta una gran variedad de usos, entre ellos: Agente antimicrobiano en alimentos contra bacterias hongos, preservativo de; cosméticos, enjuagues bucales, y productos farmacéuticos. Se emplea como materia prima en la fabricación del benzaldehído, como intermediario químico en la síntesis de colorantes; como inhibidor de corrosión y como antioxidante en líquidos anticongelantes (Barbosa, 1999).

La acción antimicrobiana del benzoato de sodio consiste en diversas intervenciones sobre el sistema enzimático de la célula del microorganismo. La acción del benzoato de sodio es mayor hacia los hongos (Luck y Jager, 2000), sin embargo; en muchas bacterias y hongos resultan inhibidas enzimas que controlan los metabolismos del ácido acético y la fosforilación oxidativa. El benzoato de sodio también puede intervenir en varios sitios del ciclo del ácido cítrico, especialmente en el ácido β -cetoglutarico y el ácido succínico deshidrogenasa. Además de su efecto inactivador de enzimas, el benzoato de sodio actúa sobre la pared celular, cuando esto ocurre la parte no disociada es la que tiene mayor acción antimicrobiana y penetra con mayor facilidad en la célula (Luck y Jager, 2000).

7. Investigaciones relacionadas

- * Castañón y col, realizaron un estudio sobre el efecto de la temperatura de almacenamiento en la estabilidad microbiológica del puré de plátano en 15, 25 y 35°C; con la adición de 1000 ppm vainillina no lograron detener el crecimiento microbiano, mientras que con 3000 ppm vainillina y 1000 ppm sorbato de potasio inhibieron la flora nativa en el puré de plátano durante al 60 días
- * González (2011), logró conservar una pulpa refinada de piña (*Ananas comosus L.*) de la variedad “Española Roja” aplicando los principios de la tecnología de obstáculos, seleccionó como obstáculos: la adición de sorbato de potasio (400 ppm),

benzoato de sodio (400 ppm), ácido cítrico (pH de 3,4) y sacarosa (°Brix 36). Con base en los resultados obtenidos en los análisis de bacterias acidúricas, hongos de las muestras, se pudo corroborar la estabilidad microbiológica de la pulpa en refrigeración durante los 57 días. El recuentos de bacterias acidúricas, hongos, en ningún caso sobrepasó el límite máximo definido en COVENIN 2395 (1986).

- * Rupasinghe y col (2006), evaluaron el efecto de la vainillina contra cuatro microorganismos patógenos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* y *Salmonella entérica* y cuatro microorganismos deteriorativos, *Candida albicans*, *Lactobacillus casei*, *Penicillium expansum*, y *Saccharomyces cerevisiae* en dos variedades de manzana, Crispin e Imperio. Todos los microorganismos ensayados fueron inhibidos por la vainillina empleando entre 6 y 18 mM, con la excepción de *P. expansum* que se inhibió con una cantidad mayor a 18 mM. Con la aplicación 2 mM de vainillina se inhibió el crecimiento de los microorganismos en las rodajas de manzana almacenadas a 4°C en un 37 y 66%

- * Fitzgerald y col. (2004), emplearon concentraciones mínimas inhibitorias de 15, 75 y 35 mmol. La inhibición observada reveló una acción bacteriostática, lo que indicó que el efecto desestabilizador de la vainillina en la membrana está en un nivel subletal para la mayoría de la población microbiana.

- * López-Malo y col (1998), evaluaron los efectos sinérgicos de la vainillina y el pH en el crecimiento de mohos. La combinación de pH (3-4) y la vainillina (500-

1000ppm) en el crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* y *Aspergillus parasiticus* fue evaluada con una a_w de 0,98. La germinación de los mohos y el tiempo de la tasa de crecimiento fue significativamente afectado por ambas variables. El tiempo de retraso aumentó cuando se incrementaba la concentración de vainillina y el pH decrecía.

- * López-Malo y col (2006), estudiaron la respuesta de crecimiento de *Aspergillus flavus*, empleando extracto de canela y benzoato de sodio. Utilizaron agar de dextrosa de patata (PDA) ajustado a 0,98 a_w ; pH 3.5 o 4.5 y evaluaron durante 30 días. Con 200 ppm de extracto de canela, se inhibió el microorganismo y el efecto no fue dependiente del pH. El benzoato de sodio presentó mayor reducción en la población de *Aspergillus flavus* a pH3,5 y a concentraciones de 400 y 800ppm

- * López-Malo y col (2004), evaluaron el crecimiento de *Aspergillus flavus* en presencia de conservantes químicos y compuestos antimicrobianos de origen natural. Combinaron el pH (4,5 o 3,5) y agentes antimicrobianos como el sorbato de potasio, benzoato de sodio, bisulfito de sodio, carvacrol, citral, eugenol, timol, o vainillina en concentraciones de 0, 100, 200 hasta 1800 ppm. El tiempo de germinación de las esporas del moho así como el crecimiento radial del mismo, fueron significativamente ($p < 0.05$) afectados por las variables. El efecto de las concentraciones de los antimicrobianos fue similar en cada compuesto, además; la reducción en el pH tuvo efectos importantes. Se redujo el crecimiento radial y se retrasó el tiempo de germinación. El tiempo de germinación aumentó a medida que

las concentraciones de los agente antimicrobianos aumentaron y cuando a_w y pH disminuyeron.

- * Cerruti y Alzamora (1995), evaluaron el efecto inhibitor de la vainillina en levaduras, empleando purés de frutas. La actividad antimicrobiana, se evaluó a pH 4,0 y a una a_w de 0,99 y 0,95. Con la aplicación de 2000 ppm de vainillina con 0,95 de a_w se obtuvo efecto inhibitorio durante 40 días de almacenamiento en purés de manzana. Con una a_w 0,95 combinada con la acción de 1000 ppm vainillina dio como resultado sólo la inhibición de la *Saccharomyces cereuisiae* y *D. hansenii*.

III Objetivos

1. Objetivo General:

- Evaluar la acción antimicrobiana de la vainillina y el benzoato de sodio en piña (*Ananas comosus*) sometida a diferentes técnicas de deshidratación.

1.1 Objetivos específicos:

- Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de la materia prima.
- Deshidratar cortes de piña por convección de aire caliente (T1); con vainillina (B), benzoato de sodio (C) y la combinación de benzoato de sodio + vainillina (D), y sin aditivos (control).
- Deshidratar cortes de piña por secado osmótico + secado por convección de aire caliente (T2), con los tratamientos B, C, D. y el control

- Caracterizar fisicoquímicamente las piñas deshidratadas por las distintas técnicas de deshidratación (T1 y T2), con los tratamientos B, C, D. y el control
- Cuantificar la vainillina y el benzoato de sodio en las rodajas de piña deshidratada por T1 y T2
- Establecer el recuento de aerobios mesófilos en las muestras de piña deshidratada por T1 y T2, con los diferentes tratamientos B, C, D. y el control.
- Establecer el recuento de hongos en las muestras de piña deshidratada por T1 y T2, con los diferentes tratamientos B, C, D. y el control
- Establecer el recuento de coliformes y *E.coli* en las muestras de piña deshidratada por T1 y T2, con los diferentes tratamientos B, C, D. y el control
- Establecer el recuento de Enterobacterias totales en las muestras de piña deshidratada por T1 y T2, con los diferentes tratamientos B, C, D. y el control

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materia prima

Los frutos de piña (*Ananas comosus*) de la variedad Cayena Lisa, provenientes del estado Lara, fueron obtenidos en el mercado local de Quinta Crespo y se seleccionaron utilizando el criterio de madurez (Figura 8), tamaño y firmeza. Una parte fue trasladada a la planta piloto de DEVENALSA, S.A, Deshidratadora Venezolana de Alimentos, para proceder a la fase de deshidratación, mientras que otra fue transportada de manera aséptica a los laboratorios del área de Biotecnología y Control Microbiano del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) para los ensayos correspondientes.

1.1 Diseño experimental

Para iniciar la etapa experimental se procedió a quitar la corona, para luego lavar las piñas con hipoclorito de sodio al 0,15%v/v; después del lavado las mismas fueron peladas a través de una peladora semi-manual, separando la cáscara y el corazón de la pulpa. Por último las piñas fueron cortadas en rodajas con una rebanadora manual a un grosor aproximado de 1 cm.

Se evaluaron tres lotes de piña (*Ananas comosus*) en las dos técnicas de deshidratación. La alimentación de piña fresca en el deshidratador de bandejas constó de 80 kg en cada lote, el cual se fraccionó en 20 kg para todas las condiciones evaluadas (Control sin aditivos, B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina).

1.2 Muestreo

En la deshidratación T1, se obtuvo aproximadamente de once (11) a doce (12) kg de rodajas de piña deshidratada en cada lote; aproximadamente tres (3) kg para los tratamientos (B, C, D y el control). Los lotes fueron sometidos al procedimiento de muestreo para inspección por atributos (COVENIN 3133-1:2001). Fue aplicada una inspección del tipo II (normal), inspeccionando microbiológicamente dos muestras por tratamiento, presentándose un total de 24 muestras (incluidos los tres lotes).

En la deshidratación T2, se obtuvo aproximadamente dieciocho kilos y medio (18,5) de piña deshidratada; obteniéndose alrededor de cuatro kilos y medio (4,5) para los tratamientos (B, C, D y el control). Los lotes, como se mencionó anteriormente, fueron sometidos al procedimiento de muestreo para inspección por atributos (Covenin 3133-

1:2001), procediendo de igual manera que en el caso antes mencionado.

Las muestras se seleccionaron de la siguiente forma:

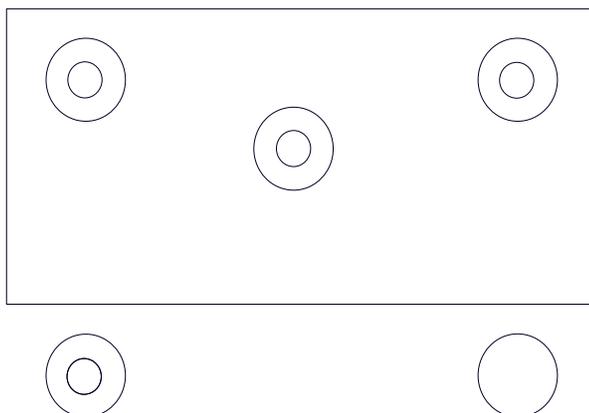


Figura 1: Esquema de plan de muestreo de las rodajas de piña en las bandejas.

1.3 Tratamientos.

1.3.1 Deshidratación por convección de aire caliente (T1).

Para la aplicación de aditivos se elaboró una solución con fruta y agua en la proporción (1:2,5) y fue adicionado el correspondiente antimicrobiano (Figura 2) Subsiguientemente, las rodajas de piña fueron sumergidas por 30 min en dichas solución, a $\sim 27^{\circ}\text{C}$ y presión atmosférica. Transcurrido el tiempo indicado las mismas se escurrieron para luego ser enjuagadas, culminando esta fase con la aplicación desecado por convección de aire caliente en un deshidratador de bandejas HAVERST SABER, modelo N° R-5^aA,

serial N°11-263; con una temperatura de $55\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 10h. Las piñas deshidratadas fueron empacadas en bolsas aluminizadas y almacenadas a temperatura ambiente. Finalmente, se transportaron bajo condiciones de asepsia a los laboratorios del ICTA para su posterior análisis.

1.3.2 Deshidratación por combinación de secado osmótico y por convección de aire caliente (T2).

En esta técnica de secado se elaboró una solución osmótica fruta/jarabe, cuya relación fue (1:2,5). Durante la elaboración del jarabe se empleó sacarosa (azúcar blanca de mesa), la cual fue adquirida en un local comercial y se agregó hasta alcanzar los 60°Brix ,

para luego
inmersión
temperatura
manera que
caliente.

adicionar el correspondiente antimicrobiano (Figura 3), y efectuarla de las rodajas de piña durante 3 horas a una de $\sim 27^{\circ}\text{C}$, con agitación cada 30min. Transcurrido el tiempo se procedió de igual en el secado por convección de aire

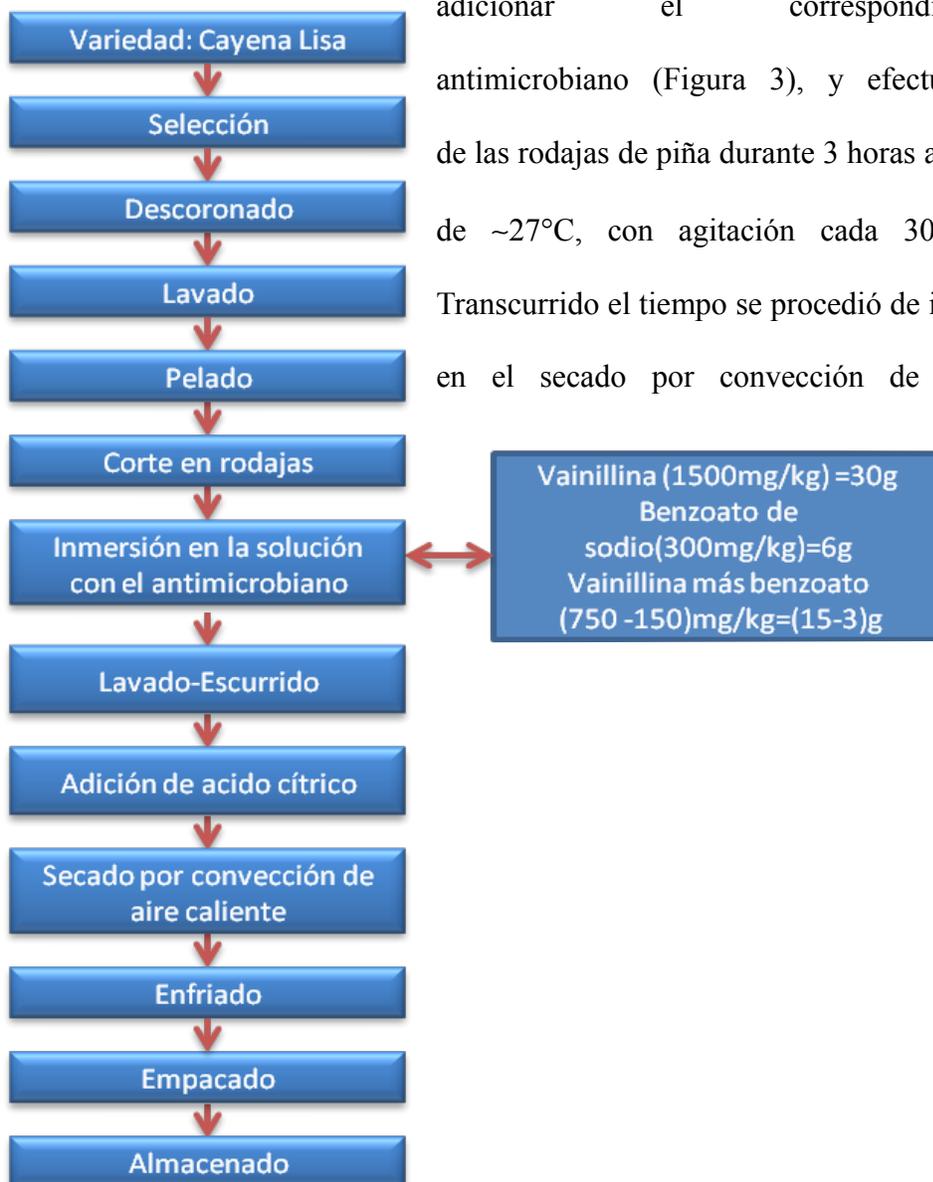




Figura 2: Proceso de deshidratación de las rodajas de piña T1 (deshidratación por convección de aire caliente)

Sacarosa 60 ° Brix
 Vainillina (1500mg/kg)
 =30g
 Benzoato de sodio
 (300mg/kg)=6g
 Vainillina más benzoato
 (750 -150)mg/kg =(15-3)g

Figura 3: Flujograma del proceso de deshidratación de las rodajas de piña T2 (combinación de secado osmótico con secado por convección de aire caliente)

1.4 Caracterización fisicoquímica de la materia prima y de las rodajas de piña T1 y T2.

Tanto la materia prima como la piña deshidratada se caracterizaron fisicoquímicamente, realizándose cada análisis por triplicado y determinando los parámetros que se especifican a continuación.

Tabla 5: Determinación fisicoquímica de la materia prima y de las rodajas de piña T1 y T2.

Parámetros fisicoquímicos	Métodos	Equipos	Descripción del método	Expresión de resultados
Acidez	Norma Covenin (1151-77) frutas y productos derivados	Bureta, fiolas.	En 100ml de agua destilada hirviendo fueron agregados 10g de muestra, la cual hirvió por 30 segundos. Se enfrió a T amb, luego fue adicionado 1ml de fenolftaleína y se tituló con NaOH	mg de ácido

Actividad de agua (a_w)	AOAC 32.005	AQUALAB CX-2	La muestra fue agregada en el recipiente correspondiente y se esperó a que el equipo proyectara la lectura.	a_w
Humedad	AOAC 930.15	Estufa y bomba para vacío	5g de muestra se colocaron en sus respectivas cápsulas y fueron sometidas a 70°C en una estufa a vacío con una presión de 20mmHg hasta que las muestras obtuvieron peso constante.	Porcentaje (%)
pH	AOAC 962.19	Potenciómetro digital HANNA instrument modelo pH 211	Una vez calibrado el equipo se llevó a cabo la medición, diluyendo 5g de muestra en 50ml de agua destilada	$-\text{Log}_{10}[\text{H}^+]$

1.5 Cuantificación de los antimicrobianos en las rodajas de piña T1 y T2

a: Muestras patrón

b: Muestra de piña deshidratada con vainillina

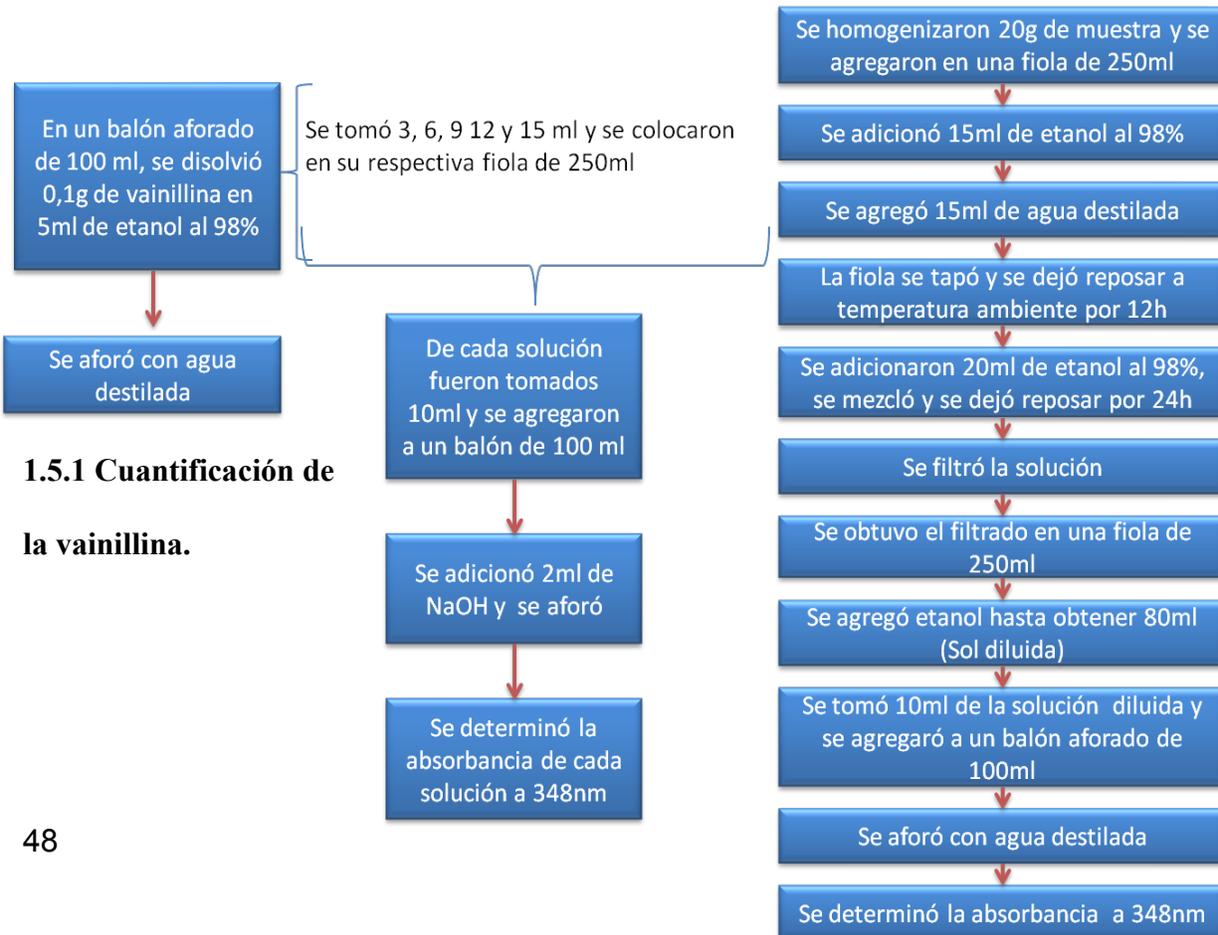
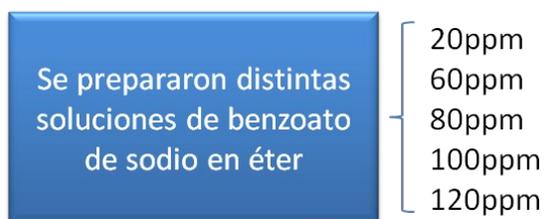


Figura 4: Flujograma del proceso de cuantificación de la vainillina en las rodajas de piña deshidratada; a: Preparación de las muestras patrón b: Preparación de la muestra para la determinación de la vainillina.

1.5.2 Cuantificación del benzoato de sodio.

a: Muestras patrón



b: Muestras de piña deshidratada con benzoato de sodio



Figura 5: Flujograma del proceso de cuantificación del benzoato de sodio en las rodajas de piña deshidratada; a: Preparación de las muestras patrón b: Preparación de la muestra para la determinación de benzoato de sodio.

1.6 Evaluación Microbiológica

1.6.1 Evaluación de la calidad microbiológica de las rodajas de piña T1 y T2.

1.6.1.1 Determinación de aerobios mesófilos.

Se pesó 25g de las muestras y se colocaron en fiolas que contenían 225ml de agua peptonada, para obtener así la dilución 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , suficientes para determinar la población. Posteriormente, se sembró 0,1 ml de cada dilución por extensión en superficie y por duplicado en placas de agar PCA, las cuales se incubaron a $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ por $48\pm 3\text{h}$, según la norma Covenin Venezolana N° 902-87. “Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri”. Al final del período de incubación, se contaron las colonias en un rango comprendido entre 30 a 300UFC/g. Cuando el recuento estuvo por debajo del rango, el mismo se estimó contando el número de colonias y multiplicando este valor por la dilución correspondiente (10^{-1}). El recuento se expresó como el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por g ($\log_{10}\text{UFC/g}$) (Figura 6 y 7).

1.6.1.2 Determinación de hongos.

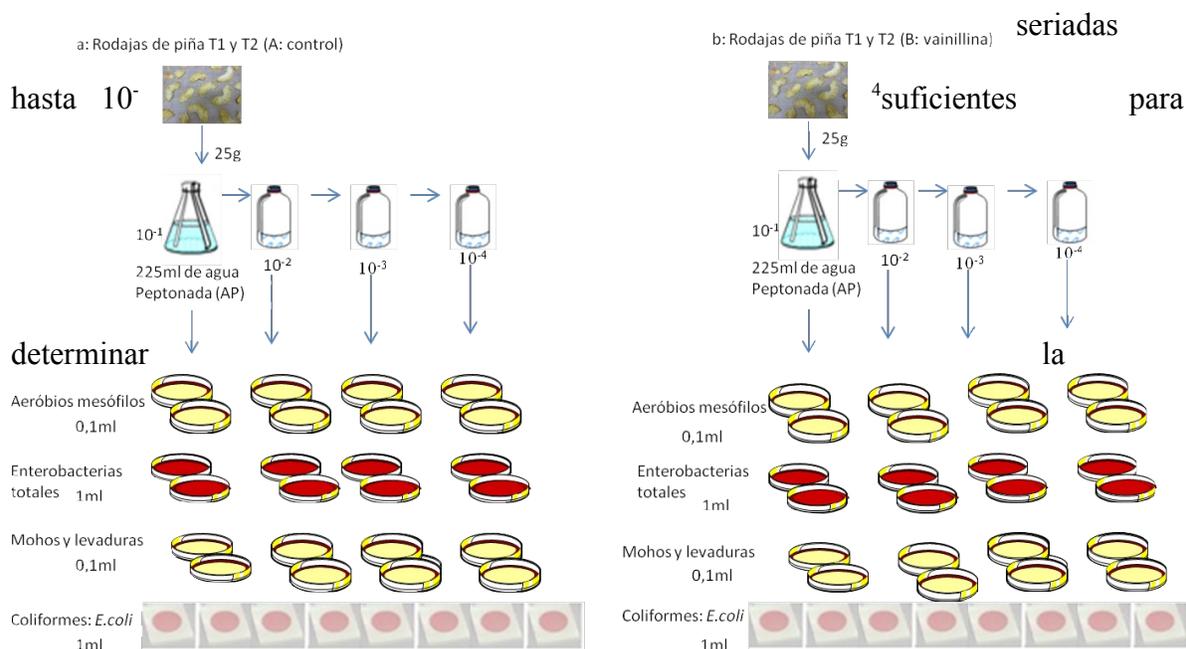
Fueron pesados 25g de las muestras y se colocaron en fiolas que contenían 225ml de agua peptonada, para obtener así la dilución 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} , suficientes para determinar la población. Posteriormente, se sembró 0,1 ml de cada dilución por extensión en superficie y por duplicado en placas de agar PDA, las placas se incubaron a temperatura ambiente 20-25°C por 3-5 días según la norma Covenin Venezolana N° 1337-90. “Alimentos. Método para recuento de hongos”. Al final del período de incubación, se contaron las colonias, en un rango comprendido entre 20 a 200UFC/g. Cuando el recuento estuvo por debajo del rango, el mismo se estimó contando el número de colonias y multiplicando este valor por la dilución correspondiente (10^{-1}). El recuento se expresó como el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por g (\log_{10} UFC/g) (Figura 6 y 7).

1.6.1.3 Determinación de *E. coli* /Coliformes totales.

25g de las muestras fueron pesados y se colocaron en fiolas que contenían 225ml de agua peptonada, para obtener así la dilución 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} suficientes para determinar la población. Posteriormente se sembró 1 ml de cada dilución y por duplicado en placas petrifilm para *E.coli*/Coliformes, las placas se incubaron a 37°C por 48h, según la norma Covenin Venezolana N° 276-1997. “Alimentos. Recuentos de coliformes y de *Escherichia coli*. Método en placa con películas secas rehidratables (petrifilm)”. Al final del período de incubación, se contaron las colonias. El recuento se expresó como el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por g (\log_{10} UFC/g)(Figura 6 y 7).

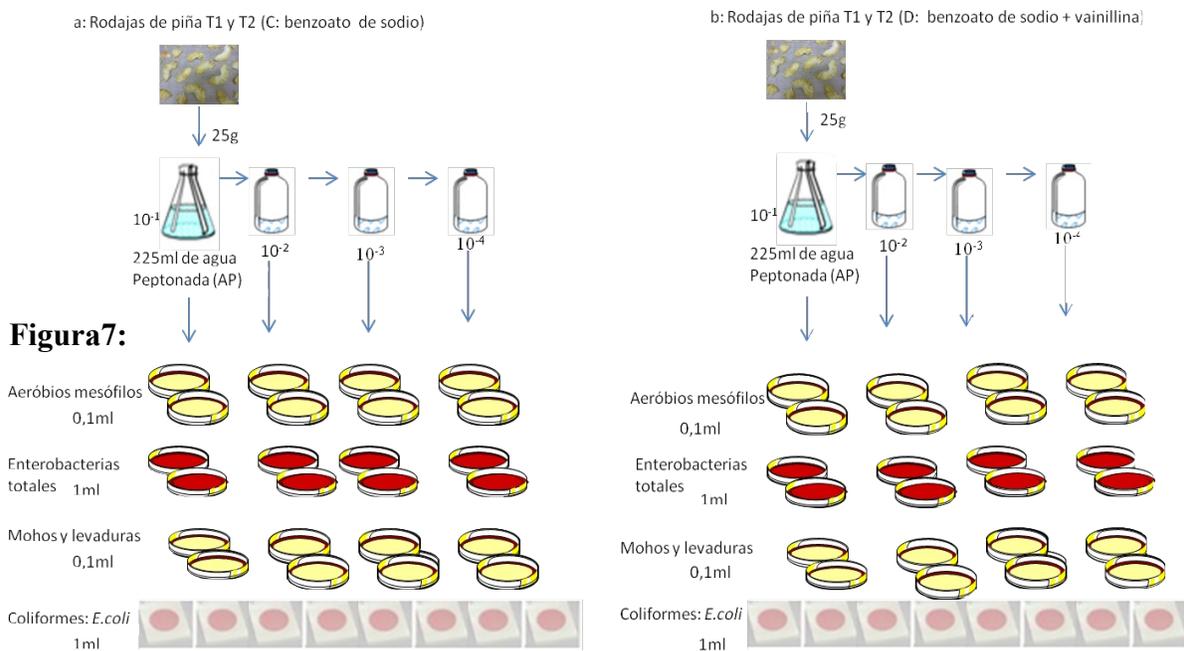
1.6.1.4 Determinación de enterobacterias totales

Se pesó 25g de las muestras y se colocaron en fiolas que contenían 225ml de agua peptonada, para obtener así la dilución 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones



población. Posteriormente se sembró 1 ml de cada dilución por doble capa y por duplicado en placas con agar VRBG, las placas se incubaron a 37°C por 48h. Al final del período de incubación, se contaron las colonias en un rango comprendido entre 20 a 200UFC/g, cuando el recuento estuvo por debajo del rango, el mismo se estimó contando el número de colonias y multiplicando este valor por la dilución correspondiente (10^{-1}). El recuento se expresó como el logaritmo en base 10 de las unidades formadoras de colonias por g (\log_{10} UFC/g) (Figura 6 y 7).

Figura 6 : Procedimiento del análisis microbiológico en las rodajas de piña T1y T2, sometidas a los diferentes tratramientos. a y b.



Procedimiento del análisis microbiológico en las rodajas de piña T1 y T2, sometidas a los diferentes tratamientos. a y b.

1.7 Análisis estadístico de los resultados

Los análisis se realizaron empleando el programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.1. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con una nivel de 95% de

confianza en las rodajas de piña T1 y T2 para saber si existían diferencias significativas entre los tratamientos (B, C, D y el control) para cada técnica de secado (T1 y T2). Igualmente, se aplicó un ANOVA para comparar los tratamientos entre ambas técnicas y por último se realizó una prueba de correlación de Pearson entre los parámetros microbiológicos y fisicoquímicos para determinar la existencia de la influencia entre los mismos.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización de la materia prima fresca.

Se define como materia prima a todos los elementos que se incluyen en la elaboración de un producto. La materia prima es todo aquel elemento que se transforma e incorpora en un producto final. Un producto terminado tiene incluido una serie de elementos y subproductos, que mediante un proceso de transformación permiten la confección del producto final. Una de las primeras condiciones para obtener un producto seguro para el consumidor es una materia prima óptima, que cumpla con los estándares de calidad requeridos. De lo contrario, no importa el tratamiento que se aplique, el producto final no será de calidad (Peresson, 2007).

La degradación de los productos vegetales por acción microbiana no siempre representa una posible toxiinfección para el consumidor, ya que existen microorganismos inofensivos para los mismos, pero altamente dañinos para la fruta, que degradan su calidad y la deprecian comercialmente (Larios, 2011). Por tal motivo, el control de enfermedades postcosecha debe comenzar en el campo, ya que un buen programa sanitario disminuye la

fuente de inóculo y los riesgos de infecciones luego de la cosecha (Calderón y Cerdas, 2005).

Adicionalmente, se debe tener un manejo adecuado durante las operaciones de cosecha y empaque. La disposición de las cajas es importante para que las paletas sean estables y permitan la correcta circulación de aire entre ellas (Calderón y Cerdas, 2005). La colocación de las piñas debe limitar su movimiento durante el transporte, disminuyendo los daños físicos que pueden facilitar la entrada de los microorganismos. De igual manera, deben cumplirse los parámetros apropiados durante el transporte y almacenamiento del fruto (temperatura de 7-10°C en frutas maduras, 10-13°C en frutas verdes, humedad relativa entre 85-90%, ya que sometidos a estas condiciones, se logra que la vida comercial de la piña alcance un máximo (4-6 días). (Larios, 2011; Calderón y Cerdas, 2005).

De no tomar las acciones adecuadas en los puntos mencionados se acelera la velocidad de deterioro, porque estos cambios postcosecha no pueden ser detenidos, pero sí retrasados. La caracterización físico-química nos puede dar idea de la susceptibilidad al deterioro que puede sufrir un determinado tipo de alimento (Jay, 2002).

En los análisis experimentales del fruto evaluado (Cayena Lisa), se obtuvieron los resultados que se exponen en la siguiente tabla:

Tabla 6: Parámetros fisicoquímicos evaluados en la materia prima.

Materia prima	a_w	pH	% ácido cítrico	% Humedad
Piña (Cayena Lisa)	0,982 ± 0,001	3,18 ± 0,02	0,07 ± 0,1	86,2 ± 0,3

Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar.

Como se puede observar en la tabla 6, dicha materia prima poseía una alta a_w ; la cual está relacionada a un elevado porcentaje de humedad, como se refleja en dicha tabla. Estos resultados son esperados para la piña fresca, ya que las frutas en general poseen un alto contenido de agua, que constituye hasta un 90% de las mismas (Cañizares y col., 2010). En las piñas el contenido de humedad conforma el 85% de su peso (Samaniego, 2003). Según, Montilla (1997), la variedad de Cayena Lisa posee un 86% de humedad, lo que coincide con el porcentaje de humedad obtenido en el presente trabajo. Los elevados valores de humedad y a_w dan indicios del rápido deterioro que puede padecer este fruto en poco tiempo (Hulme, 1970).

La mayoría de las frutas son particularmente ricas en ácidos orgánicos, que están usualmente disueltos en la vacuola de la célula (Hulme, 1970). En la piña, los ácidos más comunes y abundantes son el ácido cítrico y el ácido málico, con una acidez promedio que varía entre 0,79 y 1,11% (Montilla, 1997). En las especificaciones básicas de calidad de la piña para exportación se tiene un ácido cítrico de 0,3% y un pH de 3,60 (Castalleda, 2003). Sin embargo, en este caso, la cantidad de ácido cítrico cuantificado fue 0,07% de ácido cítrico y el pH fue de 3,18; ambos valores estuvieron por debajo de los referidos. Posiblemente, esto se deba a que las piñas están constituidas por pequeñas frutillas fundidas entre sí por un eje central, lo que hace que su composición química no sea homogénea a lo largo de sus diferentes partes. Además, la acidez varía mucho según su estado de maduración y el tiempo de cosecha (Montilla, 1997).

La materia prima empleada estuvo constituida por diferentes estados de madurez, desde 0 hasta 6 (Figura 8), siendo la actividad fisiológica de la fruta madura diferente a la de una fruta inmadura (Por la diferencia de edad), la cual presenta una diferente

composición química. La acidez aumenta en la fruta antes de la maduración y disminuye al acercarse la cosecha (Montilla, 1997). Todas estas razones pudieron influir en el porcentaje de ácido cítrico y en el pH obtenido.

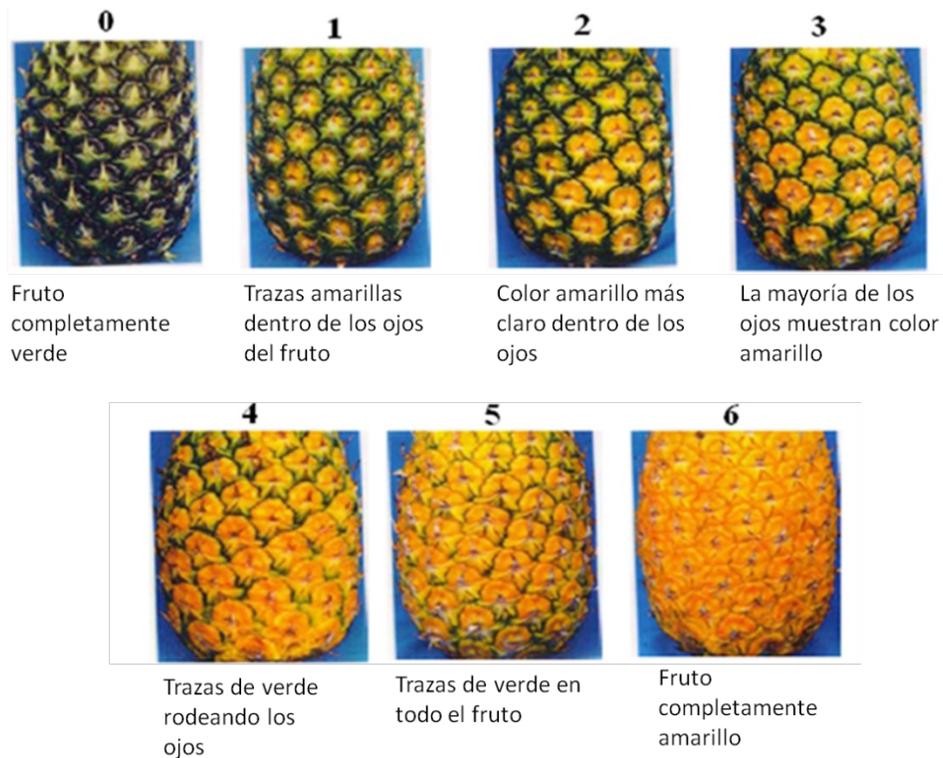


Figura 8: Estado de madurez de la piña (*Ananas comusus*)

1.1 Deshidratación T1 y T2

Como se ha citado previamente, la susceptibilidad al deterioro de muchas frutas ha propiciado la aplicación de procesos que permiten extender su vida útil. Entre ellos, la deshidratación suele aplicarse con efectividad en frutas y hortalizas. En base a esto, se emplearon distintas técnicas de deshidratación para evaluar su efectividad en piñas.

El proceso para obtener las rodajas de piña por la deshidratación T1 (convección de aire caliente), requirió menos esfuerzo físico, en cuanto a la elaboración del producto, en comparación con el proceso combinado de deshidratación T2 (deshidratación osmótica +

deshidratación convencional). Sin embargo, en la deshidratación por convección de aire caliente, es más delicado el manejo de la materia prima porque se vuelve más susceptible al pardeamiento durante este proceso de deshidratación (Cañizares, 2007).

En la aplicación de la deshidratación osmótica se necesitó un mayor esfuerzo físico y un tiempo de experimentación más prolongado, durante la elaboración del producto, ya que el mismo debía agitarse cada media hora. No obstante, el requerimiento energético en esta deshidratación osmótica es menor, porque no existen cambios en el estado del agua, a diferencia de lo que ocurre en la deshidratación por convección de aire caliente (Cañizares, 2007).

Para lograr las características deseadas del producto, las rodajas de piña T1 permanecieron más tiempo en el deshidratador de bandejas que las rodajas de piña en T2. Esto se atribuye al principio y a la combinación de las dos técnicas de deshidratación, empleadas en este último caso. Las rodajas de piña T1 se colocaron a secar en el deshidratador de bandejas, luego de su acondicionamiento, por tratarse de una deshidratación por convección de aire caliente. Mientras que, las rodajas T2, previo a la deshidratación por convección, fueron sometidas a una deshidratación osmótica como pre-tratamiento, el cual redujo su contenido de humedad. Por tal motivo, en la deshidratación T2 las rodajas de piña necesitaron un menor tiempo de deshidratación y su a_w fue menor que para las rodajas de piña T1 (Tabla 7), atribuyéndose lo indicado a la aplicación previa del secado osmótico.

La combinación de estas técnicas de deshidratación mantienen las características sensoriales del producto (Torregiani y Bertolo, 2002). No obstante, cuando se aplica

únicamente la deshidratación por convección de aire caliente el producto puede modificarse.

El tiempo de deshidratación y la humedad final del producto dependen de la localización del deshidratador, de las condiciones climáticas del lugar y de las características de los productos, los cuales se deshidratan más rápido si el material se corta en pequeñas porciones y presenta una mayor superficie de secado (Hernández y Cornejo, 2010). Las rodajas de piña empleadas en esta investigación presentaron un corte aproximado de 1cm. No obstante, las condiciones previamente citadas (humedad, ubicación del equipo, etc.) no pueden mantenerse constante, en un 100%, lo que sin duda influye en el producto final.

1.2 Características fisicoquímicas de las rodajas de piñas por T1 y T2

Luego del proceso de secado se procedió a evaluar los distintos parámetros fisicoquímicos en las rodajas de piña.

La caracterización del producto permite al fabricante estimar como este se comportará a lo largo del tiempo, estimando el tiempo de anaquel. Los productos alimenticios contienen todos los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos, sin embargo, la composición del alimento tiene un efecto selectivo sobre la flora microbiana. Los microorganismos se desarrollan en función de los parámetros fisicoquímicos del alimento y de las características de cada microorganismo (Moreno y col., 1983).

Tabla 7: Parámetros físicoquímicos evaluados en las rodajas de piña T1 y T2

Tipo de deshidratación	Tratamientos	a_w	pH	% de acidez	%Humedad
T1	Control	0,69 ^(a) ±0,01	3,39 ^(a) ±0,09	0,25 ^(a) ±0,03	14,4 ^(a) ±0,4
	B	0,64 ^(a) ±0,01	3,36 ^(a) ±0,01	0,27 ^(a) ±0,05	12,9 ^(a) ±0,2
	C	0,68 ^(a) ± 0,01	3,46 ^(a) ±0,01	0,17 ^(a) ±0,07	15,4 ^(a) ±0,2
	D	0,66 ^(a) ±0,01	3,44 ^(a) ±0,02	0,19 ^(a) ±0,04	13,2 ^(a) ±0,2
T2	Control	0,51 ^(b) ±0,02	3,24 ^(a) ± 0,02	0,30 ^(a) ±0,02	15,4 ^(b) ±0,8
	B	0,52 ^(b) ±0,01	3,40 ^(a) ± 0,05	0,23 ^(a) ± 0,04	16,2 ^(b) ±0,1
	C	0,51 ^(b) ± 0,01	3,38 ^(a) ± 0,07	0,26 ^(a) ± 0,03	15,10 ^(b) ±0,08
	D	0,50 ^(b) ±0,01	3,36 ^(a) ± 0,03	0,27 ^(a) ± 0,01	14,5 ^(b) ±0,4

Cada valor representa la media de seis determinaciones ± desviación estándar. Medias con letras diferentes en una misma fila representan diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Como se puede observar en la tabla 7, tanto en las rodajas de piña T1 como en T2, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros citados y los tratamientos aplicados, ya que se obtuvo un $p > 0,05$ para cada uno de los casos. A su vez la desviación estándar fue muy pequeña, exceptuando en el porcentaje de humedad, el cual presentó un valor más elevado. Esto probablemente se atribuya al proceso artesanal y al ambiente que no se encuentra controlado al 100%, como se refirió de manera previa. Por otra parte, se apreció diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos de T1 con los tratamientos de T2 (T1: deshidratación por convección de aire caliente; T2: Deshidratación osmótica + deshidratación por convección de aire caliente), esto se atribuye a la aplicación de dichas técnicas.

La estabilidad microbiológica de alimentos con un contenido de agua reducido no es una función de su contenido de agua total, sino de la proporción de agua que está disponible para las actividades metabólicas de los organismos, siendo la mejor medida de la humedad disponible; la actividad de agua (a_w). Esta representa un valor limitante para el

crecimiento de los microorganismos. El valor óptimo para el crecimiento de la mayoría de estos se encuentra en un rango comprendido entre 0,98-0,99 (Strumillo, 1996).

Entre menor es el valor de a_w , el crecimiento de los microorganismos se detiene, manteniéndolos en condición de resistencia durante un largo tiempo, lo que permite extenderla vida de anaquel del producto (Strumillo, 1996). En este caso particular, los valores de a_w en las rodajas de piña T1 oscilaron entre 0,64-0,69 y en las rodajas de piña T2 entre 0,50-0,52; esto manifestó una diferencia significativa en los tratamientos de cada técnica de secado. Al comparar dichos valores entre ambas técnicas se observó que la a_w en las rodajas de piña T2 fue menor. Posiblemente esto se deba a la interacción de la sacarosa empleada en la deshidratación osmótica con las moléculas de agua, lo que redujo el agua libre disminuyendo a su vez la a_w .

A su vez el porcentaje de humedad para ambas técnicas de deshidratación T1 y T2, varió entre 12,90-15,45 y 14,46-16,23; respectivamente. Es de esperarse que una a_w reducida esté vinculada con un porcentaje de humedad bajo, como se puede apreciar en la tabla 7, ocurrió lo contrario, lo que posiblemente se deba a la técnica de deshidratación empleada. Al aplicar la deshidratación osmótica se formó una capa de jarabe en la superficie de las muestras la cual dificultó la salida de la humedad del interior de producto (Cañizarez, 2007) lo que ocasionó una cuantificación mayor de humedad. El agua libre es la forma predominante en los alimentos y se libera con facilidad, mientras que el agua ligada esta combinada o unida a las proteínas y a moléculas de sacáridos (Della Rocca, 2010).

Las rodajas de piña T1 y T2 pueden ser consideradas como alimentos de humedad intermedia, estos generalmente tienen una a_w comprendida en el rango 0,60-0,90 y entre 10

a 50 % de humedad (Davies y col., 1975; Jayaraman, 1995), lo que coincide con los valores reportados antes.

El pH óptimo para el crecimiento de la mayoría de las bacterias asociadas a alimentos está en el rango de 6,5-7,5 (ICMSF, 1980); pero algunas bacterias deteriorativas pueden multiplicarse en condiciones muy ácidas, a pH 2. En general, los hongos tienen mayor habilidad que las bacterias para crecer a pH ácidos, pudiendo proliferar a un valor de pH tan bajo como 1,5. Por lo tanto, disminuir el pH por debajo de 4,2 es una forma efectiva de lograr la inocuidad y estabilidad de los alimentos. En esta investigación, el pH para las rodajas T1 fluctuó entre 3,36-3,46 y en las rodajas T2 entre 3,24-3,38. Se puede evidenciar que no hubo diferencia entre ambas técnicas de deshidratación. El pH ácido obtenido se debe al tipo de fruto empleado, siendo la piña un alimento ácido.

La combinación de una a_w reducida, un pH ácido y un % de humedad bajo aumentan las posibilidades de mantener el producto en condiciones adecuadas para el consumo por la ausencia tanto de microorganismos deteriorativos y patógenos (Della Rocca, 2010). La combinación de técnicas utilizadas en esta investigación se conoce como tecnología de obstáculos, porque se adoptan inteligentemente factores de conservación que representan barreras para el crecimiento microbiano, ya que interaccionan aditiva o sinérgicamente, lo que permite obtener una estabilidad durante el almacenamiento. Esta tecnología busca intencionalmente que la combinación de obstáculos sea tal que se asegure la estabilidad y seguridad microbiológica de un alimento, además que las propiedades sensoriales, nutritivas y económicas sean las óptimas (Leistner y Gould, 2000; Alzamora, 1997).

Desafortunadamente, los microorganismos han desarrollado distintos mecanismos para resistir los efectos de estos factores ambientales de estrés. Estos mecanismos son denominados homeostáticos y actúan para mantener

relativamente sin cambio los parámetros y las actividades fisiológicas claves de los microorganismos, aun cuando el medio que rodea a la célula se haya modificado y sea diferente (Leistner y Gould, 2002). Por tal motivo es posible hallar microorganismos, aunque en escasa cantidad, que han logrado resistir a estos ambientes hostiles.

Todas estas respuestas homeostáticas requieren que las células gasten energía. La reducción de la energía disponible por el empleo de factores adicionales de estrés amplifica la efectividad de la conservación basada en sólo un factor antimicrobiano. Si cada respuesta homeostática a un factor adicional requiere energía, la demanda energética supera la capacidad de generación de la misma y el crecimiento cesa. Así, la homeostasis microbiana puede ser interferida utilizando no sólo un factor de obstáculo, sino una combinación de ellos (Gould, 1995), como se realizó durante esta investigación.

1.3 Recuento de microorganismos en rodajas de piña T1 y T2

Los tipos y números de microorganismos hallados en los productos deshidratados dependen en gran medida del tipo de alimento, antecedentes y composición (Mossel, 2003); así como de las interacciones entre los factores fisicoquímicos del alimento con el antimicrobiano empleado, logrando causar una inhibición completa, parcial o nula en el crecimiento de los microorganismos (Mossel, 2003).

El análisis de varianza realizado en torno a las poblaciones de los diferentes microorganismos en los tratamientos (B: vainillina, C: benzoato de sodio y D: benzoato + vainillina y el control), reflejó para las rodajas de piña T1 que no existían diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en sus tratamientos.

Las rodajas de piña T2 revelaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, para la población de aerobios mesófilos (control respecto a B y C), y enterobacterias totales, exactamente entre el control y el tratamiento D (benzoato de sodio + vainillina). Esto se atribuye al efecto obtenido por los tratamientos en la reducción de la población de los respectivos microorganismos, respecto a la muestra control. Sin embargo, esto no significa que los demás tratamientos no hayan sido efectivos en la disminución de las poblaciones de los otros microorganismos evaluados en la presente investigación, solo que estadísticamente no hubo diferencias significativas.

Al comparar los tratamientos de las rodajas de piña T1 con los tratamientos de las rodajas de piña T2, para cada uno de los microorganismos, se obtuvo una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre la población de aerobios mesófilos, hongos. Esto se atribuye a la aplicación de las técnicas de deshidratación. Como se puede observar en las tablas 8 y 9, la población entre los tratamientos y el control de las rodajas de piña T1 y T2 difieren considerablemente. La aplicación de la deshidratación osmótica en las rodajas de piña T2, constituyó una barrera adicional en el crecimiento de los microorganismos citados, mientras que en las rodajas de piña T1, la población de dichos microorganismos fue mayor porque sólo se aplicó un tipo de deshidratación (por convección de aire caliente).

A continuación se muestra la incidencia de los diferentes grupos de microorganismos en cada técnica de secado aplicada.

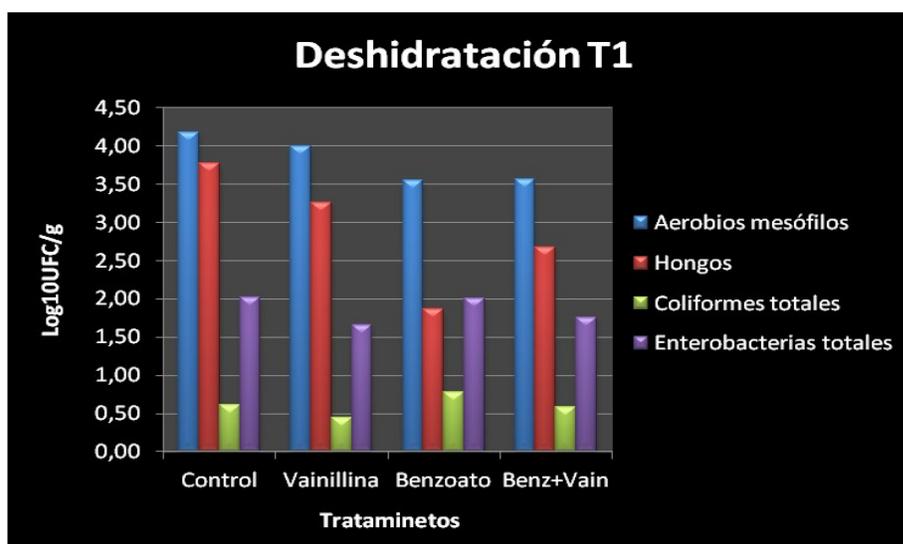


Figura 9: Incidencia de los distintos microorganismos evaluados en cada tratamiento en las rodajas de piña T1.

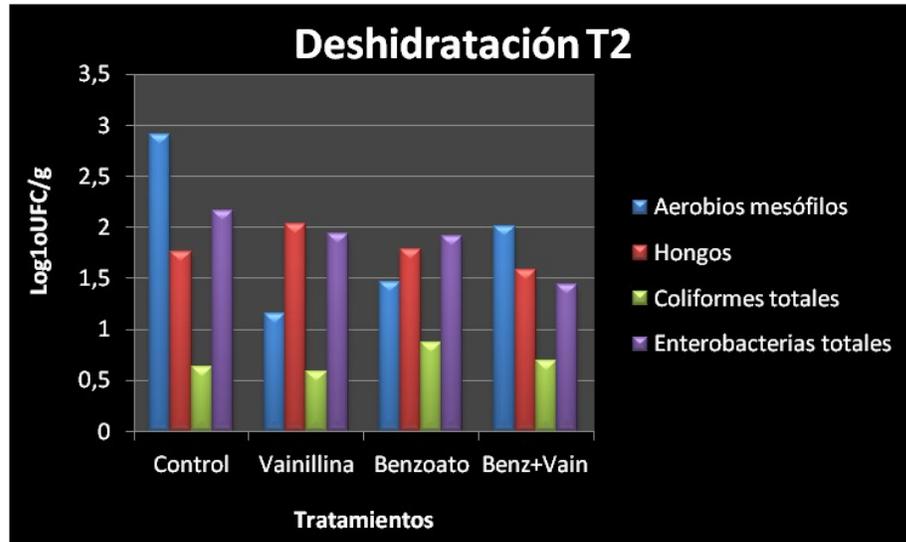


Figura 10: Incidencia de

los distintos microorganismos evaluados en cada tratamiento en las rodajas de piña T2.

1.3.1 Recuento de aerobios mesófilos en las rodajas de piña T1 y T2.

Como se mencionó anteriormente, no hubo diferencias estadísticamente significativas en la población de aerobios mesófilos en las rodajas de piña T1. En las rodajas de piña T2, hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los distintos tratamientos. Además, las rodajas de piña T1 y T2 también presentaron diferencias estadísticamente significativas en su población de dichos microorganismos.

Al observar la tabla 8, se puede apreciar que las poblaciones en ambas técnicas de deshidratación fueron distintas, encontrándose una mayor población de dichos microorganismos en las muestras de piña T1. Esto se atribuye al tipo de deshidratación aplicada, ya que en las rodajas de piña T2 se aplicaron dos procesos de secado (combinación de la deshidratación osmótica con la deshidratación por convección de aire caliente), como ya se hizo referencia anteriormente. La deshidratación osmótica constituye

una barrera adicional en la preservación del producto, dificultando el crecimiento de los microorganismos (Torreaggiani y Bertolo, 2000). En T1, sólo se aplicó una deshidratación por convección de aire caliente.

En la Tabla 8, se muestra que para las rodajas de piña T1, el tratamiento C (benzoato de sodio) fue el más eficaz en la reducción de la población de aerobios mesófilos; porque evidenció el menor valor (3,55 Log₁₀ UFC/g), en comparación a la población obtenida por el control (4,17 Log₁₀ UFC/g). Cabe destacar que la acción antimicrobiana del benzoato de sodio sólo disminuye la población de ciertas bacterias. En este caso, el grupo de aerobios mesófilos es muy amplio y posiblemente existen en este, microorganismos sensibles al efecto causado por el nombrado antimicrobiano. A su vez, debe mencionarse que este grupo de microorganismos se distingue por su crecimiento aeróbico, y dicha condición, probablemente, influya en la acción del antimicrobiano.

En la efectividad de los antimicrobianos influyen no sólo las propiedades intrínsecas del alimento (grasa, proteínas, contenido de agua, pH, sal, azúcar) y las propiedades extrínsecas (temperatura, envasado al vacío, gas, humedad relativa), sino también la sensibilidad de los microorganismos por el antimicrobiano (Shelef, 1983).

En la tabla 8 se observa que para las rodajas de piña T2, el tratamiento más eficiente en la reducción de la población de aerobios mesófilos fue el B (Vainillina), porque con este se obtuvo una población menor (1,15 log₁₀ UFC/g) a la población obtenida cuando se aplicó el control (2,91 log₁₀ UFC/g). Esto coincide con lo reportado por Jay y Rivers (1984), quienes establecen que el espectro de acción de la vainillina es amplio, pudiendo reducir la población de gran cantidad de bacterias hongos.

Tabla 8: Poblaciones de aerobios mesófilos en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina) y el control.

Tratamientos	Lotes I-II-III ¹	
	Log ₁₀ UFC/g	
	T1	T2
Control	4,17 ^(a)	2,91 ^(a)
B	4,00 ^(a)	1,15 ^(b)
C	3,55 ^(a)	1,47 ^(b)
D	3,57 ^(a)	2,01 ^(ab)

¹ Cada valor representa la media de seis determinaciones. Valores en la misma columna no seguidos por la misma letra representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En dicha tabla, se puede apreciar diferencia estadísticamente significativa en el control y los tratamientos B y C (vainillina y benzoato), de las rodajas de piña T2, lo que manifiesta la contribución de los antimicrobianos en la reducción de la población de aerobios mesófilos.

La población de aerobios mesófilos obtenidos en los diferentes tratamientos de las rodajas de piña T1 estuvo por debajo de los límites establecidos para frutas deshidratadas (en la sección 14.2) en el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile de 2009, siendo el límite inferior $4,69 \log_{10} \text{UFC/g}$ y el superior $5,69 \log_{10} \text{UFC/g}$. De igual manera ocurrió con la población de aerobios mesófilos de las rodajas de piñas T2; los valores obtenidos estuvieron por debajo del límite inferior. Con esto se presume que las rodajas de piña (T1 y T2) cumplen con los estándares establecidos por las agencias regulatorias exhibiendo además adherencia en las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), lo que conduce a una larga vida útil en los productos.

Cabe destacar que se utilizó el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (2009), como referencia, porque en Venezuela no se dispone de normas para tales productos.

Por otra parte, es necesario recalcar que la presencia de estos microorganismos se atribuye a la contaminación del suelo cultivado, a excrementos de aves y otros animales, que suelen contaminar las piñas frescas. Esto hace que inicialmente exista una gran variedad de microorganismos en la superficie de los alimentos naturales y en ocasiones, en su interior (Fernández, 2000). Durante las etapas de preparación de la materia prima, la protección natural de la fruta es eliminada y por lo tanto, se convierte en altamente susceptible al deterioro microbiano (Fernández, 2000). La contaminación cruzada también puede producirse durante el corte y las operaciones posteriores.

Existen ciertas propiedades en las frutas como una cáscara o piel gruesa que pueden proteger contra un daño superficial y el crecimiento subsecuente de los microorganismos, pero por otra parte, también es posible que existan microorganismos vivos en los tejidos internos no dañados (Frutas y hortalizas, 2007).

Las piñas fueron lavadas y cepilladas con una solución de hipoclorito al 0,15%, para remover cualquier tipo de suciedad y eliminar microorganismos. Sin embargo, existen distintos microorganismos que presentan resistencia a esta condición por lo cual algunos pueden no haber sido removidos por completo, logrando sobrevivir, multiplicarse o pueden quedar inactivados hasta conseguir sus condiciones requeridas para proliferar (Fernández, 2000).

1.3.2 Recuento de hongos en rodajas de piña T1 y T2.

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. A excepción del reducido número de productos esterilizados, la mayoría de los productos contiene microorganismos que no resultan perjudiciales para la salud. La mayor parte de los

alimentos se convierten en potencialmente peligrosos para el consumidor sólo después que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección (Szewzyk y col, 2000).

Millan y colaboradores (2001), reportaron que el melón, por estar en contacto con el suelo durante su cultivo, puede presentar una población de hongos entre 10^5 y 10^6 UFC/g, y después de ser cosechado y lavado la concentración de estos microorganismos puede disminuir hasta un valor comprendido entre 10^2 y 10^3 UFC/g. Una situación similar ocurre con la piña, la cual presenta una gran cantidad de microorganismos, al momento de la cosecha (Castañeda, 2003). Por tanto, al aplicar al fruto una combinación de métodos (desinfección, secado y antimicrobianos) dicha carga microbiana puede reducirse considerablemente, tal y como se observa en los resultados expuestos en la tabla 9.

Tabla 9: Poblaciones de hongos en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina) y el control.

Tratamientos	Lotes I-II-III ¹	
	Log ₁₀ UFC/g	
	T1	T2
Control	3,77 ^(a)	1,76 ^(b)
B	3,25 ^(a)	2,03 ^(b)
C	1,87 ^(a)	1,79 ^(b)
D	2,68 ^(a)	1,58 ^(b)

¹ Cada valor representa la media de seis determinaciones. Valores en la misma columna no seguidos por la misma letra representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En la Tabla 9, se observa el comportamiento de hongos, tras la aplicación de los tratamientos en las rodajas de piña T1. El tratamiento más efectivo en la reducción de la población de dichos microorganismos fue el C (benzoato), porque con el mismo se obtuvo una población menor ($1,87 \log_{10} \text{UFC/g}$) a la obtenida con la aplicación del control ($3,77 \log_{10} \text{UFC/g}$). Esto coincide con Luck y Jager (2000), ya que el benzoato presenta un espectro de acción más amplio en la disminución de hongos.

Eklund (1991) encontró que los ácidos lipofílicos débiles, tales como sórbico, benzoico y propiónico eran eficaces como antimicrobianos debido a su solubilidad en la forma no disociada dentro de la membrana celular, además de su mejor acción a pH bajo, coincidiendo esto con la sal del ácido benzoico, el benzoato de sodio, aplicado y el pH empleado en este trabajo.

Por otro lado, Hernández y Barrera (2004), aplicaron 300 ppm de benzoato de sodio y obtuvieron resultados satisfactorios en la disminución de levaduras y bacterias en la preservación del período de vida útil del fruto carambolo, coincidiendo con la concentración empleada en la presente investigación.

Parra y colaboradores (1993), determinaron que con un pH de 3,5 en un sistema de PDA con 500 ppm de potasio sorbato y/o benzoato de sodio se inhibió el crecimiento de *A. flavus* durante más de 1 mes a 25°C. En la presente investigación no se identificaron los microorganismos hallados, sin embargo, interesa como referencia la aplicación de esta concentración de benzoato en la inhibición de mohos.

En las rodajas de piña T1, con el tratamientos B y el control se obtuvo una población mayor de hongos (3,77; 3,25 log₁₀UFC/g, respectivamente), a la establecida por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (2009), cuyos límites establecidos para frutas deshidratadas (en la sección 14.7) oscilan entre 2log₁₀UFC/g y 3log₁₀UFC/g. Este resultado puede atribuirse a la resistencia de estos microorganismos frente a la tecnología de obstáculos aplicada (calor, reducción de a_w, bajo % de humedad, pH ácido y aplicación de vainillina). Probablemente, la misma no fue suficiente para superar los mecanismos homeostáticos de dichos microorganismos, los cuales lograron sobrevivir e incluso

proliferarse. La posible presencia de hongos xerotolerantes, también pudo influir en el resultado obtenido, ya que estos microorganismos pueden sobrevivir a una extrema desecación, incluso durante largos periodos de tiempo (Ramírez y col., 2006).

El efecto del tratamiento B (vainillina), en la reducción de la población de hongos no fue muy eficiente (no redujo la población de dichos microorganismos considerablemente, en comparación a los tratamientos C y D respecto a la muestra control), en las rodajas de piña T1. Esto puede atribuirse a la concentración empleada de 1500 ppm. Dicha concentración se empleó porque con 3000 ppm fue modificado el flavor característico de las rodajas de piña (esto se obtuvo experimentalmente en la presente investigación). Al añadir niveles más bajos de aditivos, no se afectan las cualidades sensoriales de los alimentos (Leistner, 2000).

Cerruti y Alzamora (1996), informaron que 3000 ppm de vainillina en puré de plátano inhibió el crecimiento de diferentes mohos, levaduras y bacterias. López-Malo (1995), realizó estudios en la efectividad de la vainillina para inhibir el crecimiento de diferentes tipos de mohos como *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. ochraceus* y *A. niger* en purés de manzana, lechosa, mango y piña a pH 3,5 y a_w de 0,98; mostrando su alta efectividad en concentraciones por debajo de 2000 ppm.

Cerrutti y Alzamora (1994), hallaron en manzanas que con una a_w de 0,99 y una concentración de vainillina de 1000ppm no se impidió el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Debaryomyces hansenii* y *Z. bailii*, pero al reducir la a_w a 0,95; empleando la misma concentración, se obtuvo como resultado la inhibición de *Saccharomyces cerevisiae* y *D. hansenii*. Estos mismos autores, por otro lado, empleando

concentraciones de 2.000 ppm de vainillina con 0,99 y 0,95 de a_w , lograron obtener un efecto inhibitorio de todos los microorganismos.

Es importante destacar que, a diferencia de los estudios descritos previamente, en el presente trabajo no se identifica el tipo de hongos presentes, pero los mismos se toman como referencia, debido a que los trabajos son realizados en frutas.

Por otra parte, las actividades antimicrobianas pueden variar ampliamente dependiendo del tipo de especia o hierba que se emplee como antimicrobiano, y del producto alimenticio (Giese 1994). Es necesario examinar su idoneidad de uso para cada caso particular.

Debe considerarse que a pesar de que dichos microorganismos en el control y el tratamiento B en las rodajas de piña T1 excedieron los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, con los tratamientos empleados (B, C y D); se obtuvo resultados satisfactorios, en cuanto a la disminución de la población de hongos, al compararlos con el control. Esto indica una vez más, la importancia del tipo de técnica de secado empleada. En este caso en particular, la deshidratación por convección de aire caliente (T1), no presentó una barrera muy eficaz en la disminución de la población de hongos, y por tal motivo su presencia fue mayor, respecto a las rodajas de piña T2. En T2 la población de hongos estuvo dentro de los límites establecidos por dicho reglamento.

Por otra parte, cuando se aplicaron los tratamientos C y D en las rodajas de piña T1, se alcanzó una población dentro de los límites establecidos por el reglamento antes referido y por lo explicado anteriormente, siendo el espectro de acción del benzoato de sodio más amplio hacia hongos.

En la tabla 9; además, se aprecia que en las rodajas de piña T2, el tratamiento D (benzoato de sodio + vainillina) fue más eficiente porque se evidenció una menor población de hongos, luego de la aplicación del mismo ($1,58 \log_{10}$ UFC/g), respecto al control ($1,76 \log_{10}$ UFC/g). Al combinar antimicrobianos se pueden obtener tres efectos, el aditivo, el sinérgico y el antagónico (Davidson y Parish, 1989). En la presente investigación se esperaba alcanzar un efecto sinérgico (el resultado es mayor que la suma de los efectos observados de los antimicrobianos probados individualmente), sin embargo; no se aplicó el método para conocer el tipo de interacción que siguen los antimicrobianos, siendo este método el uso de isobogramas. No obstante, se pudo observar que la combinación de antimicrobianos logró un efecto satisfactorio y mejor que el obtenido con la aplicación del benzoato de sodio por separado.

El conocimiento de la influencia de las sustancias utilizadas así como los efectos de la combinación de las mismas, puede permitir el desarrollo de procesos mínimos pero más efectivos para asegurarla estabilidad microbiológica de los alimentos (Leistner, 1995).

Mhao y colaboradores (2011), evaluaron el crecimiento de los hongos en función del tiempo de vida útil en melones, con recubrimiento comestible con diferentes concentraciones de sorbato de potasio y benzoato de sodio. El mayor tiempo de vida útil de los melones se obtuvo con el tratamiento que contenía una combinación de 340 ppm de sorbato de potasio y 340 ppm de benzoato de sodio, obteniendo un efecto sinérgico. Sin embargo, con el resto de las combinaciones se reveló un efecto antagónico de la concentración del antimicrobiano en la velocidad de crecimiento de los hongos. Ellos emplearon una concentración 1:1. Según Hernández y Barrera (2004), para lograr asegurar la mayor cantidad del néctar de maraco se recomienda la adición de una mezcla de

perseverantes permitidos por la legislación colombiana (2002), benzoato de sodio-sorbato de potasio en proporción 1:1. Se hace referencia a esta combinación ya que la vainillina, puede reemplazar total o parcialmente al ácido sórbico y sus sales con fines antimicrobianos (Leitsner y Gould, 2002).

La concentración empleada en la combinación de benzoato de sodio + vainillina en la presente investigación, fue 1:5 respectivamente y aunque se trata de otro tipo de fruta, dichas combinaciones podrían influir en el efecto mostrado. Por tal motivo se recomienda emplear una proporción de 1:1 en la combinación de antimicrobianos.

En las rodajas de piña T2, en los distintos tratamientos, la población de hongos estuvo dentro de los límites establecidos, como se mencionó anteriormente, por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, lo que indica posiblemente que dichas rodajas eran seguras para el consumo, sin riesgo a la salud del consumidor y presentando una vida útil en el anaquel.

En los tratamientos B y C de las rodajas de piña T2, se obtuvo una población mayor de microorganismos, en relación al tratamiento control, lo que indicó que no hubo efectividad de los mismos en la reducción de la población de hongos. Este resultado puede atribuirse a que la temperatura del proceso de deshidratación en los tres lotes analizados fue distinta. En el lote I, la temperatura empleada fue de 55°C, en el lote II fue de 52°C y en el lote III de 48°C, lo que pudo afectar el porcentaje humedad obtenido (Ver tabla 7), e incluso posiblemente interferir en la acción de los antimicrobianos empleados. Por la presencia de un mayor porcentaje de humedad, es posible que los hongos hayan gastado menos energía en la aplicación de sus mecanismos homeostáticos, contra la acción de los

antimicrobianos, logrando permanecer en las rodajas de piña T2 y minimizando, a su vez, la acción de estos hacia ellos.

Debe recalcar que la combinación de los procesos de secado constituye una barrera muy eficiente en la protección del producto contra los microorganismos, como se pudo observar en las rodajas de piña sometidas a esta combinación de procesos (T2). Para este caso, hasta el control (sin antimicrobianos), alcanzó una población de hongos dentro de los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile.

A pesar de que los tratamientos B y C (vainillina y benzoato, respectivamente), en las rodajas de piña T2, no disminuyeron la población de hongos, respecto al control, se observó una menor población de este grupo de microorganismos, en relación a T1. Por ello, es necesario destacar que la aplicación del antimicrobiano correcto, en combinación con el proceso de secado adecuado es de suma importancia a la hora de aplicar esta tecnología de obstáculos (Tabla 9).

Se presentó una diferencia estadísticamente significativa de los tratamientos (B, C, D y el control), entre las técnicas de deshidratación empleadas (T1 y T2), se puede notar (tabla 9) una diferencia en la población de hongos. Esta diferencia, como se ha citado previamente en la población de aerobios mesófilos, se debe al tipo de secado empleado. En el T1 se aplicó un solo tipo de deshidratación, mientras que en el T2 se combinan dos técnicas de deshidratación.

1.3.3 Recuento de coliformes totales en las rodajas de piña T1 y T2.

No sólo las características intrínsecas de un alimento influyen en el tipo de microorganismos presentes en este, sino también la manipulación de estos. Los coliformes

totales son un grupo de microorganismos cuya presencia, principalmente, se relaciona con la manipulación de los alimentos. Su incidencia advierte un manejo inadecuado y/o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos (Ramírez y col., 2004).

Durante mucho tiempo los coliformes se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. *E.coli* es el principal indicador de contaminación fecal, humana o animal en productos como agua embotellada, leche, jugos, alimentos infantiles, y alimentos procesados en general (Pierson y Smoot 2001). Se destruye con calor y su presencia en un alimento tratado con este significa que ocurrió un fallo en el proceso, o la contaminación se produjo tras el tratamiento térmico a partir del equipo, de los empleados y/o por contacto con alimentos no tratados (Doyle y col., 1997; Banerjee y Sarkar 2003).

La presencia de coliformes en una muestra se emplea como criterio de contaminación y por lo tanto, de calidad sanitaria de la misma (Ramírez y col., 2004). En la actualidad, los coliformes se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos procesados (Doyle y col., 1997).

Tabla 10. Poblaciones de coliformes totales en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina) y el control

Tratamientos	Lotes I-II-III ¹	
	Log ₁₀ UFC/g	
	T1	T2
Control	0,61 ^(a)	0,63 ^(a)
B	0,45 ^(a)	0,59 ^(a)
C	0,77 ^(a)	0,87 ^(a)
D	0,58 ^(a)	0,69 ^(a)

¹ Cada valor representa la media de seis determinaciones. Valores en la misma columna no seguidos por la misma letra representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En la Tabla 10 se observó la misma tendencia de los tratamientos para las rodajas de piña T1 y T2, siendo más eficiente el tratamiento B (vainillina), en ambas técnicas de deshidratación, porque se obtuvo una población menor de coliformes (0,45 y 0,59 $\text{Log}_{10}\text{UFC/g}$ respectivamente), que la población obtenida al aplicar la muestra control (0,61 y 0,63 $\text{Log}_{10}\text{UFC/g}$ en T1 y T2). El tratamiento C (benzoato), no disminuyó la población de dichos microorganismos. Lo descrito es concordante con lo explicado anteriormente; la vainillina presenta un espectro más amplio en la disminución de bacterias, hongos; a diferencia del benzoato de sodio, cuyo espectro de acción se dirige principalmente a las poblaciones de hongos, actuando sólo sobre algunas poblaciones de bacterias (Luck y Jager, 2000).

La acción antimicrobiana del benzoato de sodio se basa en diversas intervenciones sobre el sistema enzimático de la célula de los microorganismos. En muchas bacterias y levaduras resultan inhibidas enzimas que controlan el metabolismo del ácido acético y la fosforilación oxidativa. Este antimicrobiano parece intervenir en varios sitios del ciclo del ácido cítrico, especialmente en el ácido β -cetoglutarico y el ácido succínico deshidrogenasa. Además de sus efectos inactivadores de enzimas, dicho antimicrobiano actúa sobre la pared celular (Adarme y Rincones, 2008). En este estudio, se manifestó una posible relación de dicho antimicrobiano con la capacidad aeróbica del microorganismo. Hubo una disminución de la población de aerobios mesófilos (en las rodajas de piña T1), cuando el producto fue sometido a una deshidratación por convección de aire caliente (tabla 8). Contrariamente, en el caso de coliformes totales, en ambas técnicas de deshidratación, el

benzoato de sodio no fue efectivo, probablemente porque estos microorganismos son anaerobios facultativos.

Como se mencionó anteriormente, la población de coliformes no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las rodajas de piña T1 y T2. Además al observar dicha población se aprecia que la misma fue semejante. Esto manifiesta, en cuanto a la población de coliformes totales, que no existen diferencias, respecto al tipo de secado aplicado, ya que, la incidencia de estos microorganismos ocurre por manipulación una vez que el producto ha sido sometido a su correspondiente proceso. No obstante, para la población de aerobios mesófilos, hongos, si se puede notar alguna diferencia, en las tablas (8 y 9), para ambas técnicas de deshidratación.

A pesar que el recuento para coliformes y *E.coli* se reportó como coliformes totales es importante hacer notar que no hubo incidencia de *E.coli* en ninguna de las muestras de rodajas de piña T1 y T2; sin embargo, esto puede atribuirse a la sensibilidad del método empleado. Por lo tanto se recomienda establecer el recuento de dichos microorganismos por métodos más sensibles como la aplicación del número más probable (NMP).

El Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (2009), señala (en la sección 14.2 de frutas y otros vegetales comestibles pre elaborados listos para el consumo) que los límites permitidos de coliformes para dichos alimentos están entre $1\log_{10}\text{UFC/g}$ y $2\log_{10}\text{UFC/g}$. Al observar la tabla 10, se puede apreciar que la presencia de estos microorganismos fue baja encontrándose por debajo de estos límites. Esto manifiesta un posible producto seguro para el consumo. La escasa población de estos microorganismos demostró el correcto uso de las Buenas Prácticas de Higiene y Manufactura en la planta piloto donde se elaboró el producto.

1.3.4 Recuento de enterobacterias totales en las rodajas de piña T1 y T2.

La familia Enterobacteriaceae agrupa a un número creciente de bacterias englobadas en 47 géneros (Pociello, 2007). Este grupo es muy variado y su hábitat natural es el tubo digestivo del hombre y los animales, el suelo, el agua, frutas, hortalizas, y hasta insectos (Madigan y col., 2003). Son bacilos Gram negativos y se desarrollan en presencia o en ausencia de oxígeno. La mayor parte de las enterobacterias proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado. Sin embargo, como se indicó anteriormente es *E.coli* el principal microorganismo indicativo de dicha contaminación. Las especies de *Erwinia* y *Serratia*, que se incluyen en los recuentos de enterobacterias, están asociadas con los vegetales y no indican contaminación fecal.

En la Tabla 11, se aprecia que en las técnicas de deshidratación aplicado, los tratamientos redujeron la población de enterobacterias totales, respecto al control. En las rodajas de piña T1, el tratamiento más eficiente fue el B (vainillina), porque se obtuvo una población de enterobacterias menor (1,66 Log₁₀UFC/g), en comparación a la población obtenida cuando se aplicó el control (2,02 Log₁₀UFC/g). Esto concuerda con Jay y Rivers (1984), quienes reportan una amplia actividad de la vainillina contra las bacterias.

Por otra parte, en los tratamientos (B, C y D) y el control, de las rodajas de piña T1, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Lo contrario ocurrió en los tratamientos de las rodajas de piña T2. En dichas rodajas se presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el control y el tratamiento D, lo que sugiere

que el uso combinado de los antimicrobianos contribuyó a disminuir la carga de las enterobacterias.

Además en la tabla 11, se aprecia que la población de las rodajas de T1 y T2 fue semejante. Esto manifiesta; en cuanto a la población de enterobacterias totales, que no existen diferencias, respecto al tipo de secado aplicado. Contrariamente, para la población de aerobios mesófilos, hongos, si se pudo observar alguna diferencia (tablas 8 y 9), para ambas técnicas de deshidratación.

En las rodajas de piña T2, el tratamiento D (benzoato de sodio+ vainillina), fue el más eficiente en la reducción de las enterobacterias totales ($1,44\text{Log}_{10}\text{ufc/g}$), en comparación a la población que se obtuvo al aplicar el control ($2,16\text{Log}_{10}\text{ufc/g}$). Como se mencionó anteriormente, no se puede hablar de un efecto sinérgico como tal, pero la aplicación de los antimicrobianos combinados proyectó mejores resultados, en cuanto a la disminución de la población de los mencionados microorganismos, en relación a la aplicación por separado del benzoato de sodio y la vainillina. Dicho resultado se atribuye a la resistencia que presentan diferentes microorganismos, la cual sólo pudo ser superada con la combinación de los antimicrobianos.

Tabla 11. Poblaciones de enterobacterias totales en las rodajas de piña T1 y T2 con los distintos tratamientos (B: vainillina, C: benzoato de sodio, D: benzoato de sodio + vainillina) y el control

	Lotes I-II-III¹
--	-----------------------------------

Tratamientos	Log ₁₀ UFC/g	
	T1	T2
Control	2,02 ^(a)	2,16 ^(a)
B	1,66 ^(a)	1,94 ^(ab)
C	2,01 ^(a)	1,91 ^(ab)
D	1,75 ^(a)	1,44 ^(b)

¹ Cada valor representa la media de seis determinaciones. Valores en la misma columna no seguidos por la misma letra representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Según el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile (2009), para enterobacterias totales (sección 14.2 en frutas y otros vegetales comestibles pre elaborados, listos para el consumo), se señala que los límites permitidos para este tipo de producto están entre $3,69 \log_{10} \text{UFC/g}$ y $4,69 \log_{10} \text{UFC/g}$. En la tabla 11 se puede observar que la población de enterobacterias en las rodajas de piña T1 y T2 fue baja, encontrándose por debajo de los mencionados límites. Esto indicó que probablemente el producto es apto para el consumo, sin riesgo para la salud. Por otro lado se manifiesta la aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene, ya que de acuerdo a lo afirmado por Gallardo y colaboradores (2010), tanto los coliformes como las enterobacterias son indicadores de la higiene del producto, su presencia en valores altos podría ser el resultado de una mala limpieza o inadecuado manejo de los utensilios, indicando una mala aplicación de las Buenas Prácticas de Higiene.

1.4 Correlación entre los microorganismos y los parámetros fisicoquímicos de las rodajas de piña T1 y T2

Al realizar el análisis de correlación entre los microorganismos (aerobios mesófilos, mohos-levaduras, coliformes y enterobacterias totales) y los parámetros fisicoquímicos (a_w , pH, % acidez y % de humedad), se obtuvo los siguientes resultados:

En las rodajas de piña T1 se presentó una correlación significativa ($p < 0,05$) y negativa en el control, respecto a la población de hongos, enterobacterias totales y la a_w . El control, no contiene antimicrobianos que puedan detener el crecimiento de los microorganismos, sin embargo estas rodajas de piña presentaron una a_w baja (0,69) lo que creó un ambiente hostil y probablemente esto impidió el crecimiento de las enterobacterias totales, las cuales necesitan para crecer una a_w alta (0,98) (Schmidt-Hebbel, 1990); no siendo así para un grupo determinado de microorganismos, los hongos xerófilos, que pueden crecer a una a_w ligeramente menor a 0,60 (Doyle y col, 1997).

Por otra parte los hongos al descomponer los sustratos ayudan a disminuir el pH, lo que puede originar péptidos antibacterianos, que dificultan aún más el desarrollo de las enterobacterias totales (Lone, 2002). La influencia negativa entre los mohos-levaduras y la actividad de agua posiblemente se deba a que la misma dificultó el crecimiento de la mayoría de los hongos, los cuales crecen a un a_w por debajo de 0,86 (Schmidt-Hebbel, 1990). Bajo estas condiciones únicamente logran sobrevivir y proliferar los hongos xerotolerantes, como se hizo mención anteriormente.

Cuando un microorganismo está presente en un medio concentrado con una a_w reducida, el agua es extraída del citoplasma de la célula del mismo y se pierde la presión de turgencia. La homeostasis (equilibrio interno), se perturba y el microorganismo no se multiplica pero permanece en fase de retraso hasta que se restablezca el equilibrio (Leistner, 1995). Posiblemente esto fue lo que ocurrió con

la población de enterobacterias totales. La célula microbiana reacciona para recuperar el agua perdida acumulando en el citoplasma los solutos compatibles hasta que la osmolalidad interna sea ligeramente mayor a la de la del medio y así el agua vuelve a entrar en la célula, restableciéndose la presión de turgencia y el microorganismo continúa creciendo (Gould, 1995).

La recepción de solutos compatibles es un proceso donde se consume energía y por lo tanto la energía disponible para el crecimiento disminuye (Gould, 1995). Si la reducción en la a_w es muy extrema, la célula microbiana es incapaz de reparar la homeostasis y no puede ya proliferar (Gould, 1995). La capacidad osmoregulatoria que permite el crecimiento, difieren entre los microorganismos (Gould, 1995).

También se halló una correlación negativa, en el control de las rodajas de piña T1, entre la población de coliformes totales y el % de humedad. La mayoría de las bacterias prolifera en un contenido de humedad alto, pero la cantidad de coliformes totales, en esta investigación, fue menor (Tabla 10) a la que podría esperarse en un producto con una humedad de 14,41% y sin ningún tipo de aditivo que pudiese detener el crecimiento de los microorganismos (Strumillo, 1996). Dicha proliferación reducida puede atribuirse a la influencia del pH ácido (3,39) en las rodajas T1.

El tratamiento B de las rodajas de piña T1, presentó una correlación significativa ($p < 0,05$) y positiva entre la a_w , el pH y la población de enterobacterias totales. Esta influencia era de esperarse porque un alimento con una a_w reducida y un pH ácido dificultan el crecimiento de la mayoría de las bacterias (Gould, 1995). Influyendo lo descrito en el crecimiento reducido de la población de enterobacterias totales que se obtuvo en esta investigación, como se puede

observar en Tabla 11. El escaso crecimiento de esta población de microorganismos se atribuye a la acción de la a_w reducida y al pH ácido sobre las células microbianas como se mencionó anteriormente.

Si el pH del medio donde se encuentra el microorganismo es bajo, estos tratan de mantener su pH interno dentro de un rango estable y en un valor mayor que el medio en donde se encuentran. Los mecanismos homeostáticos tratan de impedir que los protones crucen la membrana celular y entren al citoplasma, además expulsan a los protones que hayan penetrado adentro de la célula. La reparación de este equilibrio interno demanda energía lo que hace que la velocidad de crecimiento disminuya. A medida que el pH se va reduciendo aún más, los requerimientos energéticos aumentan y ya no queda más energía disponible para otras funciones celulares evitando el crecimiento de los microorganismos. Si la capacidad de homeostasis es superada, el pH citoplasmático disminuye y la célula muere. El crecimiento de los microorganismos a bajo pH depende de su habilidad para prevenir que los protones pasen al citoplasma (Mitchell, 1997).

El tratamiento D de las rodajas de piña T1, presentó una correlación significativa ($p < 0,05$) y positiva respecto a la población de aerobios mesófilos, hongos. Como se observa en la tabla (Tabla 8 y 9). Estos microorganismos presentaron la misma tendencia en la reducción de su población, atribuyéndose esta acción a la combinación del benzoato de sodio y la vainillina, debido a que el benzoato de sodio principalmente actúa contra el crecimiento de mohos-levaduras y la vainillina presenta acción contra distintos grupos de bacterias y ciertos hongos.

Al emplear sales de ácidos orgánicos débiles como benzoatos, la acidez del medio debe ser lo suficientemente alta (pH entre 2,5-4) para asegurar que una gran proporción del

ácido esté en forma no disociada actuando esta como transportadora de protones a través de la membrana celular, lo que aumenta la velocidad de entrada de los mismos a la célula (Schmidt-Hebbel, 1990). El microorganismo necesita energía extra para mantener el pH constante y expulsar los protones, lo que conlleva a un menor crecimiento. El pH del tratamiento D en las rodajas de piña T1 fue de 3,44. La influencia de este pH posiblemente permitió la disminución, aunque no fue la más efectiva, de la población de aerobios mesófilos hongos.

En las rodajas de piña T2 se presentó una correlación significativa ($P < 0,05$) y positiva en el control (sin aditivos), respecto a la población de enterobacterias totales y el pH. En la tabla 11, se aprecia el bajo crecimiento de dichos microorganismos, esto posiblemente se atribuya como ya se ha mencionado al pH ácido, en dichas rodajas, el pH fue de 3,24; el cual dificultó el crecimiento de la mayoría de las bacterias, entre ellas, las enterobacterias.

El tratamiento B de las rodajas de piña T2, presentó una correlación significativa ($P < 0,05$) y positiva entre la población de aerobios mesófilos y enterobacterias totales. Este efecto positivo se atribuye a la acción de la vainillina. Como ya se mencionó, la vainillina actúa principalmente contra bacterias. Este antimicrobiano logró una reducción satisfactoria en ambos microorganismos, como se puede observar en las tablas 8 y 11.

Según Conner (1993), la vainillina es un compuesto fenólico cuya actividad antimicrobiana se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos, incluidos aquellos involucrados en la producción de energía y en la síntesis de compuestos estructurales, una vez que el compuesto fenólico cruza la membrana celular bacteriana, puede interactuar con

las enzimas y con las proteínas causando un flujo contrario de protones a través de ella, afectando así a la actividad celular.

El tratamiento C de las rodajas de piña T2, presentó una correlación significativa ($P < 0,05$) y positiva entre el pH y la población de hongos, como se describió anteriormente el pH ácido facilita el crecimiento de dichos microorganismos y a pesar de la aplicación del benzoato de sodio en conjunto con un pH ácido (3,38) no hubo reducción satisfactoria de la población de los hongos, en comparación a la muestra control, como se puede observar en la tabla 9.

El tratamiento D en las rodajas de piña T2, presentó una correlación significativa ($P < 0,05$) y positiva con la población de coliformes y el pH. Como ya se ha mencionado, el pH ácido interfiere en el crecimiento de las bacterias y como se observa en la tabla 10, la población fue baja. Sin embargo el tratamiento D, no presentó ningún efecto en la reducción de la población de coliformes en comparación a la muestra control.

La acción de los antimicrobianos se ve afectada por diferentes factores microbianos y procesos tecnológicos, puede presentarse resistencia específica entre células vegetativas, esporas, cepas, la velocidad de crecimiento, el número inicial de microorganismos, interacción entre ellos y la composición celular (Giese 1994).

El resto de los parámetros no presentó correlación con ninguna de las poblaciones de los microorganismos mencionados.

1.5 Cuantificación de los antimicrobianos.

Cualquier decisión para usar un aditivo intencional debe basarse en el juicio considerado por científicos apropiadamente calificados. Ellos determinan el nivel en el que puede adicionarse. La administración del aditivo será sustancialmente más baja que cualquier nivel que pudiera ser perjudicial para los consumidores y la cantidad debe ser la mínima necesaria para producir el efecto deseado (Cotton, 1997).

El Comité Internacional de la FAO-OMS (2002) opina que los aditivos alimenticios deben ser usados para suplementar la efectividad de los métodos tradicionales de conservación y no para su reemplazo. La ley estipula que los consumidores deben ser informados de la presencia de aditivos en su alimento y el método más efectivo para lograrlo es la declaración en la etiqueta (FAO, 2002). Todo esto, determina la importancia de desarrollar métodos analíticos, sensibles, rápidos y económicos para la cuantificación de aditivos químicos en alimentos, lo que permite que se conozcan las cantidades residuales de estos en los mismos.

1.5.1 Cuantificación de la vainillina

Los antimicrobianos de origen natural, se consideran como fuentes potencialmente seguras, pero su uso real en los productos alimenticios, se ha establecido para pocos casos (Rodríguez, 2011). Debido a que su uso implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación a los alimentos, sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria (Beuchat y Golden, 1989); es necesario conocer la cantidad de antimicrobiano que debe agregarse y permanecer en un producto, ya que la evaluación de aditivos para alimentos debe basarse en un balance entre riesgos y beneficios. Por lo tanto, es fundamental que para cada aditivo, dichos riesgos y beneficios, estén identificados y definidos adecuadamente y esto se logra conociendo las cantidades que permanecen en el producto y son consumidas por el consumidor (Davidson, 1996).

Por tal motivo, en la presente investigación se determinó la cantidad de vainillina residual en las rodajas de piña T1 y T2. A continuación la gráfica que se empleó para ello: Curva de calibración: Se realizaron seis lecturas distintas de absorbancia, en base a las concentraciones señaladas para las soluciones patrón, obteniéndose los resultados que se exponen en la siguiente tabla:

Tabla12: Soluciones patrón empleadas en la determinación de la vainillina.

Concentración (ppm)	Absorbancia (348nm)
0	0
12	0,273
24	0.498
36	0,804
48	1,028
60	1,31

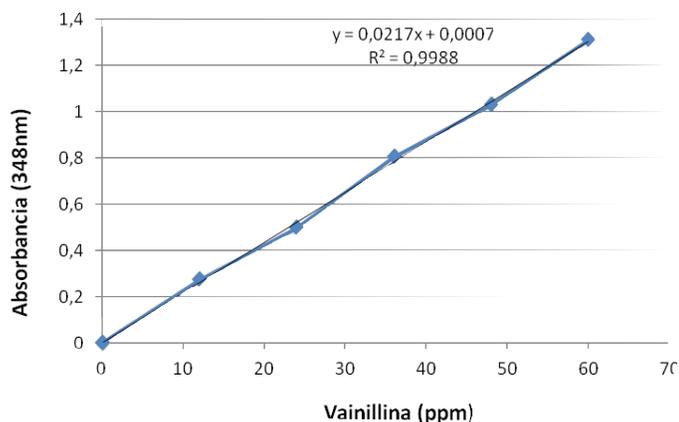


Figura 11: Curva de calibración de la vainillina

Como se aprecia en la tabla 12, la absorbancia fue en aumento, respecto a la concentración de las soluciones tipo que también se incrementaban. Con las lecturas de absorbancias se obtuvo la curva de calibración a 348 nm (Figura 9). La longitud de onda fue señalada por la Norma Oficial Mexicana NMX-FF-074-SCFI-2009 para la vainillina. (Longares y Cañizarez2005).

Con base a la ley de Lambert-Beer, la pendiente de esta curva representa la absorptividad molar de la vainillina a la longitud de onda mencionada, el coeficiente de correlación obtenido fue de 0,9988; indicando un error despreciable en este procedimiento, con lo que fue posible calcular la concentración de vainillina en las rodajas de piña T1 y T2.

En la tabla 13, se aprecia que la cantidad de vainillina determinada fue escasa, indicando que de los 30g que inicialmente se emplearon, aparentemente sólo se retuvo $3,28 \times 10^{-3}$ y $3,98 \times 10^{-3}$ g en las rodajas de piña T1 y T2 respectivamente. No obstante estos valores deben verificarse con metodologías más sensibles, a la metodología empleada en este trabajo, la cual además, está sujeto a errores por parte del operador.

Tabla 13: Concentración inicial y final de la vainillina en las rodajas de piña T1 y T2.

Producto	Absorbancia (348nm)	Vainillina inicial (ppm)	Vainillina inicial (g)	Vainillina final (ppm)	Vainillina final (g)
Rodajas de piña T1	0,628	1500	30	1,45±0,07	$3,28 \times 10^{-3}$
Rodajas de piña T2	0,384	1500	30	0,82±0,13	$3,98 \times 10^{-3}$

A pesar de la escasa cantidad de vainillina cuantificada en las rodajas de piña T1 y T2, en varios de los ensayos llevados a cabo durante esta investigación se logró un efecto antimicrobiano de la misma, reduciendo satisfactoriamente la población de distintos microorganismos.

1.5.2 Cuantificación del benzoato de sodio

La sal de sodio del ácido benzoico (benzoato) se usa como un aditivo en alimentos y bebidas que naturalmente presentan valores de pH entre 2,5- 4. Dicha sustancia no se

acumula en el cuerpo y ha sido reconocido como seguro cuando se emplea de acuerdo a los límites establecidos (Jaramillo 2002). Como se mencionó anteriormente, es de gran importancia conocer la cantidad de antimicrobianos presentes en los productos. A continuación la gráfica que se empleó para dicha cuantificación:

Curva de calibración: Se realizaron seis lecturas distintas de absorbancia en base a las concentraciones señaladas para las soluciones patrón, resultando la siguiente tabla

Tabla 14: Solución patrón empleadas en la cuantificación del benzoato de sodio

Concentración (ppm)	Absorbancia (267,5nm)
0	0
20	0,004
60	0,011
80	0,016
100	0,021
120	0,023

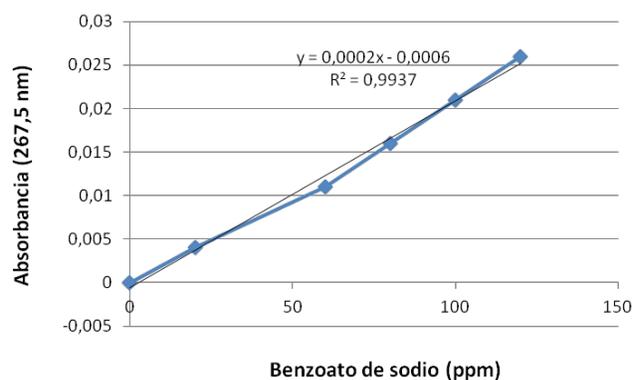


Figura 12: Curva de calibración del benzoato de sodio

Como se mencionó en el caso anterior, en base a la ley de Lambert-Beer, la pendiente de esta curva representa la absorptividad molar del benzoato de sodio a 267,5nm, el coeficiente de correlación obtenido fue de 0,9937 indicando un error despreciable en el procedimiento aplicado. Con dicha curva se calculó la concentración de benzoato de sodio en las rodajas de piña T1 y T2.

Como se observa en la tabla 15, la cantidad de benzoato de sodio determinado tanto en las rodajas de piña T1 y T2 fue muy bajo, indicando que de los 6g que inicialmente se emplearon sólo $5,01 \times 10^{-3}$ y $5,61 \times 10^{-3}$ respectivamente, estuvo presente en dichas rodajas. No obstante estos valores deben verificarse con metodologías más sensibles, a la metodología empleada en este trabajo, como se hizo referencia previamente, la misma puede estar sujeta a errores por parte del operador.

Tabla 15: Concentración inicial y final del benzoato de sodio en las rodajas de piña T1 y T2.

Producto	Absorbancia (267,5nm)	Benzoato de sodio inicial (ppm)	Benzoato inicial (g)	Benzoato de sodio final (ppm)	Benzoato final (g)
Rodajas de piña T1	0,088	300	6	$1,77 \pm 0,96$	$5,01 \times 10^{-3}$
Rodajas de piña T2	0,006	300	6	$1,23 \pm 0,82$	$5,61 \times 10^{-3}$

A pesar de la escasa cantidad de benzoato de sodio cuantificado en las rodajas de piña T1 y T2, en la investigación si se logró un efecto antimicrobiano respecto a los microorganismos evaluados. El benzoato de sodio se difunde libre y rápidamente a través de la membrana celular, alcanzando su máxima concentración en un (1) minuto estableciendo un flujo en los dos sentidos entre el interior y el exterior de la célula microbiana. Esta acción se realiza con el estado no disociado del benzoato, el cual se obtiene a pH ácido. Por las consideraciones descritas y por los resultados obtenidos a lo largo de la investigación se puede suponer que dicho antimicrobiano si fue efectivo.

Cabe destacar que en las rodajas de piña T2 tanto para la cuantificación de la vainillina como del benzoato de sodio se determinó una cantidad mayor que en las rodajas

de piña T1. Posiblemente esto se atribuye a la técnica de secado empleada. En la elaboración de las rodajas de piña T2, estas permanecen en contacto con el antimicrobiano más tiempo (3h) que las rodajas de piña T1 (1/2h). Además se cuenta con la sacarosa la cual puede atrapar a los antimicrobianos y al momento de enjuagar las rodajas formar una barrera que protege al aditivo, el cual permanece en mayor cantidad en las rodajas de piña T2 que en las rodajas T1 (Bolin y Huxsoll, 1983).

El Reglamento Sanitario de los Alimentos de España (1987), permite una concentración en el producto terminado que no sea superior a 1g/kg de ácido benzoico y sus sales y en el caso de mezclas, la suma de las concentraciones empleadas no podrá ser superior a la concentración máxima autorizada para aquel aditivo al cual se le ha fijado la concentración más baja. Con lo ya indicado, la cantidad de benzoato de sodio residual presente en las rodajas de piña T1 y T2 se encuentran dentro del valor establecido por el mencionado reglamento.

VI. CONCLUSIONES

- * La materia prima empleada presentó los siguientes valores fisicoquímicos: $a_w=0,982$; $pH=3,18$; % ácido cítrico=0,07; % de humedad=86,2; que corresponden con lo descrito por otros autores, para la variedad Cayena Lisa. Estos valores

demuestran la corta vida útil que presentará dicho fruto, producto del deterioro microbiano y de las reacciones químicas, si el mismo no se somete a alguna técnica de preservación, como la deshidratación.

- * La obtención de las rodajas de piña T1, requirió menos esfuerzo físico y un tiempo más prolongado, para la aplicación del secado, que las rodajas de piña T2. Sin embargo, T1; no representó una barrera eficaz para la disminución de la población de aerobios mesófilos y hongos. Por el contrario, en las rodajas de piña T2, la disminución en la población de aerobios y hongos fue significativa, debido a la barrera adicional que confiere la deshidratación osmótica.
- En las rodajas de piña T2, se obtuvo una a_w menor y un % de humedad mayor al obtenido en las rodajas de piña T1, lo que sugiere que el azúcar aplicado en la deshidratación osmótica constituyó un acortezamiento en la superficie de las rodajas de piña. Esta situación impide la salida del agua al exterior de las rodajas, lo que permite que se mantenga un mayor % de humedad en las mismas. A su vez, el azúcar y los antimicrobianos se enlazan con las moléculas de agua reduciendo el agua libre, lo que disminuye la a_w .
- La cantidad de benzoato de sodio cuantificado en las rodajas de piña T1 y T2, se encontró dentro del valor establecido por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de España, utilizado como referencia para esta investigación. Esto refleja la adición correcta del aditivo, lo que permitiría la ingesta segura de las rodajas de piña tratadas con dicho antimicrobiano.

- Se podría pensar que la cantidad residual de la vainillina en las rodajas de piña T1 y T2 fue muy baja (no se encontró un valor de referencia). Sin embargo; la vainillina demostró una alta efectividad en la reducción de la población de coliformes totales y enterobacterias totales en las rodajas de piña T1. En las rodajas de piña T2 logró una satisfactoria reducción en la población de aerobios mesófilos y coliformes totales.

- * La técnica de deshidratación aplicada es muy importante en la determinación de la reducción de la población de ciertos microorganismos, siendo la combinación de la deshidratación osmótica con la deshidratación por convección de aire caliente la más efectiva en dicha reducción. La deshidratación osmótica constituyó una barrera adicional para detener el crecimiento de los microorganismos, tal y como se demostró en la población de aerobios mesófilos y hongos. Sin embargo, para coliformes totales y enterobacterias totales la reducción de la población fue semejante en ambas técnicas, lo que denotó la influencia del tipo de microorganismos, ya que, la presencia de estos se debe a la manipulación del producto una vez finalizado cualquier proceso al que se haya sometido el alimento.

- En las rodajas de piña T1 y T2, la población de coliformes totales y enterobacterias totales estuvieron dentro de los límites establecidos por el Reglamento Sanitario de los Alimentos de Chile, utilizado como referencia para este trabajo. Esto, de algún modo, refleja el uso correcto de las Buenas Prácticas de Higiene y Manufactura de la planta piloto de DEVENALSA. S.A donde se elaboró el producto. La población

de aerobios mesófilos también estuvo dentro de los límites establecidos por dicho reglamento, con lo que presume una vida larga útil en las rodajas de piña T1 y T2.

- * Se confirma que el efecto del antimicrobiano está sujeto al tipo de deshidratación aplicada. En las rodajas de piña T1, el mejor efecto en la reducción de la población de los diferentes microorganismos lo presentaron el tratamiento B (vainillina) y el tratamiento C (benzoato), mientras que en las rodajas de piña T2, el mejor efecto en la reducción de los microorganismos, se obtuvo en el tratamiento B y el tratamiento D (benzoato de sodio + vainillina).

- * Hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos de las rodajas de piña T2 en la población de aerobios mesófilos y enterobacterias totales. Se apreció diferencias estadísticamente significativas en las poblaciones de aerobios mesófilos y hongos de los tratamientos entre las rodajas de piña T1 y T2. Lo que manifestó la acción tanto de las técnicas de deshidratación como los tratamientos aplicados en la reducción de la población de los distintos microorganismos.

VII. RECOMENDACIONES

- * Aplicar una evaluación sensorial a las rodajas T1 y T2 sometidas a los distintos tratamientos, ya que con ella se miden, se analizan y se interpretan las reacciones producidas en los sentidos por las características de un alimento, así como la aceptación de este por el consumidor.

- * Realizar un ensayo empleando 2000 ppm de vainillina, ya que se tiene referencia que con esta concentración se logra inhibir diferentes microorganismos, sin embargo; no se tiene conocimiento si podría modificar el flavor de las rodajas de piña.
- * Se recomienda emplear una combinación de benzoato de sodio más vainillina en una proporción 1:1 para conocer su efectividad, al compararla con la obtenida en la presente investigación.
- * Establecer el recuento de coliformes fecales (*E.coli*), por medio de la aplicación de número más probable (NMP), con el fin de obtener una mayor sensibilidad en el método, determinando con mayor precisión si existe o no la presencia de *E.coli*.
- * Cuantificar el benzoato de sodio y la vainillina por medio de técnicas más sofisticadas y precisas, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- * Por último se recomienda seguir trabajando con las técnicas de deshidratación y diferentes antimicrobianos naturales, con el fin de conocer su efecto sobre los diferentes microorganismos indicadores.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- * Adams, M. R. y Moss M. O. 1998. Microbiología de los alimentos. Editorial ACRIBIA, Zaragoza- España.

- * Adarme, T.C., Rincones, M.P. 2008. Evaluación de cuatro antimicrobianos para el control de levaduras contaminantes de un proceso de fermentación de ácido cítrico. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- * Águila, m., Romero, C. 2000. Deshidratación osmótica de tomate de árbol (*Cyphomandrabetaceae*). *food Sci.* **48**: 202-205.
- * Alzamora, S.M.1997. New strategies for minimally processed foods. The role of multitarget preservation. *Food Science Technology.* **4**: 353-361.
- * Alfaro, B. 2005. Evaluación de agentes antimicrobianos y desinfectantes sobre *Lactobacillu splantarum*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Departamento de microbiología. Bogotá, Colombia.
- * Alzamora, S., Guerrero, S., Nieto, A., Vidales, S. [en línea].Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas, Manual de capacitación, 2004.<ftp://ftp.fao.org/DOCREP/fao/008/y5771s/Y5771s00.pdf>. [Consulta: 10 Octubre 2012].
- * Andrews, J. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* **48(S1)**:5-16.
- * AOAC-Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 1996. Editada por Kenneth Heldrich, 15ª edición, Virginia-USA.
- * Ayala-Zavala, JF, González-Aguilar, GA and del-Toro-Sánchez, L. 2009. Enhancing safety and aroma appealing of fresh-fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. *Journal of Food Science* **74**:84-91.

- * Ayala-Zavala, J., Oms-Oliu, G y col. 2008. Biopreservation of fresh-cut tomatoes using natural antimicrobials. *European Food Research and Technology* **226(5)**:1047-1055.
- * Banerjee, M., y Sarkar, P. 2003. Microbiological quality of some retail spices in India. *Food Research International*. **36**: 469-474.
- * Barbosa, G., Pothakamury, U., Paulo, E., Swason, B.1999.Conservación no termina de los alimentos. Editorial ACRIBIA. Zaragoza-España.
- * Beuchat, L .2001. Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. *Microbial Food Contamination*. **11**: 149-169.
- * Beuchat, L. R. y Golden, D. A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technol*. **43**: 134-142.
- * Bolin, H.R., Huxsoll, J. 1983. Effect of osmotic agents and concentration on fruit quality.
- * Brackett, R.E. 1997. Fruits, vegetables, and grains. pp. 117 – 126 en: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. Doyle MP *et al.*, eds. ASM Press, Washington
- * Brennan, J., Butters, J., Cowell, N., Lilly, A. 1970. Las operaciones de la ingeniería de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- * Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.
- * Calderón, M. Cerdas, M.M. 2005. Guías técnicas del manejo pos cosecha para el mercado fresco piña (*Ananas comosus*). Centro de Investigaciones Agronómicas Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

- * Camacho, A., Giles, A., Ortegón, M., Palao, B., Velázquez, O. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª edición. Facultad de Química, UNAM. México.
- * Cañizares, A., Bonafine, O., Laverde, D. 2007. Deshidratación de productos vegetales. Investigadores. INIA .Centro de Investigaciones Agrícolas del Estado Monagas.
- * Capítulo VII. Análisis y discusión de los resultados [En línea] http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/garcia_r_mi/capitulo7.pdf. [Consulta 7 de Noviembre de 2012].
- * Castalleda, P.2003. Seminario sobre producción y manejo post cosecha de la piña para la exportación. Proyecto regional de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional-VIFINEX. El Salvador. San Salvador.
- * Cerrutti, P., Alzamora, S.M. 1996. Inhibitory effects of vanillin on some food spoilage yeasts in laboratory media and fruit purées. *International journal of food microbiology* **29**: 379-386.
- * Cerrutti, P., Alzamora, S.M., Vidales, S.L., 1997. Vanillin as an antimicrobial for producing shelf-stable strawberry puree. *J. Food Sci.* **62**: 608– 610.
- * Código Alimentario Argentino. [http://www.anmat.gov.ar/codigoa /caa1.htm](http://www.anmat.gov.ar/codigoa/caa1.htm), cap.11 [Consulta 11 agosto de 2013].
- * Collins, J.L. 1960. *The Pineapple: Botany, Cultivation and Utilisation*. Interscience Publishers, New York.

- * Conner, D. E. 1993. Naturally occurring compounds. In P. M. Davidson & A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in foods*: 441–468. New York: Marcel Dekker.
- * Coppens d' Eeckenbrugge, G., Leal, F. 1996. Pineapple in: fruit breeding. Tree and tropical fruits. Ed. J. Janick y J. Moore. 515-557.
- * Coppens d' Eeckenbrugge, G., Leal, F., Holst, B.K. 1998. Taxonomy of the genera *Ananas* and *Pseudananas* a historical review, *Selbyana*, **19**: 227-235.
- * Coppens d' Eeckenbrugge, G., Leal, F. 2003. Morphology, Anatomy and Taxonomy. 13-32 en: Bartholomew, D.P., Paull, R.E., Rohrbach, K.G (eds), *The Pineapple: Botany, Production and Uses*. CABI Publishing, Oxon, UK.
- * COVENIN 910. 2000. Norma general para aditivos alimentarios.
- * COVENIN 2395. 1986. Concentrado de frutas para consumo directo.
- * COVENIN 3133. 2001 Procedimiento de muestreos para inspección por atributos.
- * COVENIN 1151. 1977 Frutas y Productos Derivados. Determinación de la acidez.
- * COVENIN 2395. 1986. Concentrado de frutas para consumo directo.
- * COVENIN 902. 1987 “Alimentos. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri”
- * COVENIN 1337. 1990. “Alimentos. Método para recuento de hongos”
- * COVENIN 276. 1997. “Alimentos. Recuentos de coliformes y de *Escherichia coli*. Método en placa con películas secas rehidratables (petrifilm).
- * COVENIN 2075. 1983. Piñas.
- * Davidson, P. M., Parish, M. E. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* **43(1)**:148-155

- * Davidson, P. M. 1996. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. En Doyle M.P. Beuchat L.R. Montville T.J .eds. *Food Microbiology-Fundamentals and frontiers*. Washington D.C: ASM Press; 1997: 520-556
- * Davies, R., Birch, G.G., Parker, K.J. 1975. *Intermediate Moisture Foods*. London, UK. Applied Science Publishers Ltd.
- * Déak T, Beuchat LR. 1996. Handbook of Food Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Raton, Florida. .Authors: Richards, Glenner M.1; Buck, James W.2; Beuchat, Larry R.1 Source: *Journal of Food Protection*®, Volume 67, Number 10, 1 October 2004 , pp. 2132-2142(11) Publisher: International Association for Food Protection
- * DellaRocca, P., Mascheroni, R. 2011. Deshidratación de papas por métodos combinados d secado: deshidratación osmótica, secado por microondas y convección con aire caliente. *Proyecciones*.9.2.
- * Deshidratación de productos vegetales. INIA. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/inia_divulga/numero%2010/10canizares_a.pdf [Consulta 1 de Noviembre de 2012].
- * Dirección General de Técnicas Agropecuarias. [en línea]. Guía técnica para el cultivo de la piña *Ananas comusus*, (L) Merr.IICA-Costa Rica, Fondo Simón Bolívar, MIDINRA, Nicaragua, 1996.
- * Dirección General de Técnicas Agropecuarias. 1983.Guía técnica para el cultivo de la piña *Ananas comusus*, Costa Rica,
- * <http://books.google.co.ve/books?id=Zu8qAAAAYAAJ&pg=PR1&lpg=PR1&dq=direccion+general+de+tecnicas+agropecuarias+1983&source=bl&ots=ENRLohPDhB&sig=G2tAldUEO32cGPtojLJA>

vBXLg&hl=es419&sa=X&ei=s6uUP3PGI3S9AT9iYHIAQ&ved=0CD0Q6AEwBQ
#v=onepage&q=direccion%20general%20de%20tecnicas%20agropecuarias
%201983&f=false. [Consulta 14 de octubre de 2012].

- * Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. 1997. Microbiología de Alimentos. Fundamentos y Fronteras. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- * Eklund, T. 1991. Organic acids and esters. En mechanisms of food preservation. Procedures G.W. Gould (Ed). Elsevier Applied Science. London: 161-200
- * FAO. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y La alimentación, 2001. Tablas de composición de alimentos; Anales de la organización.
- * FAO [en línea]. *Production of Pineapple Crops from Venezuela*. FAO Statistic Division 2009. <http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx?Page>. [Consulta 14 de Octubre de 2012].
- * FAO. [En línea]. Plan de acción mundial para la conservación y la utilización sostenible de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura. En: Conferencia Técnica Internacional sobre los recursos fitogenéticos, Leipzig, Alemania, 1996. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/016/aj631s.pdf>. [Consulta: 10 de Octubre de 2012)
- * FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007.
- * Fernández, F., Linares, F., Rodríguez. 2008. Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. ELSEVIER. **15**: 1049-1054
- * Fernández, J. y García, T. 2010. Vida útil de los alimentos. Editorial Horizonte. UNELLEZ. San Carlos.
- * Fernández, E. E. 2000. Microbiología e inocuidad de los alimentos. Universidad

Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.

- * Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M. J y col. 2003. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Listeria innocua*. *The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology* **97**: 104-113
- * Flores, A. A. 1968. Manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Experiencias y recomendaciones. Unellez. Cojedes, Venezuela.
- * Frank, J.1997. Milk and dairy products. En: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers. Doyle MP *et al.*, eds. ASM Press, Washington.
- * Frazier, W. C. y Westhoff D. C. 2000. Microbiología de los alimentos, Cuarta edición. Editorial ACRIBIA, Zaragoza- España.
- * Frutas y hortalizas. [En línea]. 2007
<http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/7%20frutas%20y%20hortalizas.pdf>. [Consulta 14 de Octubre de 2012].
- * Gallardo, L., Pérez, A., Aranda., Mínguez, M., Méndez, D. E. 2010. Physicochemical and microbiological characterization of the dehydration processing of red pepper fruits for paprika production. *Food Science and Technology* **43**:1359-1367
- * Garcia, M., Salcedo, F., Barrios, R., Carrera, L. 2006. La piña “Pilon” o cabezona cultivada en las laderas de los estados Monagas y Sucre. INIA. http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/inia_divulga/numero%207/garcia_m.pdf [Consultada el 23 de octubre de 2012]

- * García, M. 2004. Inhibición de *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium digitatum* con mezclas energicas de antimicrobianos naturales y sintéticos en sistemas modelos de puré de manzana mínimamente procesados. Licenciatura ingeniería de alimentos. Departamento de ingeniería química y alimentos, escuela de ingeniería Universidad de las Américas. Puebla, México
- * Geissman, T.A.1974. Principios de química orgánica, segunda edición. Editorial Reverte.
- * Giese, J. 1994. Antimicrobials: assuring food safety. *Food Technol.* **48**: 102-110.
- * Gould, G.W. 1995. Homeostatic mechanisms during food preservation by combined methods. In *Food preservation by moisture control - fundamentals and applications* (pp. 397-410). Lancaster, USA, Eds. Welti-Chanes, J. & Barbosa-Cánovas, G Technomic Pub. Co.
- * Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bartholin, J., Christensen, A., Givskov, M. 2002. Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology* **78**:79– 97
- * Hernández, G. M., Barrera, G.J. 2004. Investigación en el Manejo y Transformación de Frutos Nativos de la Amazonia Colombiana. Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. Universidad de la Amazonia.
- * Hernández, A., Cornejo, F. 2010. Desarrollo de Rodajas Deshidratadas de Piña. Guayaquil-Ecuador
- * Hulme, A.C. 1970. The Biochemistry of Fruits and their Products. Vol. 1. Editorial. AVI. USA.

- * International Commission on Microbiological: Specification for Foods (ICMSF). 1980. Ecología Microbiana de los Alimentos: Factores que Afectan a la Supervivencia de los Microorganismos en los Alimentos, Volumen I, Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- * ICMSF, 2005. Microorganismos in Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities. 2da ed. Kuwer Academic / Plenum Publishers. New York, EUA.
- * Jaramillo, L.M. 2002. Química Orgánica General. Universidad del Valle. Vicerrectoria academica.
- * Jayaraman, K.S. 1995. Critical review on intermediate moisture fruits and vegetables. In *Food preservation by moisture control -fundamentals and applications* (pp. 411 -442). Lancaster, USA, Eds. Welti-Chanes, J. & Barbosa-Cánovas.
- * Jay, J. 2002. Microbiología moderna de los alimentos. 4ta edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- * Jay, J. M. and Rivers, G. M. 1984. Antimicrobial activity of some food flavoring compounds. *J. Food Safety* 6:129-139. Jay y Rivers 1984
- * Larios, J.D. 2011. Manual del curso de manipulador de frutas y hortalizas Consejería de Agricultura y Agua. Servicio de Formación y Transferencia Tecnológica región de Murcia. Editorial Compo Rapid.
- * Leistner, L., 2000. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *J. Food Microbiol.* 55, 181–186.

- * Le Maguer, M.; Shi, J., Fernández, C. 2003. Mass transfer behavior of plant tissues during osmotic dehydration. en: *food science and technology international*. **9**. 3:187-192.
- * Leitsner, L. y Gould, G. 2002. Tecnología de Obstáculos, Combinación de tratamientos para la estabilidad de los alimentos, seguridad y calidad. Kluwer Academic/Plenum Publishers. USA.
- * Leitsner, L. y Gould, G.W. 2000. Hurdle technology in the design of minimally processed foods. In *Minimally processed fruits and vegetables-fundamental aspects and applications* (pp. 13-27). Gaithers burg, MD, USA, Eds. Alzamora, S.M., Tapia M.S. & López Malo. A. Aspen Publishers, Inc.
- * Longares, P. A. y Cañizares, M. 2005. Determinación de PHB y vainillina de *Vanilla fragans* por espectrofotometría UV-visible y extracción asistida con microondas focalizada. Departamento de Química Analítica. Universidad Nacional Autónoma de México. Fecha de consulta: 10 de Abril de 2013. URL: <http://depa.pquim.unam.mx/subprograma127/>
- López-Malo A., Alzamora, S.M. y Argaiz, A. 1995. Effect of natural vanillin on germination time and radial growth rate of molds in fruit based systems. *Foodmicrobiology*12: 213-219.
- * López-Malo, A., Alzadora, S.M. y Argaiz, A. 1997. Effect of vanillin concentration, pH and incubation temperature on *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus* and *A. parasiticus* growth. *Foodmicrobiology*14: 117-124.
- * López-Malo, A., Alzadora, S.M. y Argaiz, A. 1998. Vanillin and pH synergistic effects on mold growth. *Journal of food science* 63: 143-146.

- * López-Malo A., Alzamora, S.M. y Guerrero, S. 2000. Natural antimicrobials from plants. In *Minimally processed fruits and vegetables-fundamental aspects and applications*. (pp. 237-263). Gaithersburg, MD, USA, Eds. Alzamora, S.M., Tapia, M.S & López-Malo, A. Aspen Publishers, Inc.
- * López- Malo, A., Alzamora, S. M. and Argaiz, A. Trenk, H. L. and Hartman, P. A. (1970) Effects of (1995) Effect of natural vanillin on germination moisture content and temperature on aflatoxinnation time and radial growth rate of molds in production in corn. fruit based agar system. *Food Microbiology*. **12**, 781–784.
- * López-Malo, A., Alzamora, S.M., Argaiz, A. 1995. E Effect of natural vanillin on germination time and radial growth of moulds in fruit-based agar systems. *Food Microbiology*. **12**:213-219
- * López-Malo, A., Alzamora, S.M., Argaiz, 1998. Effect of vanillin concentration, pH and incubation temperature on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus parasiticus* growth. **63.1**
- * Luck, E., Jager, M. 2000. Conservación química de los alimentos. Editorial Acribia, Segunda edición. Zaragoza, España
- * Martínez, P. N., Rodríguez, J.A., Díaz, P.C. 2011. Obtención de Vainillina a Partir de la Lignina de la Guadua. *Scientia et Technica* 48:300-310
- * Matamoros-León, B., Argaiz, A., López-Malo, A. 1999. Individual and combined effects of vanillin and potassium sorbate on *Penicillium digitatum*, *Penicillium glabrum*, and *Penicillium italicum* growth. *J. Food Prot.* **62**: 540–542.

- * Maupoey, P., Grau, M., Barat, J y Albors, A. 2012. Introducción al Secado de Alimentos por Aire Caliente. Editorial de la UPV; Universidad Politécnica de Valencia, España.
- * Maupoey, P., Grau, A. 2001. Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Universidad politécnica de valencia, Departamento de tecnología de alimentos, escuela técnica superior de ingenieros agrónomos editorial U.P.V. Valencia. España.
- * Matamoros, L.B. 1998. Actividad antimicrobiana de mezclas de sorbato de potasio-vainilla sobre mohos deteriorativos de frutas. Tesis de maestría. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- * Menacho, J. 2006. Estandarización de un método para determinar benzoato de sodio y sorbato de potasio en jugos de frutas por HPLC. Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. Centro de investigación y Desarrollo de Tecnología de Alimentos, Santa Cruz, Bolivia
- * Merck. 2007. Antimicrobianos/Conservantes <http://www.merck.de/servlet/PB/menu/1393130/index.html>> [Consulta 7 de julio de 2013]
- * Mhao, J., Álvarez, C. Bracho, N. (2011). Cálculo del tiempo de vida útil de melones (*Cucumis melo*.) variedad cantaloupe, cortados, con recubrimiento comestible a base de gelatina, mediante un modelo de superficie de respuesta. Saber Universidad de Oriente. **23**: 127-133.
- * Mitchell, P. 1997. Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. *ASM News* **63**:13-21.

- * Monsalve, J., Machado, M. 2007. Evaluacion de dos metodos de deshidratacion del tomate (*Lycopersicon esculentum* mill) variedad manzano. 7.3:256-265. Punto fijo, Venezuela
- * Montero, C.V., Cerdas, A. M .2005. Guías técnicas del manejo post cosecha para el mercado fresco piña (*Ananas comosus*). Ministerio de agricultura y ganadería centro de investigaciones agronómicas universidad de Costa Rica.
- * Montilla, I., Fernandez, S., Alcalá, D., Gallardo, M. 1997. El cultivo de piña en Venezuela. Editorial Fondo Nacional de Investigaciones agropecuarias. Centro de Investigaciones agropecuarias del estado Lara. Lara, Venezuela
- * Morales, A. 1980. Introducción a la microbiología de alimentos. AGT Editor. Ciudad de México. México.
- * Moreno, B., Díez, V., García, M. L., Menes, I., Gutiérrez, L. M. y Francisco, P. J. 1983. Microorganismos de los alimentos 1, Técnicas de análisis microbiológico. Segunda edición. Vol. 1. Editorial ACRIBIA. Zaragoza. España.
- * Morton, J. 1987. *Fruits of warm climates*. Creative Resource Systems, Inc.18-28.
- * Mossel, D. 2003. Microbiología de los Alimentos: Fundamentos Ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos, Acribia, Zaragoza. España
- * Mundo alimentario. [En línea]. Brinde salud a sus alimentos de manera natural. Fibregum, España, 2006 http://www.alimentariaonline.com/media/ma015_conservantes.pdf. [Consulta 10 de Octubre de 2012).

- * Norma Oficial mexicana. Productos no industrializados para uso humano – Vainilla- (*Vanilla fragans* Salisbury) Ames – Especificaciones y Métodos de Prueba. Fecha de consulta: 14 de Abril de 2010.

URL: <http://www.economia.gob.mx/work/normas/nmx/2009/nmx-ff-074-scfi-2009.pdf>

- * Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. R.M. N° 591-2008/MINSA del 27 de Agosto de 2008.
- * Parra, L., López-Malo, A., Argai, A. 1993. Efecto del pH, de la concentración y del tipo de conservador sobre la germinación y velocidad de crecimiento radial de *Aspergillus flavus*. Avances en Ingeniería Química, AMIDIQ A. C. México. 18–21.
- * Peresson, L. 2007. Sistemas de gestión de la calidad con enfoque al cliente proyecto final del MBA. Universidad de Valladolid
- * Pierson M. & Smoot L. (2001) Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria. In: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. 2nd ed. Doyle M. Beuchat L. & Montville T. (Eds.) ASM Press. USA. 71-87.
- * Piña. Estudio Agroindustrial en el Ecuador: Competitividad de la Cadena de Valor y Perspectivas de Mercado. 2006. Ministerio de Comercio Exterior, Industrialización, Pesca y Competitividad (MICIP) y Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI).
- * Pociello, B. V. 2007. Caracterización de cepas y de plásmidos de Enterobacteriaceae portadores de β -lactamasas de espectro extendido. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

- * ¿Qué exige el consumidor? <http://www.fao.org/docrep/006/y4893s/y4893s08.htm>
(Consultado 2/5/13)
- * Ramírez, A., Pacheco, E. 2001. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*. **36:1**http://www.interciencia.org/v36_06/437.pdf [consultado 5 de octubre de 2012]
- * Ramírez, N., Serrano, J.A., Sandoval, H. 2006. Microorganismos extremófilos Actinomicetos halófilos en México *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. **37. 3:** 56-71. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937307>
- * Reglamento Sanitario de los Alimentos. Ministerio Salud Pública: Modificado **D.** Sup. 367, 12-12-86, publicado D. Ofic. 17-2-87.
- * Reglamento sanitario de los alimentos. 2009. República de Chile ministerio de salud dpto. Asesoría jurídica.
- * Rodríguez, E.N. 2011. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas, *Ra Ximhai*, Vol. 7, Numero 1: 53-170.
- * Rupasinghe, V., Boulter-Bitzer, j., Ahn, T., Odumeru, J. 2006. Vanillin inhibits pathogenic and spoilage microorganisms in vitro and aerobic microbial growth in fresh-cut apples *Food Research International*.**39:** 575–580.
- * Sistema de Inteligencia de Mercados del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia. 2007. Perfil de producto Piña.
- * Schmidt-Hebbel, H. 1990. Aditivos alimentarios y la reglamentación de los alimentos: Aplicaciones y comentarios de orden químico y tecnológico. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.

- * **Strumillo, C. 1996. Energy and Quality Aspects of Food Drying**[Volume 14Issue 2.](#)
- * Ramírez, L., Silva, J., Alfieri, A., Rivas, G., Sánchez, M.2004. Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.***24**:1315-2556.
- * Samaniego, G.G. 2003. LA PIÑA: Un excelente aporte nutricional.
<http://www.escuelaavicena.com.ar/pdf/pinia-aporte-nutricional.pdf> (Consulta 2/7/13)
- * Shelef, L. A. 1983. Antimicrobial effects of spices. *Journal of Food Safety.* **6**: 29–44.
- * Statgraphics Plus, versión 5,1. 2007. Análisis interactivo de datos estadísticos. StatPoint Technologies, Inc. Warrenton, Virginia.
- * Sofos, J.N. 1989. Propiedades químicas y físicas del sorbato y ácido ascórbico.
- * Sudhanshu, S., Arun, S. 2009. Shelf stable intermediate moisture pineapple (*Ananas comosus*) slices using hurdle technology. *LWT Food Science and Technology.* **42**:1681-1687.
- * Szewzyk, U., Szewzyk, W., MANZ, W., y Shleifer, H. 2000. Microbiological safety of drinking water. *Annual Review Microbiology.* **54.** 81-127
- * Torreggiani, D. 1993. Osmotic dehydration in fruits and vegetables processing. *Food Research International,* **26**: 59-68.
- * Torreaggiani, D., Bertolo. G. 2000. Osmotic pre-treatments in fruit processing: chemical, physical and structural effects.

- * Torregiani, D. y Bertolo, G. 2002. The role of an osmotic step: combined processes to improve quality and control functional properties in fruit and vegetables. In *engineering and food for the 21st century* (pp. 651-670). Boca Raton, Florida, USA, Eds. Welti-Chanes, J. Barbosa Cánovas, G.V. & Aguilera. J.M. CRC Press
- * Valiela, I., Teal, M. 1979. The nitrogen budget of a salt marsh ecosystem. *Nature*. **47**: 337-371.
- * Villegas, O., Vargas, F., Delgado, G., Pérez, J.A., García, R., Porras, S., Meneses, D. y colaboradores. 2007. Caracterización y Plan acción para el desarrollo de la agrocadena de Raíces y Tubérculos Tropicales en la región Huetar Norte. Quesada, Costa Rica.
- * Villanueva, R. 2009. Extracción y determinación de vainillina a partir de vainas de vainilla (*vanilla fragans*) por espectrofotometría uv-visible. Departamento de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Politécnica de Guanajuato, México
- * Walton, N., Mayer, M. 2003. Vanillin. **63**: 505-515
- * Yao, Z., Le Manguer, M. 1996. Mathematical modeling and simulation of mass transfer in osmotic dehydration processes. Part 1: *concepts and mathematical models*. En: *Journal of Food engineering*. **29**: 349-360.
- * www.fedeagro.org
- * <http://www.fao.org/docrep/006/y4893s/y4893s08.htm> [Consulta 12 julio 2013]

ANEXOS

1. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de aerobios mesófilos en T1, sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Aerobios mesófilos							
	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
	r	P¹	r	P¹	r	P¹	r	P¹
Hongos	0,3764	0,4620	0,8701	0,0551	0,1428	0,7871	0,9721	0,0278
Coliformes	-0,1721	0,7443	-0,1974	0,7502	0,1993	0,7049	0,1949	0,8050
Enterobacterias totales	-0,4809	0,3342	0,5274	0,3610	-0,5303	0,2791	-0,4306	0,5696
a_w	-0,1478	0,7798	0,4051	0,4986	0,6575	0,1558	-0,3545	0,6454
pH	0,3323	0,5199	0,4714	0,4228	0,0858	0,8716	-0,4956	0,5044
% Acidez	----	-----	-0,8910	0,3000	-0,9884	0,0970	----	-----
% Humedad	0,1860	0,7241	0,0154	0,9804	0,4181	0,4093	-0,7040	0,2952

¹Para valores de p<0,05 se encontró correlación. Para valores de p>0,05 no se encontró ningún tipo de correlación

2. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de hongos en rodajas de piña T1 sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Hongos							
	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Aerobios mesófilos	0,3764	0,4620	0,8701	0,0551	0,1428	0,7871	0,9721	0,0278
Coliformes	0,0762	0,8859	0,2364	0,6519	0,1558	0,7682	0,4074	0,4220
Enterobacterias totales	-0,9587	0,0025	-0,0358	0,9463	0,2967	0,5680	-0,4604	0,3581
a_w	-0,9392	0,0054	-0,2844	0,5849	-0,4727	0,3437	-0,3545	0,6454
pH	-0,3648	0,4770	0,2354	0,6533	0,7306	0,0991	0,1930	0,7140
% Acidez	0,2401	0,8456	0,0524	0,9666	0,9715	0,1521	-0,5881	0,5997
% Humedad	-0,5521	0,2560	-0,6458	0,1659	-0,5587	0,2491	0,0950	0,8579

¹Para valores de p<0,05 se encontró correlación. Para valores de p>0,05 no se encontró ningún tipo de correlación

3. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de coliformes en rodajas de piña T1, sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

	Coliformes

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Aerobios mesófilos	-0,1721	0,7443	-0,1974	0,7502	0,1993	0,7049	0,1949	0,8050
Hongos	0,0762	0,8859	0,2364	0,6519	0,1558	0,7682	0,4074	0,4220
Enterobacterias totales	-0,0211	0,9683	-0,5597	0,2480	-0,0332	0,9502	0,6051	0,2031
a_w	-0,3273	0,5266	-0,7210	0,1058	0,1933	0,7136	0,5162	0,2945
pH	0,4769	0,3388	-0,3729	0,4665	0,4823	0,3325	0,2799	0,5910
% Acidez	0,8631	0,3369	-0,6293	0,5666	-0,8451	0,3590	-0,9011	0,2855
%Humedad	-0,8361	0,0381	-0,5949	0,2129	-0,0627	0,9059	0,5454	0,2630

¹Para valores de $p < 0,05$ se encontró correlación. Para valores de $p > 0,05$ no se encontró ningún tipo de correlación

4. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de enterobacterias totales en rodajas de piña T1 sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Enterobacterias totales							
	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
r	P	r	P	r	P	r	P	
Aerobios mesofilos	-0,4809	0,3342	0,5274	0,3610	-0,5303	0,2791	-0,4306	0,5696
Hongos	-0,9587	0,0025	-0,0358	0,9463	0,2967	0,5680	-0,4604	0,3581
Coliformes	-0,0211	0,9683	-0,5597	0,2480	-0,0332	0,9502	0,6051	0,2031
a_w	0,8409	0,0359	0,9431	0,0048	-0,5868	0,2208	0,8459	0,0338
pH	0,3005	0,5627	0,9030	0,0137	-0,0861	0,8711	0,0572	0,9143
% Acidez	0,9052	0,2794	0,9455	0,2110	0,9439	0,2142	0,1996	0,8720
%Humedad	0,1414	0,7892	0,5642	0,2435	-0,3633	0,4790	0,3459	0,5017

¹Para valores de $p < 0,05$ se encontró correlación. Para valores de $p > 0,05$ no se encontró ningún tipo de correlación

5. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de aerobios mesófilos en rodajas de piña T2 sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros</i>	Aerobios mesófilos							
	Tratamientos							

<i>microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Control		B		C		D	
	r	P ¹						
Hongos	-0,1748	0,7404	0,4889	0,3250	-0,3817	0,4552	0,6523	0,1603
Coliformes	-0,0611	0,9085	0,0628	0,9059	-0,1477	0,7799	-0,1622	0,7588
Enterobacterias totales	-0,2274	0,6647	0,9190	0,0096	-0,3189	0,5378	-0,5239	0,2859
a _w	-0,2592	0,6199	-0,4155	0,4124	-0,5874	0,2202	-0,7540	0,0833
pH	-0,5230	0,2870	-0,2542	0,6268	-0,6376	0,1732	0,1954	0,7106
% Acidez	0,7429	0,4669	0,9987	0,8320	0,8604	0,3403	0,8542	0,3480
% Humedad	-0,5944	0,5947	-0,2411	0,8450	0,9919	0,0806	0,9606	0,1791

¹Para valores de p<0,05 se encontró correlación. Para valores de p>0,05 no se encontró ningún tipo de correlación

6. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de hongos en rodajas de piña T2 sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Hongos							
	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Aerobios mesófilos	-0,1748	0,7404	0,4889	0,3250	-0,3817	0,4552	0,6523	0,1603
Coliformes	-0,5239	0,2860	0,6339	0,1765	-0,2461	0,6383	0,5045	0,3074
Enterobacterias totales	-0,6150	0,1938	0,4452	0,3762	-0,0229	0,5965	-0,0813	0,8783
a_w	-0,3421	0,5067	-0,5554	0,2525	-0,1316	0,5413	-0,4252	0,4006
pH	-0,6840	0,1340	0,3842	0,4520	0,9213	0,0090	0,5501	0,2580
% Acidez	-0,8246	0,3828	0,9538	0,1942	0,2793	0,8197	0,5	0,6667
% Humedad	-0,6427	0,5556	-0,7509	0,4592	-0,7488	0,4612	0,1847	0,8817

¹Para valores de p<0,05 se encontró correlación. Para valores de p>0,05 no se encontró ningún tipo de correlación

7. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de coliformes totales en rodajas de piña T2 sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control

<i>Parámetros microbiológicos</i>	Coliformes			
	Tratamientos			
	Control	B	C	D

<i>os y fisicoquímicos</i>	r	P	r	P	r	P	r	P
Aerobios mesófilos	-0,0611	0,9085	0,0628	0,9059	-0,1477	0,7799	-0,1622	0,7588
Hongos	-0,5239	0,2860	0,6339	0,1765	-0,2461	0,6383	0,5045	0,3074
Enterobacterias totales	-0,1990	0,7053	0,1861	0,7240	0,7728	0,0716	0,7987	0,0567
a_w	-0,2450	0,6397	-0,0765	0,8854	0,7857	0,0639	0,3716	0,4683
pH	0,1911	0,7168	-0,1202	0,8205	0,0843	0,8737	0,9445	0,0045
% Acidez	0,9449	0,2123	0,9870	0,1024	0,6039	0,5872	-0,3273	0,7877
% Humedad	0,4171	0,7261	-0,3742	0,7558	0,3057	0,8022	0,8638	0,3361

¹Para valores de $p < 0,05$ se encontró correlación. Para valores de $p > 0,05$ no se encontró ningún tipo de correlación

8. Coeficientes de Correlación de Pearson (r) entre los parámetros físico-químicos y microbiológicos con la población de enterobacterias totales en las rodajas de piña T2, sometidos a los diferentes tratamientos (B, C, D) y el control.

<i>Parámetros microbiológicos y fisicoquímicos</i>	Enterobacterias totales							
	Tratamientos							
	Control		B		C		D	
	r	P	r	P	r	P	r	P
Aerobios mesófilos	-0,2274	0,6647	0,9190	0,0096	-0,3189	0,5378	-0,5239	0,2859
Hongos coliformes	-0,615	0,1938	0,4452	0,3762	-0,0229	0,5965	-0,0813	0,8783
a_w	-0,1990	0,7053	0,1861	0,7240	0,7728	0,0716	0,7987	0,0567
pH	0,6203	0,1889	-0,5083	0,3031	0,6754	0,1409	0,6592	0,1544
% Acidez	0,8609	0,6277	-0,4730	0,3433	0,2057	0,6957	0,6988	0,1224
% Humedad	0,2661	0,8285	0,9279	0,2432	0,8846	0,3088	-0,8632	0,3368
	0,9851	0,1099	-0,6100	0,5823	-0,1261	0,9195	0,9837	0,1148

¹Para valores de $p < 0,05$ se encontró correlación. Para valores de $p > 0,05$ no se encontró ningún tipo de correlación.