

Desarrollo de un recubrimiento a base de exopolisacárido con adición de bacterias lácticas y su evaluación en las propiedades fisicoquímicas de fresas (*Fragaria x ananassa*)

Angie Lizeth Quintero Pinilla - 2060337

Esteban Flórez Jaramillo - 2060338

Universidad del Valle
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería de Alimentos
Programa de Ingeniería de Alimentos
Tuluá Valle del Cauca
2025

Desarrollo de un recubrimiento a base de exopolisacárido con adición de bacterias lácticas
y su evaluación en las propiedades fisicoquímicas de fresas (*Fragaria x ananassa*)

Angie Lizeth Quintero Pinilla

Esteban Flórez Jaramillo

Directora

Anna María Polanía Rivera, PhD.

Codirectora

Cristina Ramírez Toro, PhD.

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero de Alimentos

Universidad del Valle

Facultad de Ingeniería

Escuela de Ingeniería de Alimentos

Programa de Ingeniería de Alimentos

Tuluá Valle del Cauca

2025

DEDICATORIA

A Dios, fuente de vida, sabiduría y propósito, dedicamos este trabajo con humildad y gratitud. Deseamos de corazón que la totalidad de lo desarrollado en él sirva como insumo al plan de vida que se tenga para nosotros según los sagrados propósitos de nuestro señor. Todo lo logrado es gracias a tu guía constante y tu amor infinito.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecemos a Dios, fuente de sabiduría y fortaleza, por guiarnos en cada paso de este camino y permitirnos culminar con éxito este proyecto. Expresamos también nuestra más profunda gratitud a nuestras familias y amigos, cuyo apoyo incondicional, amor y comprensión han sido fundamentales para alcanzar esta meta. Asimismo, reconocemos y agradecemos a las instituciones y entes que hicieron posible el desarrollo de este trabajo: al grupo de investigación en Microbiología y Biotecnología Aplicada – MIBIA, por su acompañamiento académico y científico; a la convocatoria interna SICOP No. 2122, por su respaldo financiero, al Laboratorio de Alimentos de la Universidad del Valle, sede Tuluá, por facilitar los espacios y recursos necesarios para la ejecución experimental de esta investigación, a la coordinación administrativa de la sede Tuluá, por su disposición y apoyo institucional, al equipo de vigilancia, por su amabilidad y colaboración; y al señor Fredy Medina, por su constante disposición para suministrarnos las fresas utilizadas en esta investigación.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	11
2	MARCO TEÓRICO	12
2.1	Fresa (<i>Fragaria x ananassa</i>) y fisiología poscosecha	12
2.2	Recubrimientos Comestibles (RC)	13
2.2.1	Materiales de los recubrimientos.....	14
2.2.2	Principales funciones de un recubrimiento comestible	14
2.2.3	Recubrimientos comestibles con agentes bioactivos.....	15
2.3	Exopolisacáridos (EPS) y bacterias ácido-lácticas (BAL)	15
3	ANTECEDENTES	16
4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
5	JUSTIFICACIÓN.....	21
6	OBJETIVOS.....	23
7	HIPÓTESIS	23
7.1	Hipótesis alterna	23
7.2	Hipótesis nula	23
8	METODOLOGÍA.....	24
8.1	Ubicación.....	24
8.2	Selección y evaluación antifúngica de bacterias ácido-lácticas (BAL).....	24
8.2.1	Obtención de cepas patógenas.....	24
8.2.2	Cepas de bacterias antagonicas.....	25
8.2.3	Evaluación <i>in vitro</i> de la actividad antifúngica de las bacterias lácticas.....	26
8.2.4	Ensayo <i>in vivo</i> de actividad antifúngica de bacterias seleccionadas	27
8.2.5	Determinación de ácidos orgánicos.....	27
8.2.6	Antagonismo entre las BAL	28
8.3	Formulación del recubrimiento comestible	28
8.3.1	Formulación de referencia	28
8.3.2	Diseño de mezclas y evaluación de los componentes	29
8.3.3	Optimización	30
8.4	Preparación y aplicación de la solución formadora de recubrimiento.....	31
8.4.1	Producción de exopolisacárido (EPS) de <i>Weissella confusa</i>	31
8.4.2	Obtención de suspensión bacteriana de la cepa seleccionada	31

8.4.3	Susceptibilidad de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 contra el EPS de <i>Weissella confusa</i>	31
8.4.4	Proceso de obtención del recubrimiento.....	31
8.4.5	Acondicionamiento de la fruta y aplicación del recubrimiento.....	32
8.5	Pruebas complementarias para validar las características inhibitorias del recubrimiento.....	32
8.5.1	Viabilidad de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 en el recubrimiento.....	32
8.5.2	Evaluación <i>in vivo</i> del recubrimiento contra la infección por hongos	32
8.6	Análisis estadístico	33
9	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
9.1	Selección y evaluación antifúngica de bacterias ácido-lácticas (BAL).....	33
9.1.1	Aislamiento y caracterización de hongos fitopatógenos	33
9.1.2	Selección de BAL con actividad antifúngica	35
9.1.3	Antagonismo entre BAL y susceptibilidad de la cepa <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> contra el EPS de <i>Weissella confusa</i>	47
9.2	Formulación del recubrimiento comestible	49
9.2.1	Diseño de mezclas para la optimización de la formulación	49
9.2.2	Efecto de los componentes sobre las características fisicoquímicas de la fresa	49
9.2.3	Efecto de los componentes sobre el color (ΔE , ΔL^* y ángulo de tono).....	52
9.2.4	Optimización de la formulación	52
9.3	Viabilidad de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> en el recubrimiento.....	55
9.4	Evaluación <i>in vivo</i> del recubrimiento contra la infección por hongos	57
10	Costos de elaboración del recubrimiento	60
11	CONCLUSIONES.....	61
12	RECOMENDACIONES	62
13	PRODUCTOS	62
14	ANEXOS.....	66
15	REFERENCIAS	68

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Estudios <i>realizados</i> a recubrimientos comestibles con adición de compuestos antimicrobianos.	16
Tabla 2. Estudios realizados sobre recubrimientos comestibles con adición de compuestos microbianos utilizados en fresa.	18
Tabla 3. Cepas de bacterias ácido-lácticas evaluadas.....	26
Tabla 4. Compuestos y proporciones de referencia para la producción del recubrimiento.	28
Tabla 5. Inhibición del micelio (áreas claras) por la actividad antifúngica de las bacterias ácido-lácticas contra <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Aspergillus niger</i> y <i>Rhizopus stolonifer</i>	36
Tabla 6. Perfil de ácidos orgánico. Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.....	46
Tabla 7. Diseño experimental.	49
Tabla 8. Efecto de los tratamientos sobre parámetros de color (luminosidad, ángulo de tono y cambio global de color). Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.	52
Tabla 9. Formulación optimizada del recubrimiento para los parámetros fisicoquímicos evaluados en el diseño de mezclas.	53
Tabla 10. Evaluación fisicoquímica sobre fresas recubiertas (formulación optimizada) y control (sin recubrir) tras 7 días de almacenamiento en condiciones ambiente. Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.....	53
Tabla 11. Precio en COP de los componentes para elaboración del EPS.	60
Tabla 12. Precio en COP por gramo de EPS en polvo.	60
Tabla 13. Costo de elaboración del recubrimiento comestible.....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. FAOSTAT (2023). <i>Proporción</i> de producción de fresa por región. Recuperado de FAOSTAT.	22
Figura 2. Imágenes macroscópicas y microscópicas de (a) <i>B. cinerea</i> , (b) <i>R. stolonifer</i> y (c) <i>A. niger</i>	34
Figura 3. Características coloniales y microscópicas por tinción de gram de las bacterias ácido-lácticas evaluadas en este estudio.	36
Figura 4. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra <i>Rhizopus stolonifer</i> (a- día 1, b – día 3, c – día 7).	38
Figura 5. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra <i>Aspergillus niger</i> (a- día 1, b – día 3, c – día 7).	39
Figura 6. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra <i>Botrytis cinerea</i> (a- día 1, b – día 3, c – día 7).	39
Figura 7. Actividad de biosurfactantes de las cepas de bacterias utilizadas. El agua destilada representa el tratamiento de control. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras de cada cepa que no comparten letras son significativamente diferentes	42
Figura 8. Producción biosurfactante de (a) <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> and (b) <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	42
Figura 9. Efecto inhibitorio in vivo contra los hongos I <i>Botrytis cinerea</i> , II <i>Rhizopus stolonifer</i> y III <i>Aspergillus niger</i> , por las cepas de bacterias lácticas a) <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 y b) <i>Weissella confusa</i> , teniendo como control c) el tratamiento sin bacterias.	44
Figura 10. % Área infectada después de incubación de las heridas en fresas con las bacterias antagonicas <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 y <i>Weissella confusa</i> contra los hongos <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i> y <i>Aspergillus niger</i> . Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras de cada hongo que no comparten letras son significativamente diferentes, $n = 3$ ($P < 0,05$).	44
Figura 11. Antagonismo entre las cepas de BAL <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 y <i>Weissella confusa</i> , con la primera como base (a) y superpuesta en el disco de agar de menor tamaño, con <i>W. confusa</i> como base (b); las líneas punteadas indican el halo de inhibición. En la parte c) la susceptibilidad contra el EPS de <i>Weissella confusa</i> (discos) de la cepa <i>L. plantarum</i> A6 en la base.	48
Figura 12. Gráficas de contorno para la pérdida de peso (a) y la firmeza (b) de fresa recubierta después de 7 días de almacenamiento a 30 °C y 70% HR.	50
Figura 13. Gráficas de contorno para el efecto de los componentes sobre el pH (a) y la acidez (b) de fresa recubierta, después de 7 días de almacenamiento a 30 °C y 70% HR. ..	51
Figura 14. Fresa recubierta (a) y sin recubrir (b), día 7 de almacenamiento en condiciones ambiente.	54
Figura 15. Viabilidad de <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6 en la solución de recubrimiento a través del tiempo. Los valores están representados como la media, y las barras de error denotan la desviación estándar ($n=3$).	56

Figura 16. Población de <i>A. niger</i> ., <i>R. stolonifer</i> y <i>B. cinerea</i> en fresas, con y sin recubrimiento comestible después de 7 días de incubación a 25 °C. Los valores están representados como la media, y las barras de error denotan la desviación estándar (n=3). Para cada hongo, las columnas con letras diferentes (a,b) representan diferencia significativa entre tratamientos por la prueba de Tukey ($p<0,05$).....	58
Figura 17. Conteo en placa de <i>Botrytis cinerea</i> ., <i>Rhizopus stolonifer</i> y <i>Aspergillus niger</i> de fresas recubiertas y sin recubrimiento (control)	59
Figura 18. Análisis de varianza firmeza versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.	66
Figura 19. Análisis de varianza ángulo de tono versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.	66
Figura 20. Análisis de varianza % pérdida de peso versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.	67
Figura 21. Optimización de respuesta. Fuente: Minitab 2025.....	67

RESUMEN

En Colombia, según el último estudio sobre el desperdicio de alimentos publicado por el DNP en 2016, se desperdician cerca de 6,1 millones de toneladas de frutas y hortalizas al año, de las cuales un 20 % corresponde a pérdidas poscosecha. Las fresas son frutos altamente consumidos a nivel mundial y nacional dadas sus propiedades sensoriales y nutricionales, sin embargo, su comercialización enfrenta fuertes desafíos debido a su rápida tasa de degradación que a consecuencia genera pérdida del fruto, una mala experiencia para el consumidor y afectación económica al productor. Esta problemática resalta la necesidad de desarrollar tecnologías más eficaces para el almacenamiento y conservación de estos productos. Entre las estrategias emergentes se encuentran los recubrimientos comestibles (RC), elaborados a partir de compuestos naturales y biodegradables. Estos RC pueden incorporar componentes funcionales como bacterias ácido-lácticas (BAL), reconocidas como seguras (GRAS) por la FDA, que pueden otorgarle al alimento beneficios fisiológicos adicionales.

Con base en esta premisa, se diseñó un recubrimiento comestible para fresa con adición de *Lactiplantibacillus plantarum* A6, bacteria seleccionada por su potencial antifúngico frente a hongos fitopatógenos como *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*, previamente aislados de fresa infectada. Este recubrimiento, cuya base fue el exopolisacárido (EPS) producido por *Weissella confusa*, permitió mantener la viabilidad de *Lactiplantibacillus plantarum* A6 y demostrar su efecto antifúngico a través de pruebas *in vivo*, donde se observó una inhibición completa del crecimiento de *Botrytis cinerea* en fresas recubiertas.

Para seleccionar la formulación con la mejor proporción de compuestos usados en la solución formadora del recubrimiento, se llevó a cabo un diseño de mezclas en el que se evaluó el efecto de los componentes principales (EPS, alginato de sodio y glicerol) en las propiedades fisicoquímicas del fruto (pérdida de peso, firmeza, acidez titulable, pH y color). Posteriormente se realizó una optimización y sobre la misma se evaluaron parámetros fisicoquímicos y la capacidad inhibitoria de crecimiento de hongos.

Se observó que *Lactiplantibacillus plantarum* A6 presentó la mayor inhibición de crecimiento micelial en los hongos de interés en las pruebas *in vitro* e *in vivo* (halo de inhibición *Aspergillus niger*: $50,03 \pm 0,45$ mm – halo de inhibición *Rhizopus stolonifer*: $22,90 \pm 1,20$ mm – Crecimiento radial *Botrytis cinerea*: $20,59 \pm 3,66$ mm / 90 mm). También se observó que EPS, alginato y glicerol tuvieron efectos estadísticamente significativos en la pérdida de peso ($p = 0,024$), el ángulo de tono ($p = 0,007$) y la firmeza ($p = 0,008$).

Finalmente se determinó que la aplicación de un recubrimiento comestible a base de exopolisacarido con la adición de bacterias ácido-lácticas en fresas, favoreció la conservación de factores directamente relacionados con la calidad del fruto durante el almacenamiento.

Palabras clave: fresa, recubrimiento comestible, exopolisacarido, bacteria ácido-láctica.

1 INTRODUCCIÓN

La fresa (*Fragaria x ananassa*) es una de las bayas más populares y consumidas en todo el mundo (Kaur & Kumar, 2022) su aroma, color y textura jugosa, además de su óptima composición nutricional le otorgan favorabilidad entre los consumidores.

La producción mundial de fresa asciende a los diez millones de toneladas para el año 2023, siendo los principales productores China y Estados Unidos (FAOSTAT, 2025); Colombia es el tercer país latinoamericano con mayor área sembrada en cultivos frutales, entre los que se destacan el mango y la fresa. En el país se produce fresa todo el año y para el 2020 se registró una producción total nacional superior a las 86.000 toneladas (Ministerio de Agricultura, 2021).

La comercialización de fresa fresca enfrenta fuertes desafíos, ya que se deteriora con facilidad debido a su alto contenido de humedad, exocarpio delgado y alta susceptibilidad al deterioro por hongos (Weng et al., 2020a).

Actualmente el control de enfermedades en postcosecha se realiza con productos sintéticos dentro de los cuales, algunos ocasionan reacciones adversas en organismos no objetivo como los seres humanos (Wolde & Airdew, 2019), motivo por el cual se hace necesario migrar hacia alternativas naturales, seguras y efectivas, que garanticen al consumidor final un producto de alta calidad.

Frente a la necesidad de conservación que presenta, no solo el mercado de la fresa, sino el mercado de productos alimenticios de origen vegetal en general, los recubrimientos comestibles representan una opción valiosa, dado que han sido evaluados en diferentes investigaciones y se les atribuyen resultados positivos (Cruz-Monterrosa et al., 2023; Upadhyaya et al., 2024; Miteluț et al., 2021). Los recubrimientos comestibles se definen como capas de material aplicadas en estado líquido directamente sobre el producto, formando un revestimiento delgado que se puede consumir con el mismo, cuyo propósito es separar el alimento del ambiente circundante, reduciendo el deterioro causado por factores físicos, químicos y biológicos y proporcionando una barrera contra los daños mecánicos, evitando la degradación y prolongando la vida útil (Tufan et al., 2021).

Los exopolisacáridos son una red polimérica constituida por cadenas de hidratos de carbono y otros compuestos, que se encuentran presentes, en su mayoría, en la superficie externa de las bacterias, su estructura es altamente atractiva como insumo principal para la producción de películas o recubrimientos comestibles que aumenten la vida en almacenamiento de frutas y hortalizas altamente vulnerables frente a ataques fúngicos (Kaur & Dey, 2023).

También se ha investigado sobre la posibilidad de incorporar componentes funcionales a los recubrimientos comestibles con el fin de potenciar su función conservativa, este grupo incluye también bacterias con características protectoras que pueden inhibir el crecimiento de microorganismos no deseados en los alimentos. En este sentido, las bacterias ácido-lácticas (BAL) representan un enfoque prometedor, debido a su capacidad para inhibir

microorganismos patógenos y agentes de descomposición a través de las sustancias que producen (Agriopoulou et al., 2020).

Existen estudios en los que se comprueba la efectividad de los recubrimientos y de las bacterias ácido-lácticas en el tratamiento para la inhibición de hongos y el aumento de la vida útil de algunos productos alimentarios de origen vegetal. Por ejemplo Temiz & Özdemir, (2021) concluyen que los recubrimientos de gelatina-probiótico y gelatina-probiótico-inulina inhibieron el crecimiento de los recuentos de levaduras y mohos en comparación con el control durante todo el tiempo de almacenamiento, y se pueden utilizar para aumentar la vida útil y la funcionalidad de frutas y verduras perecederas. Además, en el trabajo investigativo realizado por Álvarez et al., (2021), se identifica que el recubrimiento comestible compuesto de exopolisacáridos con contenido de *L. plantarum* A6 como agente antifúngico, preservó la calidad microbiológica del tomate cherry al inhibir el crecimiento del hongo *Fusarium sp.* y *Rhizopus stolonifer*, este último causante también del deterioro en fresas.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación fue el desarrollo de un recubrimiento comestible a base de exopolisacáridos producto de la actividad metabólica de *Weissella confusa* con adición de bacterias ácido-lácticas y la posterior evaluación sobre su capacidad para mantener las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas durante el tiempo de almacenamiento en fresas.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Fresa (*Fragaria x ananassa*) y fisiología poscosecha

La fresa es una fruta cultivada ampliamente en Colombia (más de 113.000 toneladas en el año 2022) (Agronet, 2024) y el mundo, especialmente en regiones con clima frío. A nivel nacional se reporta producción en el altiplano cundiboyacense, la zona alta del Valle del Cauca y la región andina. Es cosechada durante todo el año, pero el volumen de recolección más alto tiene lugar entre agosto y diciembre; los principales departamentos productores de fresa son Cundinamarca, Antioquia, Valle del Cauca, Boyacá y Tolima (Ministerio de Agricultura, 2021). En el Valle del Cauca, el cultivo de fresa se desarrolla principalmente en municipios como El Cerrito (“Tenerife”) y Tuluá (“Barragán”), con un área sembrada promedio de 22 hectáreas y un rendimiento estimado de 30,3 toneladas por hectárea (Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2018). Las fresas se cultivan principalmente en invernaderos y se cosechan a mano, pero estas pueden ser cultivadas en campo abierto a temperaturas entre los 15 y 25 °C (Mora Cabeza & Flórez Faura, 2010).

La fragaria, arbusto que origina las fresas, es una planta herbácea perenne, lo que quiere decir que no forma tejido leñoso y cumplen el ciclo de vida en 1 o 2 años. Pertenecen a la familia *Rosaceae* y es altamente apreciada por su fruto de sabor dulce y reconocidas propiedades nutricionales, siendo “*ananassa*” la especie más común en el mundo. La fragaria cuenta con un sistema radicular fibroso y superficial lo que facilita la absorción de nutrientes y agua. El tallo está compuesto por estolones que son ramificaciones en forma horizontal que crecen a lo largo del suelo y permiten el crecimiento de nuevas plantas, las hojas son rugosas y de

color verde brillante pero algunas especies pueden tener hojas con tono rojizo en brotes jóvenes (Rhodes et al., 2023). La fresa, es una baya y es un fruto agregado, esto quiere decir que se forma a partir de múltiples ovarios de una flor, cada semilla visible en la superficie de la fresa es en realidad un fruto conocido como “aquenio” que contiene una semilla. Generalmente, la fresa presenta una forma cónica que varía según la especie, con un tamaño que oscila entre 2 cm y 6 cm, dependiendo de la variedad o del tipo de fresa (cultivada o silvestre). Al llegar a su máxima maduración, su color es rojo brillante, aunque en algunas especies pueden encontrarse frutos blancos, amarillos o morados, con un sabor dulce y ligeramente ácido (Cosme et al., 2022). Desde el punto de vista nutricional, 100 g de fresas aportan aproximadamente 37 kcal y 7 g de carbohidratos, de los cuales 2 g corresponden a fibra y 5 g a azúcares como fructosa y glucosa. Asimismo, su contenido de grasa (0,8 g) y proteína (0,3 g) es bajo, mientras que destaca su elevado aporte de vitamina C, que alcanza unos 58,8 mg por 100 g, cubriendo más del 50 % de la ingesta diaria recomendada para adultos que es de 100 mg (Lewis, 2019) En cuanto a su origen, la fresa es el resultado de cruzamientos entre especies nativas de Norteamérica (*Fragaria virginiana*) y Sudamérica (*Fragaria chiloensis*). Su cultivo a gran escala comenzó en Europa y América a partir del siglo XIX, si bien su consumo es mucho más antiguo, ya que las culturas precolombinas ya aprovechaban fresas silvestres (Mezzetti et al., 2018). Actualmente, se conocen distintas variedades, entre ellas Alba, Camarosa y Sequoia, que difieren en tamaño, sabor y resistencia a enfermedades (Ladika et al., 2024).

La fisiología postcosecha de la fresa reviste gran importancia debido a su susceptibilidad a diversos factores durante esta etapa. Se trata de una fruta no climatérica, es decir, una vez cosechada detiene su proceso de maduración (Parvez & Wani, 2018). Además, presenta una elevada tasa de respiración en su punto de madurez, registrándose valores entre 44 y 48 mg CO₂/kgh (Escalante Varona, 2015). Esta alta actividad respiratoria compromete su vida útil, ya que favorece la degradación de tejidos y la síntesis de metabolitos secundarios. En condiciones sin tratamiento poscosecha, su periodo de conservación oscila entre 6 y 9 días (Jima, 2015), lo cual es limitado frente a otros frutos como la guayaba, que, a pesar de presentar tasas respiratorias aún mayores —entre 1500 y 1600 mg CO₂/kgh—, alcanza hasta 12 días de vida útil sin intervención tecnológica (Angel Espinoza & Ruelas Chacón, 2015). La fresa es un fruto muy sensible al daño físico, estas laceraciones provocan vías directas para el ataque de microorganismos patógenos. Es fundamental que después de la cosecha el almacenamiento sea a temperaturas bajas para prolongar la vida útil en anaquel, ya que disminuye la tasa de respiración para así mantener la calidad de la fresa (Parvez & Wani, 2018). Para el almacenamiento correcto de las fresas se aplican temperaturas entre 3 y 1 °C, una humedad relativa entre 80 y 85 % y un cuarto frío limpio y ventilado para evitar la acumulación de gases (ICONTEC, 1996).

2.2 Recubrimientos Comestibles (RC)

Los recubrimientos comestibles son materiales utilizados para la conservación de alimentos, estos son aplicados sobre el producto y sus ventajas son la capacidad de prolongar la vida útil y la facilidad que permite en el consumo humano (Osorio Mora et al., 2016). También

existe en la industria las denominadas películas comestibles, su diferencia radica en la forma de aplicación sobre el alimento, siendo el recubrimiento una solución en la cual el producto es tratado mediante técnicas de aplicación como la inmersión o la aspersión durante un tiempo determinado y posteriormente dejado en reposo hasta que la capa este seca, en cambio, las películas comestibles son materiales que en su fabricación son formados en moldes y tienen un espesor ligeramente mayor que los recubrimientos (Osorio Mora et al., 2016). Estos materiales son fabricados a partir de polímeros de origen biológico como lo son los polisacáridos y un compuesto proteico o lipídico, y en algunos casos una combinación de ambos (López de Lacey, 2013).

El uso de los recubrimientos comestibles se viene dando desde la antigüedad, cuando se utilizaban sustancias naturales como la cera de abejas y la resina de los árboles para proteger los alimentos y mejorar su apariencia (Gennadios et al., 1997). En las últimas décadas, se han producido importantes avances en la investigación y desarrollo de recubrimientos comestibles con el objetivo de mejorar su calidad y funcionalidad, además, se han desarrollado distintas tecnologías para su aplicación (Dhall, 2013).

2.2.1 Materiales de los recubrimientos

Los RC son muy importantes debido a su aporte en la conservación y mejoramiento de la calidad organoléptica y nutricional del alimento tratado. Además, su impacto en la protección del medio ambiente, al favorecer la reducción del uso de plásticos y otros materiales no biodegradables en el envasado de alimentos, es de gran relevancia (Azeredo, 2009).

Los RC son producidos a partir de tres materiales que pueden ser: polisacáridos, proteínas, lípidos o la combinación de estas tres biomoléculas; según la naturaleza del material a partir del cual fue desarrollado el RC, expone diferentes ventajas y desventajas (Massoud et al., 2023a). Los recubrimientos de polisacáridos son hidrófilos, por lo tanto, poseen malas propiedades de barrera frente al vapor de agua, sin embargo se afirma que otorgan una barrera eficaz contra el oxígeno, retardan la pérdida de humedad del producto y son incoloros; por otro lado, los recubrimientos lipídicos son excelentes barreras contra el agua debido a su estructura hidrofóbica, aumentan el atractivo visual del alimento, proporcionan una barrera contra el oxígeno, el dióxido de carbono, el aceite y la migración de sabor / aroma entre los alimentos y el medio ambiente y funcionalmente poseen un valor agregado dado que ofrece la posibilidad de incluir aditivos alimentarios como antioxidantes, antimicrobianos o aromatizantes; a nivel de desventajas este tipo de material proporciona recubrimientos más gruesos y quebradizos, por lo tanto deben usarse junto con sustancias formadoras de película, posee malas propiedades mecánicas y su producción requiere solventes y altas temperaturas; finalmente, los recubrimientos de estructura proteica son hidrófilos, es decir, sensibles a la absorción de humedad, frágiles, propensos al agrietamiento, sin embargo, destaca porque poseen excelentes propiedades mecánicas y de barrera (Tufan et al., 2021).

2.2.2 Principales funciones de un recubrimiento comestible

Debido a que los RC se aplican sobre diversos tipos de alimentos, tienen diferentes funciones en este, reducen la pérdida de humedad del alimento, crean una barrera contra el oxígeno y

otros gases que ayuda a prevenir la oxidación y la degradación, mejora la textura y el aspecto manteniendo el atractivo visual de estos y algunos ofrecen protección contra microorganismos disminuyendo el crecimiento de hongos y bacterias (Aider, 2010). Por otro lado, estos recubrimientos mejoran la calidad del alimento al extender su vida útil, lo que contribuye a mantener sus características sensoriales y funcionales por más tiempo (Raghav et al., 2016). Asimismo, su aplicación permite reducir significativamente el desperdicio de alimentos y fortalecer la eficiencia en la cadena de suministros (Gómez-Estaca et al., 2010).

2.2.3 Recubrimientos comestibles con agentes bioactivos

Existe un amplio grupo de componentes funcionales que se agregan a los recubrimientos comestibles con el fin de potencializar su función conservativa, este grupo incluye también bacterias con características protectoras que pueden inhibir el crecimiento de microorganismos no deseados en los alimentos. En este sentido, las bacterias ácido-lácticas (BAL) representan un enfoque prometedor, debido a su capacidad para inhibir microorganismos patógenos y agentes de descomposición a través de las sustancias que producen (Agriopoulou et al., 2020b).

2.3 Exopolisacáridos (EPS) y bacterias ácido-lácticas (BAL)

Los exopolisacáridos (EPS) son polímeros extracelulares sintetizados por diversos microorganismos, incluidas las bacterias ácido-lácticas (BAL). Los EPS producidos por estas bacterias tienen múltiples aplicaciones en la industria alimentaria, debido a sus propiedades funcionales, como su capacidad para actuar como espesantes, estabilizantes y emulsionantes. Además, se ha demostrado que los EPS de las BAL poseen propiedades prebióticas, antioxidantes y antimicrobianas, lo que aporta beneficios significativos para la salud del consumidor. El EPS producido a partir de *Weissella confusa*, que es una de las BAL que más producen EPS, incluso con una fuente de carbono limitada (Dey et al., 2023), ha sido caracterizado en diferentes investigaciones, en las cuales se ha concluido que cuenta con una actividad antioxidante de 74,3 % contra el radical hidroxilo (Benhoua et al., 2019), que tiene actividad antibiopelícula significativa contra patógenos transmitidos por alimentos (Moradi et al., 2021) y que además presenta una textura con poros visibles, superficie lisa y estructura interna parcialmente cristalina, atributos que son relevantes para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles destinados a aplicaciones en el sector alimentario (Guerrero Guevara et al., 2024). En este sentido, las bacterias ácido-lácticas emergen como una alternativa prometedora en el control de microorganismos patógenos y agentes descomponedores, gracias a las sustancias bioactivas que secretan, contribuyendo así a la mejora de la seguridad alimentaria y la salud intestinal (Agriopoulou et al., 2020a). La incorporación de exopolisacáridos (EPS) en recubrimientos comestibles que contienen bacterias ácido-lácticas (BAL) ofrece múltiples beneficios para el control biológico de frutas y hortalizas. Estos polímeros extracelulares favorecen la adhesión de las BAL al recubrimiento, fortaleciendo su implantación sobre la superficie del alimento; además, brindan protección frente a condiciones ambientales adversas como el estrés térmico, osmótico o por pH (Yildiz & Karatas, 2018). También presentan una capacidad de retención de agua asociada a su estructura globular, porosa e irregular, lo que mejora la hidratación de

la célula bacteriana (Lakra et al., 2020). Su capacidad para interactuar con iones presentes en el entorno, como sodio, potasio o magnesio, favorece el transporte de sustancias esenciales a través de la membrana celular, contribuyendo a mantener la homeostasis y facilitando la supervivencia de las BAL en medios hostiles (Donot et al., 2012). Asimismo, los EPS pueden evitar la adhesión de microorganismos patógenos mediante la modificación de la superficie celular o la inhibición de interacciones específicas, y participan en la formación de biopelículas protectoras que aumentan la estabilidad mecánica del sistema y promueven la colonización ordenada de las BAL en el recubrimiento (Benhoua et al., 2019).

3 ANTECEDENTES

La fresa es uno de los frutos que presenta mayores niveles de desperdicio, debido a las condiciones que inciden durante el almacenamiento y transporte postcosecha. Esta problemática, sumada a su fisiología, provoca un rápido ablandamiento del fruto, lo cual origina la mayoría de los daños. La fresa se ve afectada por su alta tasa metabólica que aumenta su vulnerabilidad ante la rápida deshidratación, pérdida de peso, pérdida de firmeza y degradación del tejido, lo que permite que se generen daños mecánicos y cambios en el color (Contigiani et al., 2018). Estos daños, dan vía libre a hongos patógenos como *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus Niger*, *Fusarium sp.*, entre otros. Frente a estos problemas, se han utilizado variedad de métodos físicos, entre estos la del uso de los recubrimientos comestibles (RC), estos recubrimientos han sido usados en frutas como las manzanas y las uvas. Las características de los RC pueden ser mejoradas con la implementación de distintas sustancias para generar mejoras en su funcionamiento o innovar en su uso. En la literatura hay disponibles diversos estudios que informan la actividad antifúngica de los recubrimientos comestibles enriquecidos con probióticos (Palou et al., 2015). Las BAL tienen la característica funcional de producir metabolitos como bacteriocinas y ácidos orgánicos que tienen la propiedad de actuar como compuestos antibacterianos y antifúngicos (Özpinar et al., 2024). Actualmente, es común la incorporación de bacterias ácido-lácticas (BAL) en recubrimientos comestibles debido a la amplia diversidad de cepas que han demostrado poseer actividad antimicrobiana, lo que las convierte en una alternativa eficaz para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (Dey et al., 2023).

A continuación, en la Tabla 1, se presentan estudios sobre recubrimientos con adición de agentes antimicrobianos como lo son las BAL en frutas y verduras.

Tabla 1. Estudios realizados a recubrimientos comestibles con adición de compuestos antimicrobianos.

Alimento	Recubrimiento	Aditivo	Microorganismo por inhibir	Referencias
Guayaba y mango	Alginato de sodio	Bacterias ácido-lácticas derivadas de la fruta	Especies de <i>Colletotrichum</i>	(Díaz-Montes & Castro-Muñoz, 2021)

Carne de res	Caseinato de sodio	Sorbitol y <i>Lactobacillus Sakei</i>	<i>Listeria Monocytogenes</i>	(Gialamas et al., 2010)
Pan de trigo	Alginato de sodio	<i>Lactobacillus acidophilus</i> y <i>bulgaricus</i> , glicerol	Bacterias aerobias mesófilas y facultativas.	(Gregirchak et al., 2020)
Queso	Proteína whey	<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Penicillium nordicum</i>	(Guimarães et al., 2020)
Yuca	Mucílago de linaza, alginato y fructooligosacárido	<i>Lactobacillus Casei</i>	Bacterias aerobias general	(Rodrigues et al., 2018)

Díaz-Montes & Castro-Muñoz, (2021) investigaron la capacidad de las bacterias ácido-lácticas derivadas de las frutas adicionadas a un recubrimiento comestible de alginato de sodio, esto fue efectuado sobre guayaba y mango. Concluyeron que estos recubrimientos enriquecidos con las bacterias ácido-lácticas impactaron positivamente en algunos parámetros fisicoquímicos importantes en la postcosecha y en el aumento de la vida útil de las frutas. Durante el almacenamiento por 15 días, la densidad de población no se vio afectada, se mantuvo en valores mayores 6 log UFC/mL.

Gialamas et al., (2010) demostraron que la adición de *Lactobacillus Sakei* en un recubrimiento comestible a base de caseinato de sodio, logró inhibir el crecimiento de *Listeria Monocytogenes* en carne de res fresca expuesta a diferentes temperaturas de almacenamiento. La adición de sorbitol incrementó la viabilidad de las células y la densidad de población se mantuvo en 10^6 UFC/cm² durante 30 días, por lo cual, concluyeron que el uso de este probiótico es efectivo en cuanto a el aumento de la vida útil de alimentos como la carne de res.

Otros investigadores como Gregirchak et al., (2020) analizaron el efecto de un recubrimiento comestible de alginato de sodio con adición de bacterias ácido-lácticas para el control de microorganismos en pan de trigo, estos consiguieron resultados positivos en cuanto al aumento de la vida en almacén de este. El crecimiento de bacterias mesófilas y facultativas se vio inhibido de manera representativa pues el crecimiento en el control fue exponencial. También, la mezcla para el recubrimiento con mejores resultados de viabilidad mantuvo un conteo de $(5,7 \pm 0,5) \times 10^7$ unidades formadoras de colonia durante 86 horas.

Otro componente capaz de mantener la viabilidad de las bacterias ácido-lácticas fue la proteína whey, así lo concluyó Guimarães et al., (2020), quienes reportan que se mantuvo un conteo de 10^5 UFC/ml durante 30 días de almacenamiento a 25 °C. Así mismo, que el queso tratado se mantuvo protegido satisfactoriamente durante el mismo periodo de tiempo y que en los análisis realizados no se encontró rastro de ocratoxina durante el intervalo de estudio.

Con el objetivo principal de reducir los cambios fisicoquímicos durante el almacenamiento de cubos de yuca, Rodrigues et al., (2018) desarrollaron un recubrimiento comestible que logró prevenir incluso el pardeamiento del producto. Asimismo, evaluaron la viabilidad de *Lactobacillus casei*, la cual no se vio comprometida al simular un ambiente gastrointestinal, comprobando que las unidades formadoras de colonias se mantenían relativamente estables. Esto permitió asegurar que una cantidad significativa de probióticos alcanzara el tracto gastrointestinal.

En cuanto a investigaciones relacionadas con la fresa, se encontraron los siguientes estudios presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Estudios realizados sobre recubrimientos comestibles con adición de compuestos microbianos utilizados en fresa.

Recubrimiento	Aditivos	Variables de respuesta	Resultados	Referencia
Membrillo de mucílago	Nanofibras de celulosa bacteriana (NC) (1-0,25%) y extracto de <i>Eryngium planum</i> (EPE) (0,5-0,25%)	Aumento en la vida útil de las fresas y estabilidad de sus atributos físicos y químicos.	La mezcla de NC 1% y EPE 0,5% obtuvo el mejor resultado en cuanto a la estabilidad de los atributos físicos, químicos y la mayor efectividad como barrera para la fruta.	(Shahbazi et al., 2021)
Quitosano	Extracto de peonia (<i>Paeonia Rockii</i>)	Disminuir el crecimiento de hongos en la fruta	Lograron alargar la vida útil de la fruta en almacén hasta 16 días, reduciendo los daños por crecimiento de hongos, pérdidas de peso, conservando vitaminas y antioxidantes sin causar ningún efecto adverso en el ámbito sensorial.	(Pagliarulo et al., 2016)
Quitosano con extracto de proteína de quinua	Nano emulsión de timol	Evaluar el crecimiento microbiano, calidad y propiedades	La muestra expuesta al recubrimiento tuvo menores ataques de hongos con respecto al control, el aroma	(Robledo et al., 2018)

Recubrimiento	Aditivos	Variables de respuesta	Resultados	Referencia
		sensoriales de la fruta expuesta a un ambiente de almacenamiento comercial	mejoro, no altero las propiedades fisicoquímicas de la fruta y al final el recubrimiento incremento la vida útil de la fresa en 4 días.	
Quitosano	Ácido fumárico	Evaluar la pérdida de peso, deterioro visual y análisis microbiológico	La mezcla tuvo una cantidad significativa menor de conteo de mohos y levaduras que la muestra control y amplio su vida útil de 4 a 8 días, expuestas a 10 °C.	(Khan et al., 2019)
Goma a base de semillas de albahaca	Extracto de equinácea	Crecimiento microbiano, pérdida de peso, degradación de ácidos ascórbico, fenoles y antocianinas.	Este recubrimiento aumento considerablemente la protección antimicrobiana e incluso aumento la vida útil de la fruta hasta 20 días.	(Moradi et al., 2019)

Shahbazi et al., (2021), demostraron que el uso de recubrimientos de mucílago de okra-mucílago de semilla de membrillo que contenían nanofibras de celulosa bacteriana y extracto de *Eryngium planum* prolongaban la vida útil de fresas almacenadas en condiciones de refrigeración. Los autores concluyeron que, tras 12 días de almacenamiento, no solo se mantuvieron las características fisicoquímicas y sensoriales de la fruta estables, sino que también se logró retardar el crecimiento de microorganismos causantes de deterioro como los mohos y levaduras donde el grupo control registró una población mayor a 6 log UFC/g mientras la formulación con mejores resultados presentó un conteo de 2,5 log UFC/g transcurrido el tiempo del estudio.

Por otro lado, Pagliarulo et al., (2016), demostraron que un recubrimiento comestible formulado con quitosano y enriquecido con extracto de peonía presentó resultados altamente prometedores para la conservación de fresas. Donde se concluyó que las propiedades fisicoquímicas se mantuvieron estables y el ataque fúngico se pudo controlar en los frutos

recubiertos. Las fresas tratadas redujeron significativamente el crecimiento de hongos y lograron detener más rápidamente la pérdida de peso en un 33%.

También, desarrollaron un recubrimiento con quitosano y un extracto de proteína de quinua junto a una nano emulsión de timol para evaluar su efectividad para proteger a las fresas, Robledo et al., (2018) encontraron que este recubrimiento tuvo muy buenos resultados, al quinto día de exposición encontraron que el olor y sabor de la fresa fue afectado, pero al final del análisis se encontró que esto terminó por mejorar aún más. Igualmente se encontró que este tratamiento redujo considerablemente el crecimiento de mohos y levaduras.

Así mismo, Khan et al., (2019) desarrollaron un recubrimiento comestible con adición de ácido fumárico, logrando que el conteo de bacterias aerobias fuera mucho menor con valores de 3,32 UFC/fruta contra 5,31 UFC/fruta de la muestra control. La pérdida de peso durante el almacenamiento con el recubrimiento se redujo un 0,5% y el deterioro visual fue visto en el día 4 en la muestra control y en la muestra del recubrimiento en el día 6, concluyendo con un 28% más de disminución del ataque de infecciones.

Por otra parte, el uso de plantas medicinales también ha sido investigado. Moradi et al., (2019) investigaron la efectividad de un recubrimiento comestible a partir de goma a base de semillas de albahaca con la adición de extracto de equinácea, reportaron que el crecimiento microbiano de mohos y levaduras se vio grandemente afectado pues disminuyó su conteo en un total de 2,12 log UFC/g después de 20 días. La pérdida de peso se redujo en un 12% con respecto a frutas sin recubrimiento, concluyendo así que el uso de extractos de plantas medicinales es efectivo para su uso en recubrimientos comestibles.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria de la fresa es un sector agroalimentario que presenta grandes desafíos en materia de comercialización ya que es una baya de fácil descomposición y difícil almacenamiento, esto debido a su alto contenido de humedad, exocarpio blando y alta susceptibilidad al deterioro por hongos (Weng et al., 2020). Las principales especies de moho responsables de este deterioro son, en orden de importancia, *Botrytis cinerea*, que causa el moho gris, *Rhizopus stolonifer* y *Mucor* spp., que causan la pudrición blanda, *Colletotrichum* spp., causante de la enfermedad de antracnosis y finalmente aquellos causantes de otras podredumbres postcosecha de menor incidencia como *Penicillium expansum*, *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp. y *Cladosporium* spp (Feliziani & Romanazzi, 2016). La fresa muestra una baja eficiencia de postcosecha y debe ser utilizada, consumida o procesada casi inmediatamente haya sido recolectada (Camara de Comercio de Bogotá, 2015). Después de cierto período de almacenamiento, la fresa comienza a perder nutrientes y sabor debido a su estructura vulnerable y su rápida tasa de respiración durante el almacenamiento (Weng et al., 2020). Posterior a la cosecha, las fresas se mantienen en una cadena de frío a temperaturas normalmente de 0 °C a 4 °C lo que posibilita una vida útil de 5 días aproximadamente (Massoud et al., 2023). Sin embargo, la refrigeración no puede controlar el crecimiento de mohos psicrótrofos como *Botrytis cinerea* y una disminución mayor de las temperaturas tampoco es lo ideal, ya que se pueden provocar daños por frío como picaduras en la

superficie, oscurecimiento, descomposición, decoloración, manchas húmedas y pulpa de textura harinosa (James & Zikankuba, 2017). El detrimento de la fresa produce disminución de la calidad, lo que reduce su comercialización y en última instancia ocasiona el desperdicio de la fruta y pérdidas económicas al productor.

En la actualidad, reducir el índice de pérdida y desperdicio de alimentos es un objetivo global. Considerando que las frutas y hortalizas representan el sector con mayor incidencia en esta problemática, en los últimos años se ha intensificado el interés y los esfuerzos para investigar estrategias que permitan extender su ciclo de vida. El último informe a nivel nacional señala que en Colombia se producen 28,5 millones de toneladas de alimentos, de las cuales 9,76 millones se pierden o desperdician. Se destaca que uno de los sectores con mayores pérdidas es el de frutas y hortalizas con una participación del 34%. No obstante, si se segmenta el desperdicio según los eslabones de la cadena de producción, el 19,8 % de las pérdidas y desperdicio de alimentos ocurren en la fase de poscosecha y almacenamiento (Departamento Nacional de Planeación, 2016).

Los métodos convencionales para la gestión de enfermedades posteriores a la cosecha en fresas están basados principalmente en la aplicación de fungicidas sintéticos, algunos de ellos; benzimidazoles, boscalid, fludioxinil y fenhexamid (Feliziani & Romanazzi, 2016). La principal preocupación frente a esta técnica es el desarrollo de resistencia por parte de los hongos a los agentes fungicidas, que ha sido reportada por varios autores (Myresiotis et al., 2007), (Shao et al., 2021), (Hao et al., 2019), además de la constante preocupación del consumidor ante el riesgo potencial de contaminación de los alimentos, lo cual puede generar efectos adversos en organismos no objetivo, incluidos los seres humanos.

Mediante las dificultades ya mencionadas se sustenta la necesidad de indagar en la búsqueda de alternativas de conservación seguras y sostenibles, es por ello que el presente trabajo de investigación aborda la elaboración de un recubrimiento comestible a base de exopolisacárido producidos por *Weissella Confusa* con adición de bacterias ácido-lácticas y la posterior evaluación sobre su capacidad para mantener la calidad durante el tiempo de almacenamiento en fresas.

5 JUSTIFICACIÓN

La fresa es una baya popularmente consumida a nivel mundial, característica que se atribuye a su amplia variedad de cualidades, no solo sensoriales sino también nutricionales (Moghadas et al., 2024). Las fresas son una matriz donde conviven compuestos responsables de un agradable sabor, aroma y aspecto apetitoso, además de nutrientes esenciales como vitaminas, antocianinas, compuestos fenólicos y flavonoides que le otorgan propiedades antioxidantes, antidiabéticas, antiobesidad, cardioprotectoras, anticancerígenas y neuroprotectoras (Jain et al., 2025).

Es clara la importante participación de la fresa dentro de los índices de consumo de frutas frescas, situación que se ve reflejada en las cifras de producción mundial. Para el año 2021, con una tendencia creciente en los últimos 10 años, la producción de fresa, en el mundo,

ascendió a los 9 millones de toneladas, siendo Asia el mayor productor, seguido de la región de las Américas, Europa, África y Oceanía (FAOSTAT, 2024), como se muestra en el siguiente esquema.

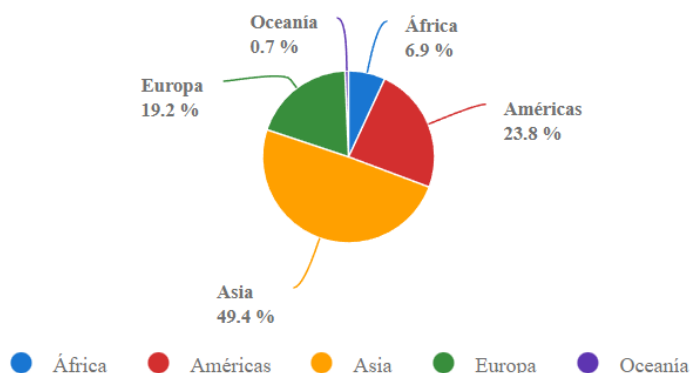


Figura 1. FAOSTAT (2023). Proporción de producción de fresa por región. Recuperado de FAOSTAT.

Colombia es el tercer país latinoamericano con mayor área sembrada en cultivos frutales, entre los que se destacan el mango y la fresa (Ministerio de Agricultura, 2021). En el país se produce fresa todo el año y para el 2022 se registró una producción total superior a las 113000 toneladas (FAOSTAT, 2024), de allí la importancia económica de la misma a nivel nacional.

Actualmente la tendencia de consumo se dirige hacia los alimentos mínimamente procesados, frescos y seguros, cuyo proceso de transformación impacte mínimamente al medio ambiente. Sin embargo, en lo que respecta a la fresa, responder a las demandas del consumidor resulta altamente complejo debido a su marcada tendencia a descomponerse rápidamente y a la necesidad de sustancias sintéticas para aumentar su tiempo de vida en almacenamiento, es por esto que la industria de procesamiento de frutas en general migra hacia métodos de conservación eficientes, seguros y sostenibles entre los que se encuentran los RC. El uso de RC es una alternativa llamativa a razón de sus múltiples cualidades, tales como su composición, derivada de la mezcla de polímeros naturales como lípidos, polisacáridos y proteínas, su bajo impacto al medio ambiente dadas sus propiedades biodegradables y que pueden ingerirse con el alimento debido a su total ausencia de toxicidad (Vázquez-Briones & Guerrero-Beltrán, 2013) (Moghadas et al., 2024).

En la actualidad el desarrollo de soluciones formadoras para recubrimientos comestibles se hace a partir de la mezcla de polímeros naturales tales como carbohidratos, proteínas y lípidos, esto con el fin de obtener un producto que reúna las propiedades mecánicas y de permeabilidad selectiva de cada compuesto (Momin et al., 2021). Para el caso de los carbohidratos la gama de posibles compuestos usados abarca aquellos provenientes de fuentes vegetales y animales como el quitosano, la pectina, el almidón (modificado) y el alginato-carragenano, entre otros (Jiang et al., 2022). Los exopolisacáridos son una alternativa emergente que viene a complementar el conjunto de opciones de polisacáridos utilizables en recubrimientos comestibles, algunas de sus propiedades fueron expuestas por Zikmanis et al, (2021), quienes destacan beneficios como la posibilidad de modificar

genéticamente la síntesis de EPS microbiano con el objetivo de proporcionar productos metabólicos con las propiedades y la funcionalidad deseadas, también, la facilidad de producción a nivel industrial, ya que el desarrollo de los microorganismos no está condicionado por factores climáticos, ni condiciones regionales, adicionalmente, la alta tasa de crecimiento característica de los microorganismos, y finalmente, la practicidad en la recuperación del producto final dado que los EPS son secretados al ambiente externo.

La adición de células de bacterias vivas a los RC, es una técnica realizada para otorgar funcionalidad a estos en términos de la actividad inhibitoria de patógenos, debido a la capacidad que tiene algunos organismos bacterianos para controlar microorganismos dañinos y agentes de descomposición. Convirtiéndose en una alternativa al uso de fungicidas sintéticos, de carácter ecológico, que garantiza el aumento de la vida útil, la mejora de la calidad y la disminución de la tasa de pérdida de frutas y hortalizas (Rasouli et al., 2021) (De Simone et al., 2024).

6 OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto de un recubrimiento comestible con actividad antifúngica compuesto de exopolisacárido obtenido a partir de *Weissella confusa*, con inclusión de bacterias ácido-lácticas en las propiedades fisicoquímicas de fresas (*Fragaria x ananassa*).

Específicos

- Comparar las bacterias ácido-lácticas que presenten mayor potencial inhibitorio contra hongos fitopatógenos causantes del deterioro en la postcosecha de fresas.
- Realizar la formulación del recubrimiento comestible compuesto de exopolisacárido obtenido de *Weissella confusa* con la adición de bacterias ácido-lácticas.
- Optimizar la formulación del recubrimiento y evaluar sus propiedades fisicoquímicas en las fresas.

7 HIPÓTESIS

7.1 Hipótesis alterna

Los recubrimientos comestibles elaborados con exopolisacáridos producidos por *Weissella Confusa* y con adición de bacterias ácido-lácticas ejercen un efecto de barrera que protege a la fresa (*Fragaria x ananassa*) contra ataques de origen fúngico y mantienen las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la baya durante el almacenamiento.

7.2 Hipótesis nula

Los recubrimientos comestibles elaborados con exopolisacáridos producidos por *Weissella Confusa* y con adición de bacterias ácido-lácticas no ejercen un efecto de barrera que protege

a la fresa (*Fragaria x ananassa*) contra ataques de origen fúngico y mantienen las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la baya en la postcosecha.

8 METODOLOGÍA

8.1 Ubicación

Los ensayos experimentales fueron realizados en el laboratorio de microbiología y biotecnología aplicada (MIBIA) de la facultad de ciencias naturales y exactas de la Sede Cali, y en los laboratorios de análisis de alimentos de la escuela de ingeniería de alimentos de la Sede Tuluá.

8.2 Selección y evaluación antifúngica de bacterias ácido-lácticas (BAL)

8.2.1 Obtención de cepas patógenas

8.2.1.1 Origen de la fruta

Las fresas usadas para el aislamiento de hongos patógenos fueron proveídas por un cultivo ubicado en Barragán, centro poblado del municipio de Tuluá Valle del Cauca Colombia. Fueron cosechadas en madurez comercial y trasladadas al laboratorio en embalaje de cartón con separación por unidad de fruta para salvaguardar la integridad física de cada fresa.

8.2.1.2 Aislamiento e identificación de hongos

Las cepas fúngicas *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* fueron aisladas y purificadas a partir de frutos de fresa (*Fragaria × ananassa*) en estado de descomposición, que presentaban síntomas característicos asociados a la patogenicidad de cada uno de estos hongos.

8.2.1.2.1 Almacenamiento en cámara húmeda

Para inducir el desarrollo de las estructuras fúngicas, se utilizaron fresas recién cosechadas, las cuales fueron almacenadas en condiciones controladas mediante la técnica de cámara húmeda (Agrios, 2002). Esta consistió en la colocación de los frutos dentro de recipientes plásticos perforados que permitieran el intercambio gaseoso, acompañados de un trozo de algodón humedecido (French & Hebert, 1982), con el fin de mantener una atmósfera con alta humedad relativa que favoreciera el crecimiento micelial y la esporulación (Santamaria & Diez, 2005).

8.2.1.2.2 Siembra directa

Las áreas del fruto que presentaban micelio o tejido visiblemente afectado por infecciones fúngicas fueron seleccionadas asépticamente utilizando un asa estéril y transferidas directamente a cajas Petri que contenían medio Agar Papa Dextrosa (PDA) (preparado según las indicaciones del fabricante) suplementado con 3% de salvado de trigo. Las placas fueron incubadas a 25 °C durante 7 días para favorecer el crecimiento de los hongos. Este

procedimiento se realizó con base en la metodología descrita por Hu et al. (2011), con algunas modificaciones adaptadas a las condiciones del presente estudio.

8.2.1.2.3 Purificación

Se realizaron resiembras de cada colonia desarrollada con características macroscópicas diferentes, para ello se realizaron cortes de micelio del borde de la colonia en crecimiento con la ayuda de un asa estéril, la porción de hongo con agar retirado fue dispuesto sobre otra caja Petri con Agar Papa dextrosa (PDA) solidificado enriquecido con 3% de salvado de trigo, hasta obtener cepas puras (incubación 25 °C durante 5 a 7 días) (Hu et al., 2011).

8.2.1.2.4 Caracterización e identificación preliminar

La caracterización se realizó con base a las particularidades del micelio, color de la colonia, forma de los conidióforos, hifas y conidios. Para observar la estructura en el microscopio se siguió la metodología descrita por Plascencia et al. (2012) con algunas adaptaciones; se tomaron muestras en varias zonas de la caja Petri con cinta adhesiva previamente esterilizada y se dispuso sobre un portaobjeto que contenía azul de lactofenol esparcido. Finalmente se observó en el microscopio en los objetivos 4x, 10x, 20x y 100x. La identificación preliminar se realizó, según las especificaciones dadas por Larone (2002), Barnett and Hunter (1998) y literatura científica publicada anteriormente.

8.2.1.3 Suspensión de esporas

Una porción del micelio previamente purificado de cada cepa fúngica fue transferida a tubos inclinados que contenían medio PDA suplementado con 3% de salvado de trigo, y posteriormente incubada a 25 °C durante 7 días. Finalizado este periodo, se prepararon diluciones seriadas en agua peptonada al 0,3%, hasta obtener una suspensión con una concentración final de 1×10^5 esporas/mL ajustada mediante cámara de Neubauer.

8.2.2 Cepas de bacterias antagónicas

Cinco cepas de bacterias ácido-lácticas, previamente aisladas y conservadas por criopreservación por el Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología Aplicada (MIBIA) de la Universidad del Valle (Cali, Colombia), fueron reactivadas en caldo Man, Rogosa and Sharpe (MRS), preparado conforme a las especificaciones del fabricante (de Man et al., 1960).

De forma resumida, se inoculó 1 mL de criopreservado en 9 mL de caldo MRS y se incubó a 35 °C durante 24 h. La pureza de los cultivos se verificó mediante tinción de Gram. Posteriormente, se realizaron resiembras en cajas Petri con medio MRS (con adición de azul de anilina al 1% en proporción de 100 µL por caja) sólido a una concentración de 10^8 UFC/mL, para su posterior utilización en las pruebas experimentales (Giraud et al., 1993), (Ramírez, 2005).

Tabla 3. Cepas de bacterias ácido-lácticas evaluadas.

Cepas	Fuente
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6	Almidón agrio de yuca ^a
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Intestino de camarón ^b
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	ATCC 19257
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	ATCC 19257
<i>Weissella confusa</i>	Aislado de jugo de caña ^b

^aIdentificado por Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas (CPQBA), Universidad Estatal de Campinas, Brasil

^bColección de cepas del laboratorio MIBIA, Universidad del Valle, Colombia

8.2.3 Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de las bacterias lácticas

Todas las cepas bacterianas fueron analizadas para evaluar su acción antifúngica. Se desarrolló el método reportado por Balouiri et al., (2016) y Parveen et al., (2014) con algunas modificaciones para los antagonismos con los hongos *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger*. Se inocularon 100 µL de la suspensión obtenida en el apartado 8.2.1.3 en agar PDA y se sobrepuso en el centro de la caja un disco de 8 mm de diámetro de agar MRS con la bacteria (numeral 8.2.2); cada prueba fue realizada por triplicado. Las cajas fueron incubadas por 2, 3 y 7 días a 30 °C, después de este tiempo, la formación de zonas claras alrededor del disco de agar con bacteria fueron medidas en milímetros de diámetro. La actividad antifúngica fue evaluada entre bacterias comparando el tamaño de su diámetro de inhibición.

Para la evaluación antifúngica *in vitro* de las cepas bacterianas contra *Botrytis cinerea*, se usó la metodología reportada por Chen et al. (2020) con algunas modificaciones. Se dispuso una alícuota de 1 mL de caldo MRS fermentado a una concentración de 10⁸ UFC/mL de cada cepa bacteriana en una caja Petri de 9 cm de diámetro. Las cajas Petri de control se prepararon con 1 mL de MRS estéril. Y luego se vertieron 18 mL de PDA estéril fundido a 45 °C. Después de la solidificación del agar, un tapón de agar de 8 mm del micelio de crecimiento activo de *Botrytis cinerea* se colocó centralmente en la placa de agar de prueba. El diámetro de la colonia se midió después de la incubación a 25 °C los días 1, 3 y 7. Todos los tratamientos se replicaron dos veces.

Como prueba complementaria al ensayo *in vitro*, se realizó la identificación de la producción de biosurfactantes por parte de las cepas bacterianas evaluadas, con el fin de reforzar y sustentar los resultados obtenidos en la actividad antifúngica observada. Esta prueba permitió explorar un posible mecanismo de acción implicado en la inhibición del crecimiento fúngico.

8.2.3.1 Identificación de la producción de biosurfactantes de las cepas bacterianas

La identificación de producción de biosurfactantes por parte de las bacterias lácticas fue realizada mediante la técnica de dispersión en aceite. Las cinco cepas de bacterias fueron cultivadas en caldo MRS e incubadas a 35 °C por 24 h. Para separar el sobrenadante, se

centrifugaron cada una de las cepas a 3000 rpm por 5 min. Estas pruebas están basadas en la metodología descrita por (Shi & Sun, 2017) y Lara-Severino et al., (2017), con algunas modificaciones como se describe a continuación.

8.2.3.1.1 Prueba de dispersión de aceite

El método se desarrolló adicionando 30 mL de una dilución de agua destilada con azul de lactofenol al 1% en una caja petri, posteriormente se agregaron 50 µL de aceite vegetal en el centro; para seguidamente disponer dentro de la gota de aceite 10 µL del sobrenadante del cultivo bacteriano, lo que produjo la formación de una zona clara alrededor de la gota de aceite. El cambio de la tensión superficial producido por el biosurfactante permitirá un desplazamiento del aceite, según el procedimiento realizado por Lara-Severino et al., (2017), estudio en el cual el diámetro de la zona clara fue medido y se relacionó dicha medida con la capacidad de la bacteria para producir biosurfactantes. Para el presente estudio se calculó el área de la zona clara por triplicado.

8.2.4 Ensayo *in vivo* de actividad antifúngica de bacterias seleccionadas

El presente ensayo se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Fernández Catalán (2016) y Shi y Sun (2017), con algunas modificaciones. Se seleccionaron frutos de fresa sanos, libres de daños visibles, sin signos de infección por mohos y con aparente uniformidad en tamaño y grado de madurez. Posteriormente, los frutos fueron desinfectados mediante inmersiones sucesivas en hipoclorito de sodio al 2% (v/v) durante 2 minutos y en etanol al 70% (v/v) durante 30 segundos, seguidas de tres enjuagues con agua estéril y secado a temperatura ambiente.

Se realizó una herida en la zona ecuatorial del fruto (2 mm de ancho por 3 mm de profundidad) utilizando un asa estéril. En dicha herida se inocularon 40 µL de una suspensión bacteriana ajustada a una concentración de 1×10^8 UFC/mL establecida mediante escala de McFarland y comprobada por dilución seriada y conteo en placa. Los frutos inoculados se dejaron secar durante 2 horas en una cabina de flujo laminar. Posteriormente, se aplicaron 15 µL de una suspensión fúngica, ajustada a 1×10^5 esporas/mL mediante cámara de Neubauer, correspondiente a la cepa fúngica en evaluación.

Las fresas tratadas fueron incubadas durante 7 días a 30 °C y 75% de humedad relativa en una cámara ambiental. Se evaluó la actividad antifúngica de las cepas bacterianas que previamente mostraron mayor efecto antimicótico *in vitro*. El porcentaje de área infectada se determinó utilizando el software ImageJ, aplicando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Área infectada} = \frac{N^{\circ} \text{ píxeles área infectada}}{N^{\circ} \text{ píxeles área total}} \times 100 \text{ Ec. 1}$$

8.2.5 Determinación de ácidos orgánicos

El análisis de ácidos orgánicos se realizó con el objetivo de explorar uno de los posibles mecanismos involucrados en la actividad antifúngica observada en las cepas de bacterias ácido-lácticas con mayor efecto antagonista, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Se cuantificó la producción de ácidos orgánicos (láctico, acético, tartárico y malónico) a la cepa seleccionada y *Weissella confusa*. Las cepas fueron inoculadas en tubos con 9 mL de caldo MRS e incubadas a 24 h a 37 °C, posteriormente se removieron las células por centrifugación (3000 rpm, 5 min), y el sobrenadante libre de células (CFS) fue filtrado usando una membrana de 0,45 µm. Los ácidos orgánicos presentes en el CFS se analizaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) inyectando 50 µL de muestra en un equipo Agilent 1100 con detector UV/VIS bajo las siguientes condiciones: fase móvil solución 0,1% de H₃PO₄; velocidad de flujo 0,7 mL/min; y una columna Supelco Gel TM.

8.2.6 Antagonismo entre las BAL

Con el fin de evaluar un posible efecto de inhibición conjunta entre las BAL con mayor actividad antifúngica, se determinó la inhibición entre las dos cepas con mejores resultados en los antagonismos *in vitro*, por medio del método de difusión en agar. Ambas cepas fueron sembradas e incubadas en agar MRS por 48 h y en medio líquido Azúcar – Leche de soya – Suero de leche (ALS) por 24 h. Se diluyó cada cepa del medio líquido en agua peptonada hasta una dilución de 10⁻³ y se sembraron 100 µL en la caja de agar MRS por medio de perlas estériles, en paralelo, se cortaron discos de agar (8 mm de diámetro) de la cepa opuesta y se superpuso sobre el medio, se midió la inhibición entre cepas por la aparición de zonas claras alrededor del disco después de 24 h.

8.3 Formulación del recubrimiento comestible

8.3.1 Formulación de referencia

Para la preparación del RC se utilizó una mezcla de hidrocoloides, siendo el exopolisacárido el componente principal. El glicerol se adicionó como agente plastificante, como gelificante y estabilizador se usó alginato de sodio; también se adicionó Tween 80 como agente emulsificante y ácido oleico como tensoactivo, para mejorar la adherencia a la superficie de la fruta. La mayor proporción de la mezcla fue agua y dicho porcentaje se mantuvo constante. Las cepas seleccionadas adicionadas al recubrimiento fueron obtenidas según el numeral 8.4.2.

Esta matriz, sus proporciones y límites en términos de cantidad de EPS, alginato de sodio y glicerol, fueron determinados en ensayos preliminares llevados a cabo por el grupo de investigación MIBIA y evaluados para su uso en fresa mediante revisión bibliográfica.

A continuación, en la Tabla 4 se relacionan los compuestos y sus proporciones.

Tabla 4. Compuestos y proporciones de referencia para la producción del recubrimiento.

Componente	Cantidad en porcentaje
Agua	94,5
EPS	3*

Componente	Cantidad en porcentaje
Alginato de sodio	
Glicerol	
Ácido oleico	1
Suspensión bacteriana	1
Tween 80	0,5

*EPS, alginato de sodio y glicerol sumados, no deben representar más del 3% del total de la formulación.

8.3.2 Diseño de mezclas y evaluación de los componentes

Con el fin de obtener la mejor formulación en la mezcla de tres componentes (Alginato, Glicerol y EPS), se realizó un diseño de mezclas de vértices extremos de grado uno, con puntos axiales y tres repeticiones en el punto central; los límites para cada compuesto se determinaron mediante ensayos preliminares evaluando la pérdida de peso, y la viabilidad de las BAL dentro del recubrimiento, como se menciona anteriormente.

8.3.2.1 Pruebas de selección de la formulación adecuada

Basados en el método de elaboración (Numeral 8.4.3) y las formulaciones arrojadas en el diseño (Numeral 8.3.2), se realizaron pruebas fisicoquímicas sobre las fresas recubiertas con el fin de evaluar el efecto de cada mezcla sobre el alimento. Para cada uno de los recubrimientos se realizaron tres réplicas y los datos de cada prueba se recopilarán al séptimo día luego de conservarse a 30 °C y una humedad relativa de 75 %.

8.3.2.1.1 Pérdida de peso

La pérdida de peso se determinó como la disminución porcentual de la masa con respecto al valor inicial de cada muestra; se utilizó una balanza analítica BAS 31 Plus BOECO Germany con una precisión de ± 5 mg. La pérdida de peso (%) para las diferentes fresas se calculó según la Ecuación 2.

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{w_i - w_f}{w_i} * 100 \text{ Ec. 2}$$

Donde:

w_i (g): peso de la fresa antes del almacenamiento.

w_f (g): peso de la fresa después del almacenamiento.

8.3.2.1.2 Firmeza

La firmeza de las fresas fue determinada usando un texturómetro TX-700 (Lhamy Rheology, Francia). Se usó una celda de 50 N y la máxima fuerza necesaria para penetrar el fruto fue determinada usando un émbolo metálico sin punta de 3 mm de diámetro y configurando una

distancia de penetración de 6 mm, una fuerza de penetración de 4 N y una velocidad de 1 mm/s. La firmeza fue reportada como el pico máximo de fuerza expresado en Newton (N), realizando tres repeticiones por tratamiento.

8.3.2.1.3 Acidez titulable (AT) y pH

Las muestras de fresa fueron maceradas con una licuadora de inmersión marca Imusa durante 2 minutos, para posteriormente recolectar el jugo para las mediciones. La acidez titulable del jugo fue medida de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana 440 de 2015 (ICONTEC, 2022), por titulación con NaOH 0,1 N con fenolftaleína como indicador; los resultados fueron expresados como g de ácido cítrico por 100 g de muestra. El pH fue medido de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana 440 de 2015 (ICONTEC, 2022), usando un pH metro Hi 208 Hanna (Hanna Instruments S.A.S.), para ambas pruebas se realizaron tres repeticiones por tratamiento.

8.3.2.1.4 Color

El color de la piel del fruto fue medido con un colorímetro NH310 3nh. El colorímetro fue calibrado usando el estándar blanco. Cada medida fue tomada en dos locaciones en ecuador del fruto de cada fresa; las coordenadas dentro del espacio CIELab: L*, a*, y b* fueron registradas, y el efecto de los tratamientos en el color se determinó por los valores de ángulo de tono $\arctan(b^*/a^*)$ y la diferencia cromática (ΔE), que se calculó mediante la Ecuación 5.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \text{ Ec. 3}$$

Donde;

ΔL^* : Diferencia entre la luminosidad inicial y final

Δa^* : Diferencia entre la coordenada rojo-verde inicial y final

Δb^* : Diferencia entre la coordenada amarillo-azul inicial y final

8.3.3 Optimización

La optimización de la formulación se llevó a cabo posteriormente al análisis del diseño de mezclas, con el objetivo de estimar las proporciones óptimas de los componentes de la mezcla que permitieran maximizar las respuestas deseadas y minimizar las no deseadas. Para este propósito, se utilizó el software Minitab 19 Statistical Software, mediante el cual se procesaron los datos experimentales obtenidos en el diseño. Solo se incluyeron en el modelo de optimización aquellas variables de respuesta que presentaron diferencias significativas con un nivel de significancia de $p < 0,05$, de acuerdo con el análisis de varianza (ANOVA).

8.4 Preparación y aplicación de la solución formadora de recubrimiento

8.4.1 Producción de exopolisacárido (EPS) de *Weissella confusa*

La producción de exopolisacáridos (EPS) se llevó a cabo en medio ALS (compuesto por azúcar, leche de soya y suero de leche), siguiendo la metodología descrita por Gonzáles (2017). Cepas viables y puras de *Weissella confusa* fueron inoculadas en medio líquido ALS e incubadas durante 24 h a 37 °C. Posteriormente, el cultivo fermentado fue transferido a medio sólido ALSG (ALS suplementado con gelatina) e incubado durante 36 h a temperatura ambiente. Finalizado este periodo, se procedió con la recolección del EPS, el cual fue secado por convección natural a 40 °C durante 12 h. El material seco fue sometido a un proceso de reducción de tamaño en un molino analítico y posteriormente tamizado utilizando el tamiz número 100 (según la norma ASTM E11), con el fin de obtener un tamaño de partícula $\leq 150 \mu\text{m}$. El EPS en polvo se almacenó bajo condiciones controladas (25 °C, 75% de humedad relativa) hasta su utilización en los ensayos correspondientes.

8.4.2 Obtención de suspensión bacteriana de la cepa seleccionada

Las cepas seleccionadas, elegidas por su poder antifúngico, se inocularon en tubos de 9 mL de medio líquido MRS por 24 h, tiempo de su máxima producción de biomasa según Florêncio et al., (2000). Los tubos se centrifugaron a 3000 rpm por 5 minutos. Posteriormente, el sobrenadante se descartó y el sedimento fue diluido en agua estéril para obtener una suspensión de 1×10^8 UFC/ml estandarizada mediante escala de McFarland.

8.4.3 Susceptibilidad de *Lactiplantibacillus plantarum* A6 contra el EPS de *Weissella confusa*

Con el fin de determinar un efecto antagónico del EPS producido por la cepa *Weissella confusa* contra la cepa *Lactiplantibacillus plantarum* A6, se realizó la prueba de inhibición por medio del método de difusión del disco, mediante el cual se ajustó la metodología del apartado 8.2.6, sobreponiendo discos de papel filtro impregnados con una solución de exopolisacárido en agua estéril (10 % w/v), determinando la aparición de zonas claras de inhibición después de 24 h en medio sólido MRS.

8.4.4 Proceso de obtención del recubrimiento

Los componentes y utensilios utilizados fueron esterilizados en autoclave por 15 minutos a 121 °C, a excepción de aquellos que no resistían dichas condiciones, los cuales fueron sometidos a luz ultravioleta (UV) por 1 hora. La preparación de la solución se realizó a temperatura ambiente dentro de una cabina de flujo laminar con el fin de evitar posibles agentes de contaminación.

Los pasos para el desarrollo de la solución formadora del recubrimiento se detallan a continuación.

- I. Se preparó una mezcla de EPS, alginato, glicerol y agua (66 % del total), agitándola a 3500 rpm por 4 minutos con un mixer MIX IMUSA 300 W.

- II. El producto obtenido en el paso anterior se mezcló por 2 minutos con Tween 80 y ácido oleico, adicionando el agua restante y dejando reposar durante 20 minutos hasta tener la temperatura adecuada para la posterior adición de la bacteria.
- III. Se adicionó la suspensión bacteriana de la cepa seleccionada.
- IV. Una vez adicionada la bacteria, se realizó una agitación final durante 2 minutos con el fin de darle homogeneidad a la solución y distribuir las bacterias por la matriz. Las mezclas fueron selladas y almacenadas durante 24 horas a 4 °C antes de su uso.

8.4.5 Acondicionamiento de la fruta y aplicación del recubrimiento

Se emplearon fresas sanas, libres de daños, sin infección por mohos y en uniformidad aparente de tamaño y grado de madurez; estas fueron desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 2% (v/v) durante 2 min, enjuagadas con agua y secadas a temperatura ambiente. El estado de maduración se seleccionó teniendo en cuenta un grado de madurez 5-6 según lo reportado en la Norma Técnica Colombiana NTC 4103 de 1997. Finalizado el proceso de adecuación se procedió a recubrir las fresas. Cada muestra se sumergirá por 10 segundos en la solución formadora y se dejó secar a temperatura ambiente en cabina de flujo laminar durante 1 h.

8.5 Pruebas complementarias para validar las características inhibitorias del recubrimiento

8.5.1 Viabilidad de *Lactiplantibacillus plantarum* A6 en el recubrimiento

La solución formadora de recubrimiento se guardó en viales estériles y se almacenó a 35 °C durante 28 días. La viabilidad se midió realizando diluciones en agua peptonada y sembrando las diluciones en agar MRS por el método de conteo en placa. La prueba se realizó por triplicado cada 7 días y se cuantificó como unidades formadoras de colonia por mL de solución (UFC/mL).

8.5.2 Evaluación *in vivo* del recubrimiento contra la infección por hongos

Para evaluar la actividad antifúngica del recubrimiento comestible con la inclusión de las bacterias lácticas, se realizó una prueba reto mediante la infección de fresas sanas, evaluando el efecto antagónico contra los fitopatógenos aislados *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*. y *Rhizopus stolonifer*, siguiendo la metodología propuesta por Barreto et al. (2016) con algunas modificaciones. Los hongos fueron sembrados en tubos inclinados con agar PDA durante 5 días y sus esporas recolectadas en una solución ajustada en cámara de Neubauer a una concentración de 1×10^5 esporas/mL. Las fresas fueron desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% (v/v) y secadas a temperatura ambiente; después de secas, se infectaron mediante inmersión en las soluciones de esporas de los hongos, se dejaron secar durante 1 h y fueron recubiertas mediante la metodología descrita en el apartado 8.4.4. Como control se usaron fresas infectadas sin recubrir. Las fresas infectadas se almacenaron a 25 °C por 7 días. Pasado el tiempo de incubación, se realizó el recuento en placa en agar PDA de las fresas infectadas,

y los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por mL de solución (UFC/mL). Se usaron cinco réplicas por tratamiento y el recuento se realizó por triplicado.

8.6 Análisis estadístico

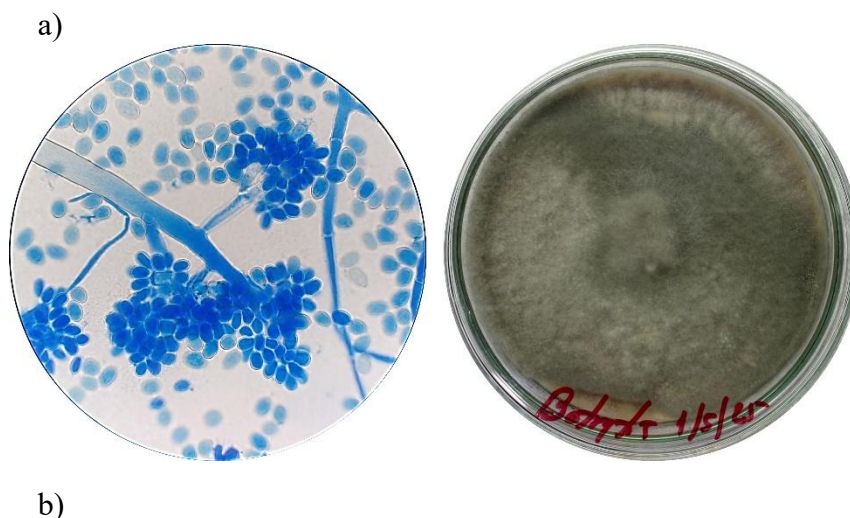
Los datos se reportaron como la media $\pm$ desviación estándar. Las diferencias significativas entre los valores de las medias fueron determinadas mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$), realizando un análisis de varianza de una sola vía (ANOVA). Los análisis estadísticos se ejecutaron usando el programa Minitab 2018®.

9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Selección y evaluación antifúngica de bacterias ácido-lácticas (BAL)

9.1.1 Aislamiento y caracterización de hongos fitopatógenos

La caracterización de estos hongos fitopatógenos se guía por los diagramas elaborados por Barnett & Hunter, (1998), los cuales permitieron tener una idea de cómo debería lucir cada hongo microscópicamente. Para la forma macroscópica, se basaron en los resultados obtenidos por Feliziani & Romanazzi, (2016) en su estudio sobre el manejo de enfermedades en fresas. Se encontraron tres hongos diferentes que son principalmente responsables del deterioro de las fresas: *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer* (Tournas & Katsoudas, 2005), los cuales fueron identificados según la forma de sus hifas, conidióforos, esporangios, etc. La Figura 2 muestra los resultados microscópicos y macroscópicos de *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*, respectivamente. Estos hongos han sido seleccionados porque son los más reconocidos por infectar fresas en la etapa de poscosecha (Feliziani & Romanazzi, 2016).



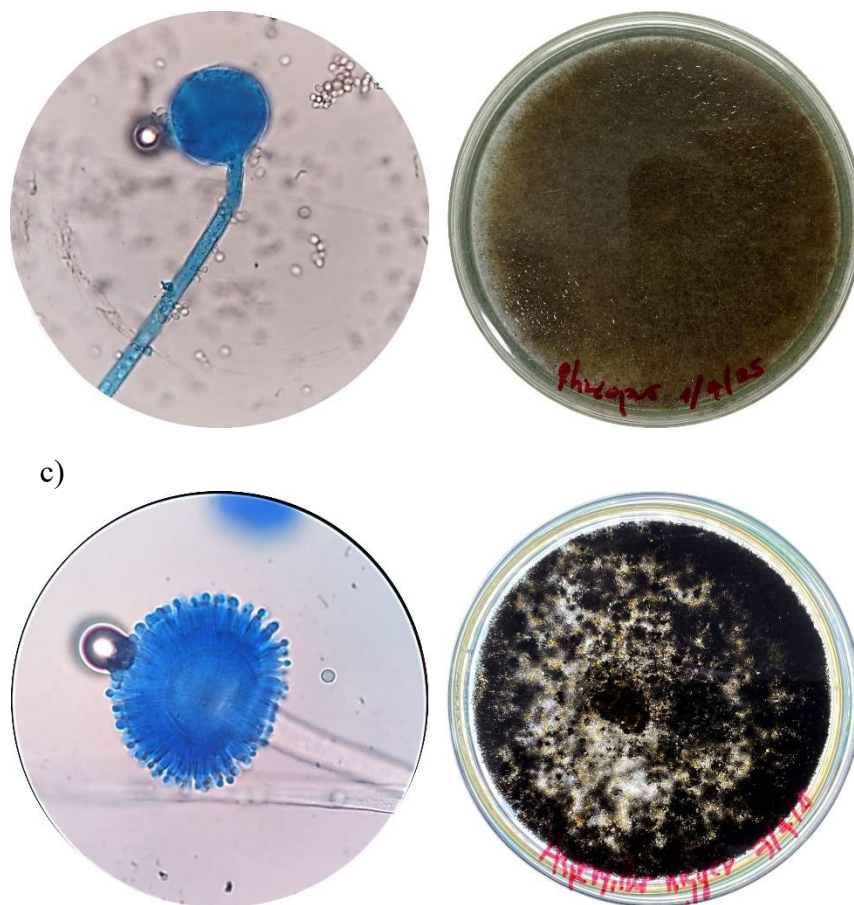


Figura 2. Imágenes macroscópicas y microscópicas de (a) *B. cinerea*, (b) *R. stolonifer* y (c) *A. niger*.

Las características que permitieron identificar la presencia de *B. cinerea* a nivel macroscópico fueron colonias lanosas, inicialmente blancas, con transición a gris y finalmente a marrón, con un volumen prominente en la fase inicial de crecimiento, que disminuye con el paso del tiempo. A nivel microscópico, inicialmente se observan hifas septadas y hialinas, posteriormente se observan conidióforos septados, ramificados en la parte superior, con una apariencia similar a un pequeño arbusto, característica de este género. Finalmente, se identificaron conidios de forma redonda a ovalada y con apariencia globosa. Estos resultados coinciden con los reportados por Song et al., (2017), los cuales mostraron una formación macroscópica y microscópica similar a la obtenida en las pruebas.

Respecto al hongo *Aspergillus niger* se confirmó a nivel macroscópico mediante la identificación de algunas características, como las colonias inicialmente verdes, con una textura pastosa, que rápidamente se vuelven negras con un borde amarillo verdoso. A nivel microscópico, inicialmente se observan hifas hialinas, la parte superior de los conidióforos (llamada cabeza) es radial y consta de una vesícula globosa central cubierta por métulas que soportan las fiálides (especies biseriadas), y estas a su vez soportan los conidios (pequeñas estructuras globosas). La base del conidióforo es lisa y hialina, también se observó una abundante esporulación, la spora es visible a simple vista y, con un movimiento repentino, estas se desplazan fácilmente, lo que puede hacer que las fresas se infecten de manera más

rápida y extensa. Las características observadas coinciden con los estudios reportados por Nadumane et al., (2016), Romsdahl et al., (2018) y Razavizadeh et al., (2024), quienes publicaron resultados sobre *Aspergillus niger* que permitieron comparar las cepas obtenidas y corroborar su naturaleza.

Finalmente, *Rhizopus stolonifer* es un hongo fitopatógeno que causa la pudrición blanda en frutas y verduras, exacerbando las lesiones preexistentes y generando pérdidas económicas significativas en la producción agrícola (Khadiri et al., 2024). Las características que ayudaron a identificar la presencia de *Rhizopus stolonifer* fueron inicialmente colonias blancas con una textura similar al algodón de azúcar, que con el tiempo muestran puntos oscuros hasta que el micelio se vuelve marrón. La estructura muestra un crecimiento rápido y en tres días ocupa completamente la superficie del agar. A nivel microscópico, se pueden observar esporangióforos, rizoides, esporangios y esporas de esporangio; los esporangióforos son lisos, largos, no ramificados y de color hialino a marrón, los esporangios se encuentran en la parte superior del esporangióforo, son redondos y en algunos casos con una base aplanada, las esporas de esporangio son de forma redonda a ovalada y de color hialino a marrón. Estas descripciones coinciden con las reportadas por Bautista-Baños et al., (2014), Li et al., (2021) y Liu et al., (2024), quienes describieron que es un hongo que crece rápida y abundantemente, tiene hifas blancas, ramificadas y no septadas, esporangio esférico, inicialmente blanco y luego negro, las esporas del esporangio son de color marrón claro a oscuro, con paredes lisas y simples, sin septo.

9.1.2 Selección de BAL con actividad antifúngica

En los últimos años, varios estudios han analizado la acción antagonista de distintas cepas bacterianas contra los hongos fitopatógenos que afectan a las frutas en la postcosecha, lo que ha permitido considerar su utilización como una opción para el control de enfermedades fúngicas sin recurrir a métodos químicos (Ma et al., 2019). Numerosas investigaciones han señalado que entre los microorganismos antagonistas se encuentran las BAL, las cuales bloquean el crecimiento de los microorganismos de descomposición a través de diversos mecanismos (Siedler et al., 2019). Todas las cinco cepas de bacterias evaluadas fueron purificadas y caracterizadas previamente en el grupo de investigación de microbiología y biotecnología aplicada (MIBIA) en un trabajo previamente realizado por Álvarez & Manjarres, (2020) (Figura 3).

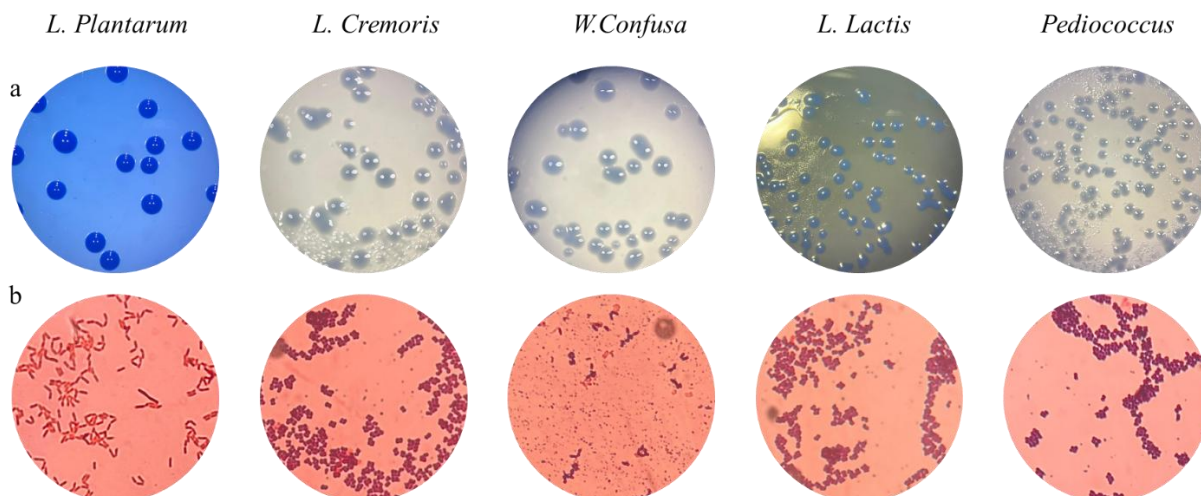


Figura 3. Características coloniales y microscópicas por tinción de gram de las bacterias ácido-lácticas evaluadas en este estudio.

9.1.2.1 Evaluación antifúngica *in vitro* de BAL contra hongos fitopatógenos

La actividad antifúngica registrada por las cinco cepas utilizadas demuestra el potencial inhibitorio de *L. plantarum* A6 contra los tres hongos fitopatógenos evaluados. De las cinco cepas utilizadas, tres mostraron actividad antifúngica contra *Botrytis cinerea*; sin embargo, solo *L. plantarum* A6 mostró una fuerte capacidad inhibitoria al presentar los mayores procesos de inhibición en la prueba *in vitro*. Además, *L. plantarum* A6 presentó una diferencia estadísticamente significativa en los halos de inhibición contra los tres hongos y respecto a las demás BAL. En general, el rango de halos de inhibición varió entre 0 y 50,03 mm (Tabla 5).

Tabla 5. Inhibición del micelio (áreas claras) por la actividad antifúngica de las bacterias ácido-lácticas contra *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger* y *Rhizopus stolonifer*.

Cepa bacteriana	Crecimiento micelial (mm)	Halo de inhibición (mm)		
		<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Aspergillus niger</i>
<i>Control</i>	81,62 ± 0,19 ^a	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> A6	20,59 ± 3,66 ^d	22,90 ± 1,20 ^a	50,03 ± 0,45 ^a	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	50,16 ± 9,46 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
<i>Pediococcus acidilactici</i>	61,6 ± 0,24 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>	46,32 ± 4,33 ^{bc}	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b
<i>Weissella confusa</i>	29,8 ± 2,12 ^{cd}	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b

Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey (P < 0,05). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media ± DE.

La actividad antifúngica demostrada por las bacterias ácido-lácticas, especialmente por las cepas *W. confusa* y *L. plantarum* A6, resulta de la interacción de diversos factores, como las condiciones de crecimiento, el tipo de hongo a inhibir, la matriz alimentaria en la que crecen,

la temperatura y el pH, entre otros. Este efecto inhibitorio puede deberse a la producción de un solo compuesto, varios compuestos o la sinergia entre diferentes sustancias que pueden potenciar o no su acción antagonista. Además, se ha informado que las BAL producen ácidos con actividad antifúngica, como el ácido 3-fenil-láctico, el ácido 4-hidroxifenil-láctico y el ácido 2-hidroxiopropanoico, cuya síntesis y concentración dependen del tipo de cepa (Axel et al., 2016).

En los últimos años, varios estudios han analizado la capacidad de ciertas cepas bacterianas para actuar como antagonistas contra los hongos fitopatógenos que afectan a las frutas durante la etapa de postcosecha. Estos hallazgos han destacado el potencial de utilizar estas bacterias como una alternativa a los métodos químicos para el control de enfermedades fúngicas (Ma et al., 2019). Muchos estudios han señalado que las bacterias ácido-lácticas (BAL) se encuentran entre los microorganismos con actividad antagonista, inhibiendo el crecimiento de otros microorganismos durante los procesos de descomposición a través de diversos mecanismos. Debido a su seguridad y propiedades antimicrobianas, las BAL son consideradas candidatos ideales para gestionar la descomposición fúngica en la etapa de postcosecha (Dhundale et al., 2018). Sin embargo, como se demuestra en el presente estudio, el potencial antifúngico depende de la cepa bacteriana y su capacidad para producir ácidos orgánicos (Ma et al., 2019).

Según los resultados obtenidos, la bacteria que mostró la mayor actividad inhibitoria fue *L. plantarum* A6, como se muestra en las Figuras 4, 5 y 6. Específicamente, para el hongo *Botrytis cinerea*, se observó un alto porcentaje de inhibición con respecto al control en el día 7 ($74,80 \% \pm 1,88$). Lo que indica que *Lactiplantibacillus plantarum* A6 podría inhibir el crecimiento de *Botrytis cinerea* durante al menos 7 días.

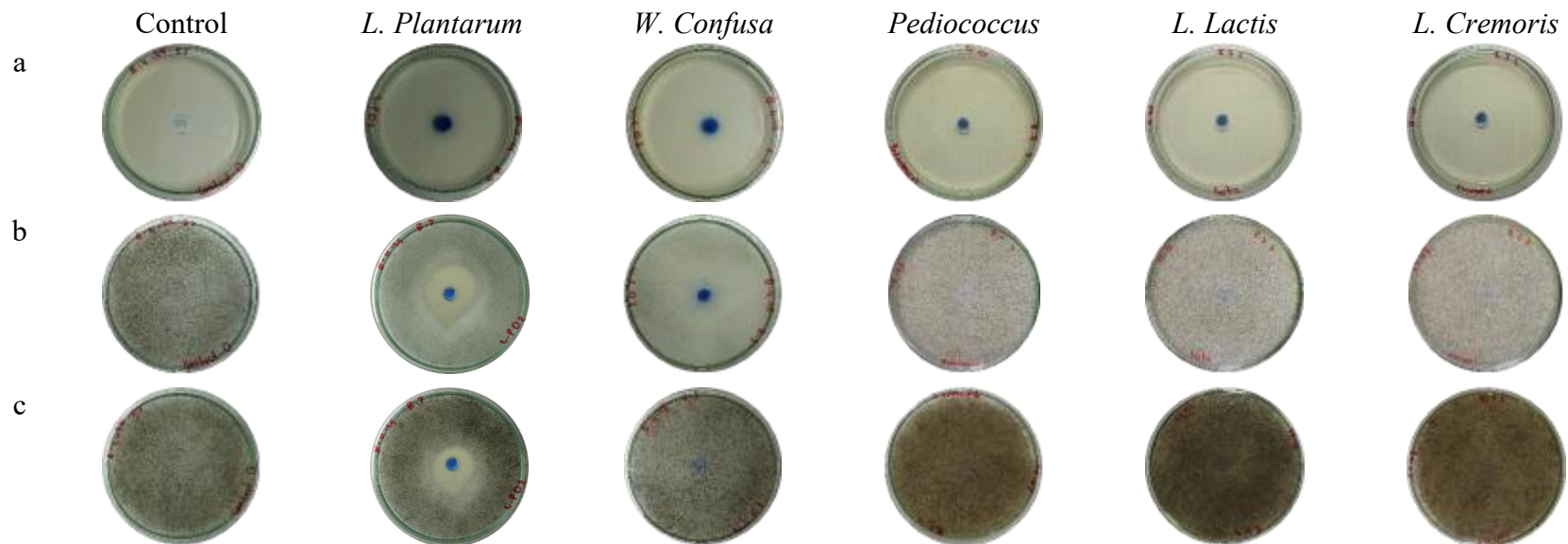
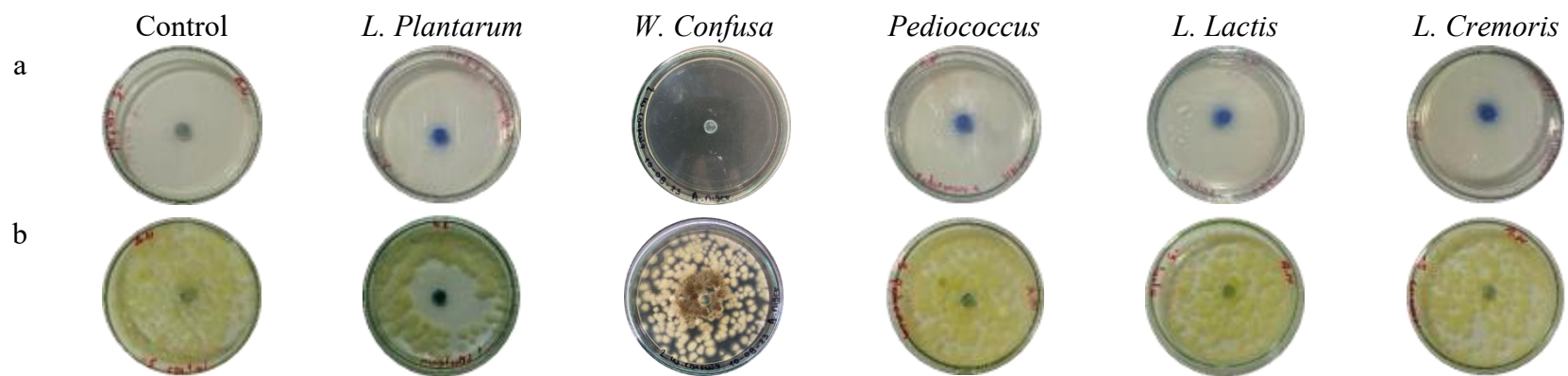


Figura 4. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra *Rhizopus stolonifer* (a- día 1, b – día 3, c – día 7).



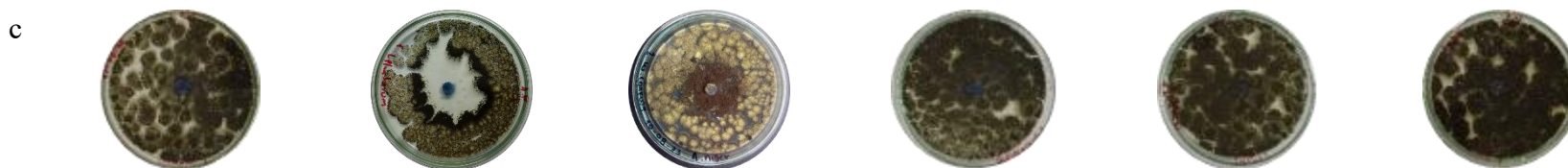


Figura 5. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra *Aspergillus niger* (a- día 1, b – día 3, c – día 7).

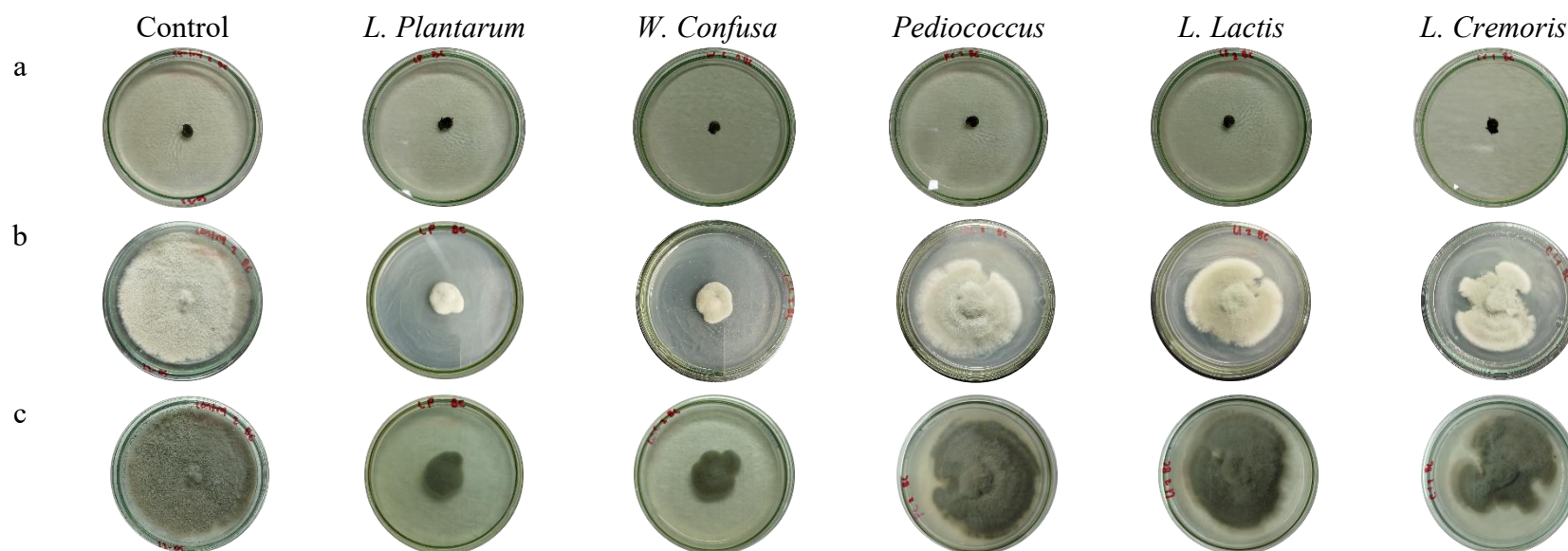


Figura 6. Seguimiento por 7 días de las cepas antifúngicas contra *Botrytis cinerea* (a- día 1, b – día 3, c – día 7).

Aunque se han realizado investigaciones limitadas específicamente sobre la utilidad de *L. plantarum* para controlar *B. cinerea* en fresas, algunos estudios han reportado resultados similares a los obtenidos en este trabajo. Por ejemplo, los resultados de Chen et al., (2020), donde la eficacia del biocontrol de *L. plantarum* CM-3 en condiciones *in vitro* mostró que las células vivas de la bacteria suprimieron significativamente el crecimiento de las hifas y la germinación de esporas de *B. cinerea*, con tasas de inhibición que variaron entre 55,27% y 79,80%; de manera similar, De Simone et al., (2021) también obtuvieron un halo de inhibición de más de 10 mm con el uso de células vivas. Además de su aplicación en fresas, otros estudios han demostrado el uso exitoso de *L. plantarum* como antagonista para mitigar la descomposición postcosecha en tomates (Manjarres Melo et al., 2021), kiwis, fresas, uvas (Daranas et al., 2019), melones (Konappa et al., 2016), manzanas y peras (Lappa et al., 2018;). Estos resultados proporcionan una sólida evidencia que respalda el uso potencial de esta BAL en el control biológico del moho gris en fresas.

En el caso de *Rhizopus stolonifer*, la capacidad de la bacteria para prevenir la esporulación fue mejor, como se puede observar en que hay dos halos, uno que se refiere al grado en que el hongo esporuló y el otro en donde se extendió su micelio. La eficacia de esta BAL se evidencia en el estudio de Jia et al., (2012), quienes encontraron que la bacteriocina LF-1 de *Lactiplantibacillus plantarum* A6 añadida al 20% redujo la tasa de germinación de esporas en un 64,7% y se redujo la tasa de descomposición de las fresas. Además, Gupta & Srivastava, (2014) evaluaron el efecto antifúngico de los péptidos antimicrobianos (AMPs LR14) producidos por la cepa *Lactiplantibacillus plantarum* LR/14 contra cuatro hongos de descomposición, a saber, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor racemosus* y *Penicillium chrysogenum*, encontrando que los cuatro hongos fueron inhibidos, es decir, los péptidos inhibieron tanto la germinación de esporas como el crecimiento de las hifas. Finalmente, los tamaños de los halos obtenidos fueron similares a los reportados por Manjarres Melo et al., (2021) y Alimi et al., (2023), donde se obtuvieron tamaños de 12 y 14 mm respectivamente. Ambos autores atribuyen esta propiedad antifúngica a la producción de ácidos orgánicos.

Un efecto antagonista importante se evidenció contra *Aspergillus niger*, *Lactiplantibacillus plantarum* A6 fue capaz de mantener un halo de 50 mm durante al menos 7 días, incluso no hubo crecimiento del micelio a esta distancia y la formación de esporas se limitó a los alrededores y no al resto de la placa de Petri. Estos resultados también pueden ser atribuidos a la producción de bacteriocinas/péptidos antimicrobianos producidos por las bacterias ácido-lácticas (Adebayo & Aderiye, 2010). De hecho, varios investigadores han estudiado el efecto antifúngico del sobrenadante de cultivo de diversas cepas de *Lactiplantibacillus* contra algunos hongos, incluidos los hongos deterioradores de alimentos (Temitope & Oluchi, 2015). Investigaciones como la de De Simone et al., (2021), encontraron que *Lactiplantibacillus plantarum* proporcionó una fuerte resistencia contra el crecimiento de *Aspergillus niger* debido a que obtuvo un halo de inhibición superior a 30 mm. Así mismo, Manjarres Melo et al., (2021) obtuvieron resultados similares en su análisis, un halo de aproximadamente 11 mm; nuevamente, estos autores mencionan la producción de ácidos orgánicos y su relación con la capacidad antifúngica. Además, en el estudio de Zhao et al.,

(2022), se evaluaron 359 cepas de BAL por su actividad antifúngica contra *Aspergillus niger* utilizando el método de placas microtituladoras de 96 pocillos. De estas, ZZUA493 (*Lactobacillus plantarum*) mostró una capacidad antifúngica de amplio espectro contra *A. niger*, *Aspergillus oryzae*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus flavus* y *Fusarium graminearum*. Los autores evidenciaron que este comportamiento puede correlacionarse con los ácidos orgánicos producidos por las LAB (ácido láctico, ácido acético y ácido fenil-láctico).

9.1.2.1.1 Identificación de la producción de biosurfactantes por las BAL

Los biosurfactantes (BS) son compuestos activos en superficie producidos por diversos microorganismos. Estos compuestos naturales han generado un interés significativo debido a sus aplicaciones multifacéticas, sus propiedades ecológicas (biodegradabilidad, baja toxicidad) y su robusto desempeño bajo condiciones desafiantes, como pH y temperaturas extremas. Además, su producción puede utilizar sustratos económicos y renovables (Ghasemi et al., 2019). Las Bacterias Ácido-Lácticas (BAL), ampliamente reconocidas como seguras (estatus GRAS), son microorganismos valiosos empleados en diversos sectores, incluidos la medicina y la producción de alimentos. Su naturaleza no patógena hace que las BAL sean una opción preferida para la producción de biosurfactantes (BS), atrayendo un considerable interés científico (Sarubbo et al., 2022). Para determinar la presencia de biosurfactantes en la cepa bacteriana, se realizó una prueba con una gota de aceite y una gota del cultivo bacteriano.

La producción de biosurfactantes se identificó en las cinco cepas bacterianas evaluadas (Figura 7). *Lactococcus lactis subsp* y *Lactiplantibacillus plantarum* A6 presentaron diferencias significativas con valores más altos en el área de la zona clara con respecto al control negativo de agua destilada ($p < 0,05$). *Weissella confusa*, *Cremoris* y *Pediococcus acidilactici* no mostraron diferencias significativas. *Lactococcus lactis subsp* ($306,2 \pm 8,34$ mm) fue la cepa con el mayor poder surfactante de las bacterias evaluadas, seguida por *Lactiplantibacillus plantarum* A6 ($256,26 \pm 1,77$ mm) (Figura 7). Estos resultados están correlacionados con el hecho de que las BAL producen una diversa gama de biosurfactantes, incluidos glicolípidos, lipopeptidos y compuestos poliméricos. Aunque los roles fisiológicos específicos de muchos biosurfactantes derivados de las BAL siguen siendo inciertos, sus aplicaciones potenciales son extensas, abarcando emulsificantes, antimicrobianos (antibacterianos y antifúngicos), humectantes, estabilizadores y más (Mouafo et al., 2022).

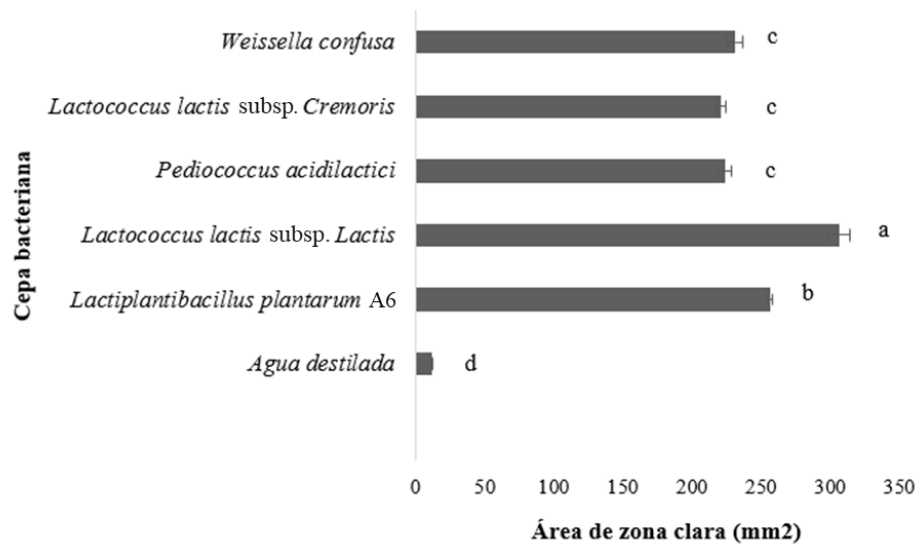


Figura 7. Actividad de biosurfactantes de las cepas de bacterias utilizadas. El agua destilada representa el tratamiento de control. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras de cada cepa que no comparten letras son significativamente diferentes

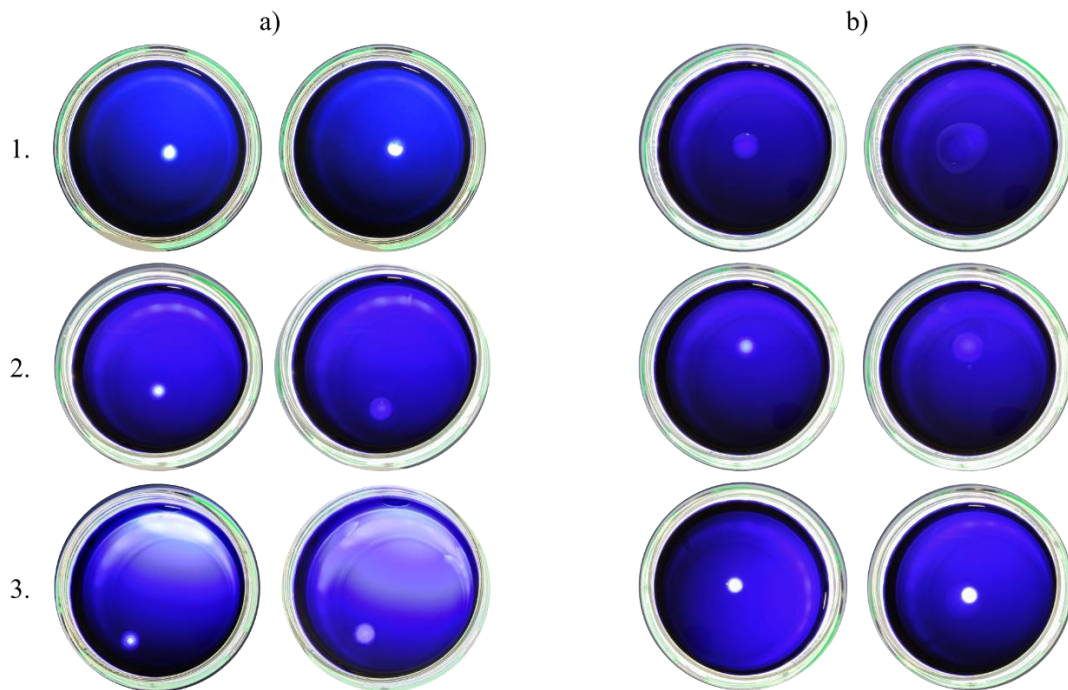


Figura 8. Producción biosurfactante de (a) *Lactiplantibacillus plantarum* and (b) *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*.

La producción de biosurfactantes también ha sido identificada en otros estudios en cepas de *L. plantarum*. Por ejemplo, en la investigación de Madhu & Prapulla, (2014), quienes evaluaron la capacidad de *Lactobacillus plantarum* CFR 2194 para producir biosurfactante, sus resultados mostraron que la producción máxima ocurrió a las 72 horas de fermentación.

Además, las fracciones acuosas del biosurfactante producido exhibieron una actividad antimicrobiana significativa contra las especies patógenas: *Escherichia coli* ATCC 31705, *E. coli* MTCC 108, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica* MTCC 859 y *Staphylococcus aureus* F 722. En el estudio de Behzadnia et al., (2019), se investigaron los parámetros cinéticos, la biomasa y la producción de biosurfactantes de *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. Sharma & Singh Saharan, (2014) aislaron BAL de muestras de leche cruda, los aislados fueron analizados por la producción simultánea de biosurfactantes y bacteriocinas. Sus hallazgos mostraron que el biosurfactante producido era una mezcla de lípidos y azúcares similar a los glicolípidos y que el aislado *Lactobacillus casei* MRTL3 era un potente productor de biosurfactantes y bacteriocinas. Yan et al., (2019) evaluaron las actividades antimicrobianas, anti-adhesivas y antibiofilm de BS aislados de bacterias lácticas (BAL), incluyendo *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum*, contra *Staphylococcus aureus* CMCC 26003 *in vitro*. Sus resultados evidencian que los BS inhibieron la adhesión y formación de biofilm de *Staphylococcus aureus* (SA) de manera dependiente de la dosis y sugieren perspectivas para su uso contra infecciones relacionadas con biofilm de SA. Manjarres Melo et al., (2021) también identificaron actividad de biosurfactantes en *L. lactis*, *L. gasseri*, *L. lactis*, *L. plantarum*, concluyendo que la producción de BS está influenciada por las condiciones de crecimiento, como el pH y la temperatura. Entre las cepas investigadas por estos autores, *L. lactis* subsp. *cremoris* demostró capacidades particularmente altas de producción de biosurfactantes, emergiendo como una cepa prometedora para estudios futuros en esta área.

9.1.2.2 Evaluación antifúngica *in vivo* de bacterias seleccionadas

Basándose en los resultados de las pruebas *in vitro* de las BAL frente a los hongos evaluados, se seleccionaron las cepas *Lactiplantibacillus plantarum* A6 y *Weissella confusa*, ya que sus resultados demostraron una mayor inhibición frente a los hongos aislados (Tabla 5). Para evaluar la actividad antifúngica *in vivo* de las cepas seleccionadas, se realizó un ensayo en fresas, y se evaluó la inhibición tras 7 días de almacenamiento a 30°C. Los resultados mostraron que las dos cepas de BAL fueron capaces de reducir la infección de los hongos evaluados en las fresas en comparación con el control sin la adición de BAL (Figura 9).



Figura 9. Efecto inhibitorio in vivo contra los hongos I *Botrytis cinerea*, II *Rhizopus stolonifer* y III *Aspergillus niger*, por las cepas de bacterias lácticas a) *Lactiplantibacillus plantarum* A6 y b) *Weissella confusa*, teniendo como control c) el tratamiento sin bacterias.

Ambas cepas redujeron la infección por los hongos *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger*, existiendo diferencias significativas con el control y entre las BAL ($p < 0,05$), siendo menor el porcentaje de infección cuando se utilizó *L. plantarum* (Figura 10).

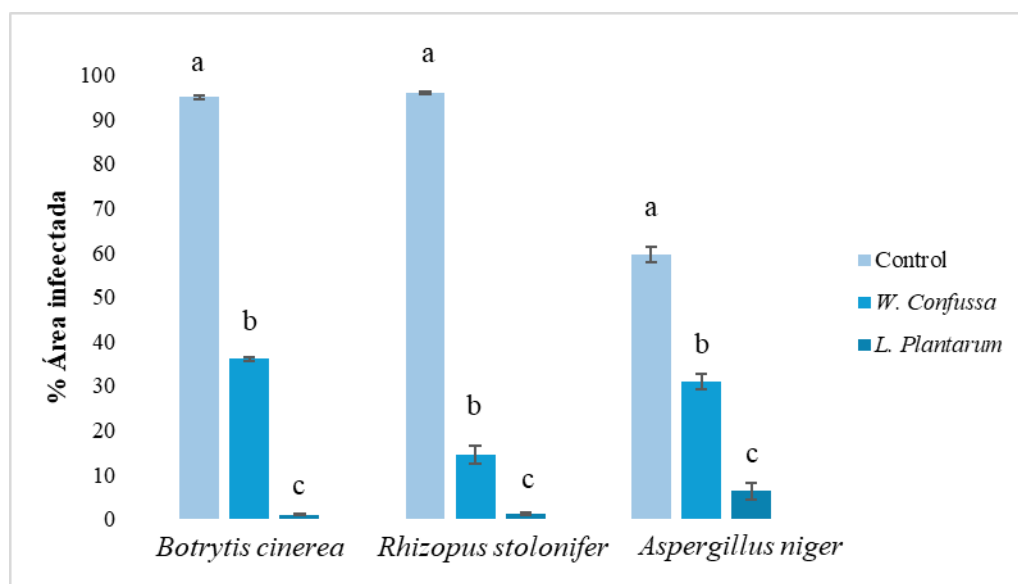


Figura 10. % Área infectada después de incubación de las heridas en fresas con las bacterias antagónicas *Lactiplantibacillus plantarum* A6 y *Weissella confusa* contra los hongos *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger*. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras de cada hongo que no comparten letras son significativamente diferentes, $n = 3$ ($P < 0,05$).

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, algunas investigaciones han informado de la actividad antifúngica de *Lactiplantibacillus plantarum* y *Weissella confusa* contra diversos tipos de hongos patógenos. La actividad antagonista contra hongos por parte de especies de *Weissella* ha sido poco reportada en la literatura. Sin embargo, se conoce la actividad de algunas cepas como *Weissella cibaria* contra hongos patógenos como *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium expansum* y *P. oxalicum*. Liu et al, (2024) evaluaron la actividad antifúngica de *Weissella cibaria* KM14 frente a estos hongos, sus resultados mostraron que la bacteria presentaba una elevada tasa de inhibición frente a estos tres hongos, oscilando entre el 99,4 y el 94,3 %, atribuyendo esta inhibición a la presencia de ácido láctico y ácido acético, respectivamente. Del mismo modo, autores como Krishnan et al., (2025) han revelado el potencial de *Weissella confusa* BF2 y ML2 para la inhibición del crecimiento de *Fusarium*, cuando se aplicó en cacahuets y granos de trigo esterilizados en superficie, pero no para la eliminación de micotoxinas.

Particularmente, para *Botrytis cinerea* la cepa *L. Plantarum* presento el menor porcentaje de área infectada ($1,00 \pm 0,05\%$) seguido de *Weissella confusa* ($36,05 \pm 0,47\%$) mientras que la fresa control estaba al ($95,0 \pm 0,5\%$) cubierta por el micelio, evidenciando las diferencias estadísticamente significativas mostradas en la prueba de ANOVA las cuales presentaron valores $P = (0,000034, 0,00025 \text{ y } 0,00020, \text{ para } B. \text{ Cinerea}, R. \text{ Stolonifer y } A. \text{ Niger}, \text{ respectivamente})$. En el estudio realizado por Zamani-Zadeh et al., (2014), demostraron el potencial del uso de *L. plantarum* A7 en combinación con aceites de tomillo y comino para controlar *Botrytis spp.* en la fase de poscosecha de las fresas. Como informaron Ben Salah-Abbès et al., (2021), muchas cepas de *L. plantarum* pueden suprimir el crecimiento fúngico alterando la estructura celular mediante la acción de sus metabolitos, incluidos ácidos lácticos, ácidos grasos, péptidos, fenoles, ésteres y amidas. Del mismo modo, Chen et al., (2020) utilizaron *Lactobacillus plantarum* CM-3, que mostró el mayor potencial para el control *in vitro* e *in vivo* de *B. cinerea*. En particular, en los ensayos *in vivo*, la incidencia de moho gris se redujo en un 48,23% y 75,00%, respectivamente, en comparación con el control, resultados muy similares a los obtenidos en este estudio, donde *L. plantarum* permitió una inhibición del 98,94%.

Para el caso de *R. Stolonifer* y *A. Niger*, la cepa que presento menor porcentaje de área infectada fue también *L. plantarum* con ($1,26 \pm 0,29\%$ y $6,26 \pm 1,95\%$, respectivamente) mientras que *Weissella confusa* presento mayores áreas con ($14,45 \pm 2,10\%$ y $30,9 \pm 1,70\%$). Lo cual demuestra el potencial antifúngico de esta cepa, el cual ha sido reportado en otras investigaciones tales como Peng et al., (2023) quienes han investigado el efecto antifúngico de metabolitos producidos por una nueva cepa de *Lactiplantibacillus plantarum* LPP703, aislada de yogur de yak fermentado de forma natural. Los resultados mostraron que esta cepa inhibía significativamente cuatro especies de hongos, incluyendo *Penicillium sp.*, *Rhizopus delemar*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*, lo que indica que sus metabolitos podrían actuar como agentes de control biológico para prevenir el crecimiento de estos hongos. En este estudio, el mayor grado de inhibición por esta cepa se presentó para *A. Niger* en comparación con la muestra control y *Weissella confusa*. Estudios previos han demostrado la actividad antifúngica de cepas de *Lactobacillus plantarum* frente a hongos alterantes como

Aspergillus niger y *Aspergillus carbonarius* (Taroub et al., 2019), correlacionándose con los resultados obtenidos.

9.1.2.2.1 Determinación de ácidos orgánicos de las BAL seleccionadas

En muchos estudios, el poder antifúngico atribuido a las BAL se debe principalmente a su producción de ácidos orgánicos. La Tabla 6 muestra las concentraciones de ácidos láctico, acético, tartárico y malónico producidos por las BAL *L. plantarum* A6 y *W. confusa*, debido a que estas fueron las dos bacterias que presentaron la mayor inhibición.

Tabla 6. Perfil de ácidos orgánico. Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.

Bacterias ácido-lácticas	Ácidos orgánicos (g/L)			
	Láctico	Acético	Tartárico	Malónico
<i>L. plantarum</i>	9,77 $\pm$ 2,50 ^a	3,55 $\pm$ 1,50 ^a	0,30 $\pm$ 0,10 ^a	0,25 $\pm$ 0,13 ^a
<i>W. confusa</i>	4,62 $\pm$ 1,42 ^b	4,78 $\pm$ 2,12 ^a	0,32 $\pm$ 0,12 ^a	0,37 $\pm$ 0,17 ^a

La presencia de estos ácidos orgánicos es clave porque ayudan a prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos, aunque es importante señalar que el nivel y tipo de ácidos orgánicos producidos dependen de la especie del microorganismo, la composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento (Hingsamer & Jungmeier, 2019). Según los resultados, el principal ácido fue el ácido láctico, encontrándose en mayor concentración en *Lactobacillus plantarum*. Esto coincide con lo reportado por Yilmaz et al., (2022), quienes afirmaron que entre las cepas de BAL, *Lactobacillus* es muy importante por su alta resistencia ácida, alto rendimiento y productividad de ácidos orgánicos. De hecho, se utiliza con frecuencia para la producción selectiva de ácido L/D láctico. Además, el ácido láctico formado por las BAL induce un microambiente local que no es favorable para los patógenos (Dittoe et al., 2018).

Los resultados encontrados son similares a los reportados en otros estudios. Por ejemplo, Crowley et al., (2013) obtuvieron resultados similares en términos de la producción de ácido acético por las dos bacterias, en el caso del ácido láctico sus resultados son casi el doble de los obtenidos en nuestra investigación, lo que podría deberse al medio de cultivo utilizado. Por otro lado, Gámez et al., (2013) reportaron resultados que coinciden con los encontrados en el caso del ácido acético para su variante de *L. plantarum* H2, aunque nuevamente la cantidad de ácido láctico reportada fue casi el doble de la encontrada en la presente investigación, posiblemente porque utilizaron un medio altamente enriquecido. Özcelik et al., (2016) ha reportado que la producción de ácido acético por las BAL es menor en comparación con otros ácidos orgánicos. En el estudio realizado por Manjarres Melo et al., (2021), se obtuvieron valores similares para el ácido acético, sin embargo, difirieron para el ácido láctico, siendo más altos en ese estudio (236,7 y 282,3 mmol/L para *L. plantarum* y *W. confusa*, respectivamente), lo que puede atribuirse al hecho de que la producción de ácidos

está directamente influenciada por la composición del medio de cultivo y las condiciones de crecimiento de las bacterias. Además, Du et al., (2025) investigaron el impacto de la cocultura sobre la producción de exopolisacárido (EPS) por *Weissella confusa* XG-3 cuando se combina con *Candida shehatae*, encontrando que con la extensión del tiempo de fermentación, los contenidos de ácido acético y ácido láctico aumentaron gradualmente, con 36 horas de fermentación se obtuvo un contenido de ácido acético de 0,33 g/L y 0,28 g/L con monocultura y cocultura, respectivamente, para el ácido láctico se obtuvo un valor de 8 g/L y 3,5 g/L con monocultura y cocultura, respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos en esta investigación ($4,62 \pm 1,42$ g/L) para el ácido láctico, sin embargo, para el ácido acético el valor obtenido fue más alto ($4,78 \pm 2,12$ g/L), lo cual podría atribuirse al hecho de que el sustrato utilizado influye directamente en la producción de los metabolitos.

Finalmente, el análisis estadístico confirma los resultados encontrados en las pruebas *in vitro* e *in vivo* donde se observaron mayores halos de inhibición y un menor porcentaje de crecimiento por parte de los tres hongos evaluados en las fresas que contenían *L. Plantarum*, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,016$) en la producción de ácido láctico entre *Weissella* y *L. plantarum*, sin embargo, en los demás ácidos cuantificados no se presentaron diferencias significativas lo cual es un comportamiento esperado ya que estas bacterias debido a sus rutas metabólicas especializadas tienden a producir en mayor cantidad ácido láctico, además las cantidades reportadas fueron similares a otros estudios en donde se reporta su actividad antimicótica (Mun et al., 2019).

9.1.3 Antagonismo entre BAL y susceptibilidad de la cepa *Lactiplantibacillus plantarum* contra el EPS de *Weissella confusa*.

De acuerdo con los resultados obtenidos fue posible corroborar que tanto *L. plantarum* como *W. confusa*, serían apropiadas para su adición en el recubrimiento comestible dado su alto poder antifúngico. No obstante, se evaluó la posibilidad de antagonismo entre ambas cepas. Como se aprecia en la Figura 11 (a y b), ambas cepas mostraron actividad inhibitoria mutua. Esto demuestra que, además de su efecto antifúngico, ciertas cepas de BAL como *L. plantarum* y *W. confusa* poseen potencial antimicrobiano al producir sustancias que impiden el crecimiento de otras bacterias. Diversas investigaciones han centrado la atención en este tipo de compuestos, no solo por su aplicación para la producción de algunos productos fermentados sino también porque se asocian con propiedades promotoras de la salud/probióticas. Los mecanismos de acción propuestos de las BAL probióticas incluyen la modulación de la respuesta inmune y la producción de compuestos antimicrobianos para excluir patógenos. Además, estos metabolitos producidos por estas bacterias han sido ampliamente estudiados por su potencial beneficioso para la salud (Lima de Jesus et al., 2022).

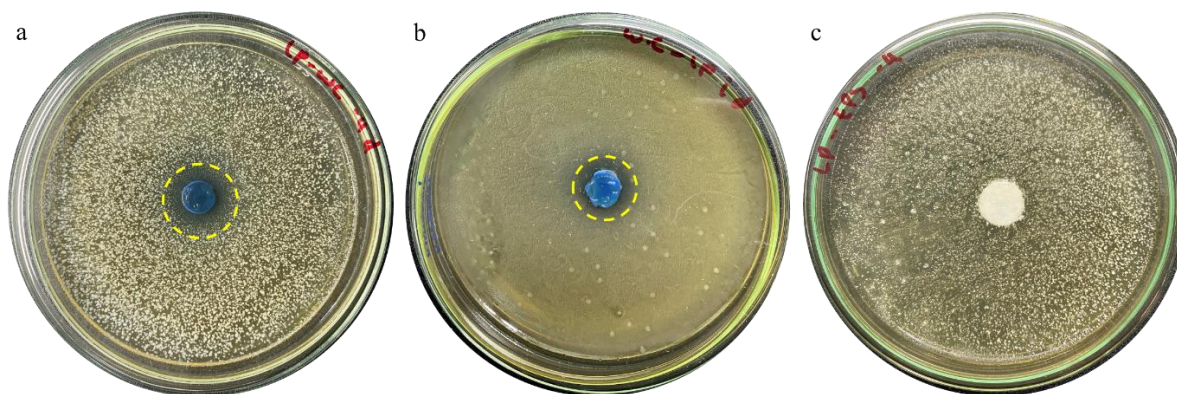


Figura 11. Antagonismo entre las cepas de BAL *Lactiplantibacillus plantarum* A6 y *Weissella confusa*, con la primera como base (a) y superpuesta en el disco de agar de menor tamaño, con *W. confusa* como base (b); las líneas punteadas indican el halo de inhibición. En la parte c) la susceptibilidad contra el EPS de *Weissella confusa* (discos) de la cepa *L. plantarum* A6 en la base.

Los hallazgos de esta investigación son consistentes con estudios previos que demuestran la actividad antimicrobiana de las BAL frente a cepas gram-positivas. Por ejemplo, Kaur & Tiwari (2016) demostraron que el sobrenadante libre de células de la cepa *Weissella confusa* LM85, gracias a su contenido de bacteriocinas antimicrobianas, inhibió el crecimiento de la cepa *L. plantarum* NRRL B-4496. Esto se evidenció mediante la aparición de halos de inhibición al aplicar el método de difusión en agar. En otro estudio realizado por Tenea & Lara, (2019), analizaron los compuestos antimicrobianos producidos por la cepa *Weissella confusa* Cys2-2, sus resultados mostraron que la bacteriocina Cys2-2 presento actividad inhibitoria estable en diferentes rangos de pH (2-10) y temperaturas elevadas (60-121 °C). Como tal, estas sustancias antimicrobianas revelaron un amplio espectro de actividad contra bacterias gram-negativas y gram-positivas. Finalmente, en el trabajo realizado por Álvarez & Manjarres, (2020) también se evidencio el efecto antagonico entre *Weissella confusa* y *L. plantarum* A6.

Dado que la viabilidad de la bacteria en el recubrimiento era clave, los resultados llevaron a la conclusión de que solo una debía ser añadida. La elección recayó en la cepa *L. plantarum* A6 para poder combinar los beneficios de ambas. Es importante recordar que el EPS, elemento fundamental del recubrimiento, es un metabolito secundario de la cepa *W. confusa*. Por otro lado, los resultados de la Figura 11c descartaron un posible antagonismo del EPS contra *L. plantarum* A6, probando que ambos pueden ser adicionados al recubrimiento simultáneamente sin inhibición.

Gracias a los resultados obtenidos, se logró integrar las propiedades beneficiosas de la cepa *L. plantarum* A6 con las del EPS, un hidrocoloide de origen bacteriano. Tal como lo indicó González (2017), el EPS posee características y propiedades que lo hacen apto para la industria alimentaria, al ser comparable con otros polímeros de carbohidratos. Otros estudios también han puesto de manifiesto los atributos de los EPS de varias cepas de *Weissella confusa*, incluyendo funciones antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y antiinflamatorias (Yuan et al., 2021). Entre las especies de *Weissella*, *W. confusa* es uno de los productores más importantes de EPS (Gonçalves Teixeira et al., 2021), y diferentes cepas

de *W. confusa*, como *W. confusa* KR780676 produce un EPS de galactano que puede resistir la degradación enzimática en el tracto gastrointestinal, como se demostró en estudios *in vitro*. Además, este EPS también promovió el crecimiento de varias especies probióticas, incluyendo *L. plantarum* y *L. fermentum*, mediante cribado *in vitro* (Lim et al., 2017).

9.2 Formulación del recubrimiento comestible

9.2.1 Diseño de mezclas para la optimización de la formulación

El diseño de mezclas de vértices extremos permitió observar el impacto del recubrimiento comestible sobre la fresa y el efecto de cada uno de sus componentes sobre las propiedades fisicoquímicas; con base en esto, se obtuvo estadísticamente una formulación que ayudara a la preservación fisicoquímica del fruto. Los componentes de interés: alginato, EPS y glicerol fueron evaluados en proporciones determinadas por el diseño (Tabla 7). En todas las mezclas se mantuvo constante la cantidad de bacteria adicionada (1% w/v), el ácido oleico, el Tween 80 y la proporción de agua.

Tabla 7. Diseño experimental.

Tratamiento	Alginato (%)	EPS (%)	Glicerol (%)
1	0	1,11	1,89
2	0	1,32	1,68
3	0,21	1,11	1,68
4	0,07	1,18	1,75
5	0,035	1,145	1,82
6	0,035	1,25	1,715
7	0,14	1,145	1,715
8	0,07	1,18	1,75
9	0,07	1,18	1,75

9.2.2 Efecto de los componentes sobre las características fisicoquímicas de la fresa

9.2.2.1 Efecto de los componentes en la pérdida de peso y firmeza

En la Figura 12a se observa el comportamiento que tuvo la pérdida de peso de la fresa en relación con los componentes del recubrimiento. La transferencia de vapor de agua a través del recubrimiento se vio afectada por la interacción entre el alginato/EPS/glicerol, ya que el análisis de varianza arrojó diferencias significativas para la interacción entre los componentes ($p=0,024$) además el coeficiente de regresión del modelo fue negativo (-5434) indicando que dicha interacción reduce la pérdida de peso (Álvarez & Manjarres, 2020); este comportamiento se puede atribuir a la formación de un complejo polimérico hermético que ayuda a formar el EPS, como ya ha sido reportado en estudios previos (Ortega & Ortiz, 2018). En los mínimos de EPS y glicerol, pero en el máximo de alginato se observa un

comportamiento de menor pérdida de peso, esto se debe a que la combinación del alginato con EPS y glicerol ayudaron a reducir la migración de humedad desde la fruta, mediante la creación de una barrera física entre el alimento y el medio ambiente (García Figueroa et al., 2019), además la viscosidad del recubrimiento no fue alta, ya que se usaron concentraciones menores al 1% de alginato (Moya Hernandez, 2023). Estos resultados son similares a los reportados por Li et al., (2024) quienes evaluaron la efectividad de un recubrimiento a base de alginato de sodio con cepas de *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* y *Lacticaseibacillus plantarum*, encontrando que las fresas sin recubrir exhibieron una difusión de humedad más rápida en la atmósfera, lo que llevó a una mayor pérdida de peso. Por el contrario, las fresas recubiertas con alginato demostraron una pérdida de peso reducida. Este efecto lo atribuyen a las propiedades de barrera semipermeable del alginato, que ralentizan eficazmente la difusión de la humedad a través de las estomas de las fresas.

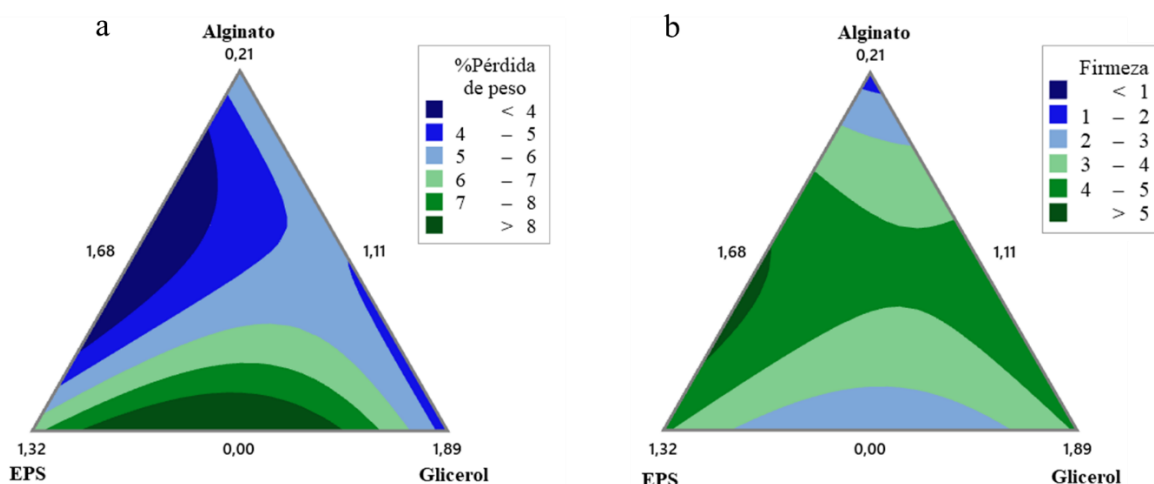


Figura 12. Gráficas de contorno para la pérdida de peso (a) y la firmeza (b) de fresa recubierta después de 7 días de almacenamiento a 30 °C y 70% HR.

En la Figura 12b, se presenta el efecto de los componentes sobre la firmeza de la fresa a los 7 días de almacenamiento, en la gráfica se puede observar un efecto de disminución en la firmeza al incrementarse las cantidades de EPS, este comportamiento puede atribuirse a la capacidad de absorción de agua de este tipo de polímeros (Mouro et al., 2024). Además, el análisis de varianza demuestra que la interacción entre EPS/Glicerol ($p=0,042$) y alginato*EPS*Glicerol ($p=0,008$), presentaron una influencia estadísticamente significativa sobre la firmeza. El coeficiente de regresión de la interacción EPS/Glicerol fue negativo (-1735) indicando que dicha interacción reduce la firmeza. Por otro lado, el modelo presentó un buen ajuste a los datos experimentales ya que el $R^2=95,49\%$ y el R^2 ajustado=90,99%, la falta de ajuste fue de 0,354, es decir, fue $>0,05$ lo que indica que no es significativa, y refleja que el modelo se ajustó bien a los datos experimentales. Este comportamiento observado, también ha sido informado por Kaur & Dey, (2023) quienes mencionan que los exopolisacáridos son conocidos por sus buenas propiedades de barrera a los gases, como el oxígeno, bajo condiciones de baja humedad. Esto se debe a su estructura densa y la presencia

de numerosos grupos hidroxilo que pueden formar enlaces de hidrógeno, dificultando el paso de moléculas pequeñas de gas. Sin embargo, precisamente por su naturaleza altamente hidrofílica (higroscópica), el dextrano tiene una barrera pobre al vapor de agua en comparación con otros polímeros.

9.2.2.2 Efecto de los componentes sobre el pH y acidez titulable (AT)

Las propiedades fisicoquímicas como la acidez y el pH fueron evaluadas, y el efecto de los componentes del recubrimiento sobre dichas propiedades se puede observar en la Figura 13.

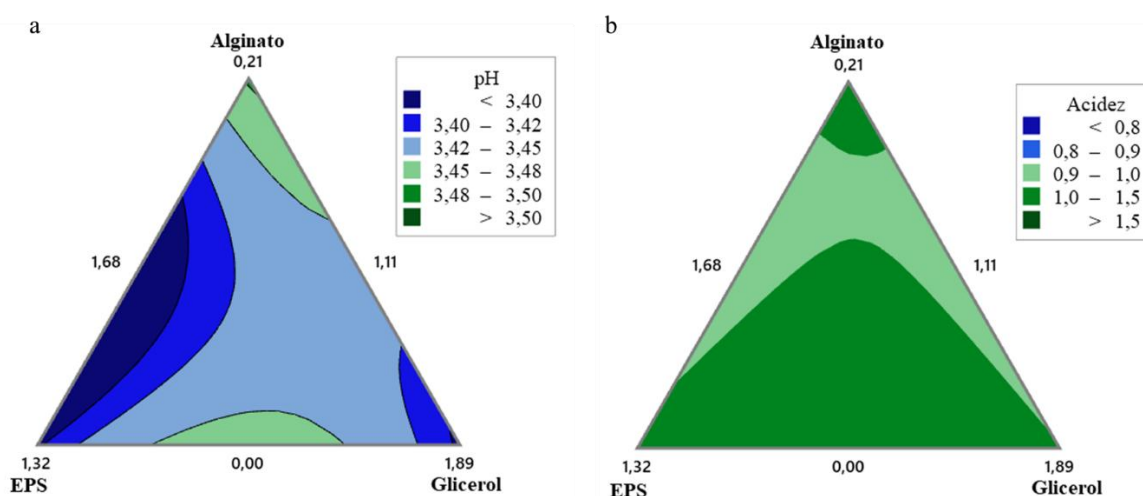


Figura 13. Gráficas de contorno para el efecto de los componentes sobre el pH (a) y la acidez (b) de fresa recubierta, después de 7 días de almacenamiento a 30 °C y 70% HR.

Los procesos fisiológicos de los productos hortofrutícolas frescos, como la respiración, inciden directamente en su calidad y en el tiempo que pueden conservarse. Debido a su elevada tasa respiratoria, las fresas se consideran frutas de corta vida útil (Jalali et al., 2020). La acidez titulable y el pH son parámetros relacionados que funcionan como indicadores de la senescencia de la fresa, ya que, durante la respiración los ácidos orgánicos presentes en este fruto son metabolizados, lo que aumenta el pH y disminuye la acidez (Chu et al., 2020) (Aday et al., 2013). Tras 7 días de almacenamiento el pH y la acidez titulable de cada tratamiento no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$). En cuanto al pH los valores se mantuvieron entre 3,40 y 3,50 y para la acidez titulable entre 1,0 y 1,1 g de ácido cítrico por 100 g de muestra, información que permite afirmar que posiblemente todos los tratamientos funcionaron como una óptima barrera al oxígeno que permitió que los procesos de respiración fueran más lentos, conclusión a la que se puede llegar a partir de lo reportado por Zikmanis et al., (2021), quienes destacan las propiedades de protección contra el oxígeno que caracterizan a los polisacáridos usados en recubrimientos comestibles como lo son el alginato de sodio y los polímeros microbianos extracelulares. Resultados similares obtuvieron Emamifar & Bavaisi, (2020), quienes explican que al aplicar un recubrimiento de alginato (que reduce la tasa de respiración), se ralentiza el uso de ácidos orgánicos como sustratos metabólicos y por tanto, la disminución de la acidez se retrasa.

9.2.3 Efecto de los componentes sobre el color (ΔE , ΔL^* y ángulo de tono)

El color de la fresa constituye un atributo sensorial clave que influye significativamente en su aceptación por parte del consumidor, ya que está estrechamente relacionado no solo con su apariencia visual, sino también con su calidad nutricional y su estado de madurez.

La Tabla 8 relaciona el efecto de los componentes en los parámetros de color ΔE , ΔL^* y ángulo de tono. Se puede observar como el cambio global de color y el cambio en la luminosidad de las muestras no presenta variaciones significativas entre tratamiento. Caso contrario experimenta el parámetro ángulo de tono, donde se puede observar que los mejores resultados se obtuvieron en las mezclas correspondientes al punto central y otras similares del diseño, lo cual sugiere que la combinación equilibrada de los tres componentes favorece el comportamiento de dicha propiedad.

Tabla 8. Efecto de los tratamientos sobre parámetros de color (luminosidad, ángulo de tono y cambio global de color). Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.

Tratamiento	Arctan(b^*/a^*)	ΔL^*	ΔE
1	27,22 $\pm$ 1,57 ^{bc}	8,67 $\pm$ 1,48 ^{bc}	16,76 $\pm$ 3,45 ^{bc}
2	37,6 $\pm$ 2,04 ^a	7,28 $\pm$ 2,67 ^{bcd}	13,92 $\pm$ 3,15 ^{bc}
3	23,98 $\pm$ 1,15 ^{cd}	3,87 $\pm$ 1,17 ^{cd}	8,78 $\pm$ 2,97 ^c
4	22,85 $\pm$ 2,04 ^{cd}	15,84 $\pm$ 2,77 ^a	29,97 $\pm$ 7,45 ^a
5	36,04 $\pm$ 1,87 ^a	9,14 $\pm$ 2,29 ^{abc}	22,09 $\pm$ 5,27 ^{ab}
6	28,84 $\pm$ 1,70 ^b	12,92 $\pm$ 2,43 ^{ab}	23,62 $\pm$ 2,26 ^{ab}
7	23,7 $\pm$ 0,79 ^{cd}	7,88 $\pm$ 1,43 ^{bcd}	17,16 $\pm$ 4,2 ^{bc}
8	21,67 $\pm$ 2,45 ^d	1,52 $\pm$ 1,70 ^d	15,02 $\pm$ 3,87 ^{bc}
9	21,87 $\pm$ 1,52 ^d	12,35 $\pm$ 4,48 ^{ab}	20,7 $\pm$ 2,18 ^{abc}

Los tratamientos 2 y 5 fueron los que obtuvieron valores de tono más altos, mientras los tratamientos 8 y 9 representaron los valores más bajos de tono. Durante el proceso de maduración y almacenamiento, las fresas tienden a intensificar su color rojo como resultado de la acumulación progresiva de antocianinas, principales pigmentos responsables de esta coloración (Zhao et al., 2023). Este comportamiento está asociado a cambios fisiológicos naturales del fruto, los cuales continúan incluso después de la cosecha bajo ciertas condiciones de almacenamiento (Wang et al., 2025). En cuanto al efecto de los compuestos sobre el ángulo de tono (hue angle), se observó que ciertas mezclas promovieron una intensificación del color rojo característico del fruto, llegando en algunos casos a modificar perceptiblemente su apariencia superficial. Este comportamiento concuerda con lo reportado por Sharafi et al. (2024), quienes señalaron que los compuestos añadidos al recubrimiento pudieron haber aumentado los valores de tono en las fresas recubiertas.

9.2.4 Optimización de la formulación

Con el objetivo de preservar las propiedades fisicoquímicas de la fresa con el recubrimiento, se optimizaron las variables de respuesta en las cuales los componentes tuvieron significancia

estadística ($p < 0,05$) y no se consideraron aquellas que no. Mediante una optimización de respuesta se maximizó la variable de firmeza, se minimizó la pérdida de peso y se determinó un valor objetivo para la variable ángulo de tono, obteniendo una formulación con las mejores características, dicha optimización se puede observar en los anexos (Figura 20). A continuación, se presenta la formulación optimizada en la Tabla 9.

Tabla 9. Formulación optimizada del recubrimiento para los parámetros fisicoquímicos evaluados en el diseño de mezclas.

Alginato (%)	EPS (%)	Glicerol (%)
0,04	1,25	1,71

Los resultados demostraron que esta formulación presentó características cercanas al punto central del diseño experimental, confirmando que estas condiciones fueron óptimas para mantener la firmeza del fruto y mantener un tono similar al del fruto fresco. Adicionalmente, se analizó el impacto de la formulación en las propiedades fisicoquímicas de las fresas, comparándolas con un control (sin recubrimiento). Paralelamente, se evaluó la capacidad antagónica del recubrimiento enriquecido con bacterias lácticas frente a hongos fitopatógenos aislados, con el objetivo de mitigar el deterioro microbiano poscosecha, principal causa de pérdidas económicas en este cultivo.

Los resultados de las pruebas fisicoquímicas realizadas sobre fresas tratadas con la formulación optimizada se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Evaluación fisicoquímica sobre fresas recubiertas (formulación optimizada) y control (sin recubrir) tras 7 días de almacenamiento en condiciones ambiente. Diferentes letras minúsculas en la misma columna indican una diferencia estadísticamente significativa según la prueba de Tukey ($P < 0,05$). DE= desviación estándar. Los datos en la tabla se expresan como la media $\pm$ DE.

Tratamiento	% Pérdida de peso	pH	Acidez titulable	Brix	Firmeza	arctan(b*/a*)	ΔL^*	ΔE
Recubierta	5,88 $\pm$ 1,46 ^a	3,42 $\pm$ 0,01 ^c	1,10 $\pm$ 0,02 ^a	8,03 $\pm$ 0,06 ^a	4,04 $\pm$ 0,03 ^a	21,76 $\pm$ 0,43 ^c	1,52 $\pm$ 0,70 ^a	15,21 $\pm$ 2,52 ^a
Control	7,09 $\pm$ 0,46 ^a	3,6 $\pm$ 0,02 ^a	0,91 $\pm$ 0,01 ^b	8,13 $\pm$ 0,11 ^a	3,94 $\pm$ 0,08 ^a	29,69 $\pm$ 1,03 ^a	2,58 $\pm$ 0,74 ^a	4,99 $\pm$ 1,49 ^b
Recubierta día cero	-	3,47 $\pm$ 0,01 ^b	0,93 $\pm$ 0,02 ^b	8,17 $\pm$ 0,06 ^a	3,83 $\pm$ 0,20 ^a	29,15 $\pm$ 0,39 ^{ab}	-	-
Fresca	-	3,46 $\pm$ 0,00 ^b	0,90 $\pm$ 0,02 ^b	8,13 $\pm$ 0,06 ^a	3,96 $\pm$ 0,06 ^a	27,53 $\pm$ 0,85 ^b	-	-

La evaluación fisicoquímica realizada a los frutos tratados con la formulación optimizada reveló efectos significativos en varios parámetros de calidad (pH, acidez titulable, tono y cambio global de color). Se observó una diferencia significativa en el parámetro ángulo de

tono con valores más bajos en las fresas recubiertas, lo cual indica una intensificación del color rojo característico del fruto.

Los resultados permiten afirmar que no se detectaron diferencias significativas en la firmeza ($p > 0,05$), sin embargo el valor de firmeza alcanzado en las fresas recubiertas (4,04 N) se mantiene dentro del rango típico de una fresa recién cosechada, lo que sugiere un efecto positivo del recubrimiento sobre la conservación de la textura. Adicionalmente se puede observar que las fresas sin recubrir después del tiempo de almacenamiento presentan una firmeza igual a las fresas recubiertas, Li et al., (2024) experimentaron un comportamiento similar, al tratar fresas con un recubrimiento a base de alginato de sodio, glicerol y *Lactiplantibacillus plantarum*, las fresas tratadas registraron un valor de firmeza de 0,62 kgf/cm² mientras las sin tratar de 0,55 kgf/cm² al día 8 de almacenamiento, los autores explican que es probable que la dureza en las muestras control esté vinculada con la deshidratación o con alteraciones osmóticas en los tejidos de la fruta, las cuales podrían reducir de forma temporal el ablandamiento que normalmente ocurre debido a la degradación de la pared celular. No obstante, aclaran que se hacen necesarios estudios complementarios que permitan confirmar estas suposiciones y esclarecer a fondo los factores que originan este comportamiento.

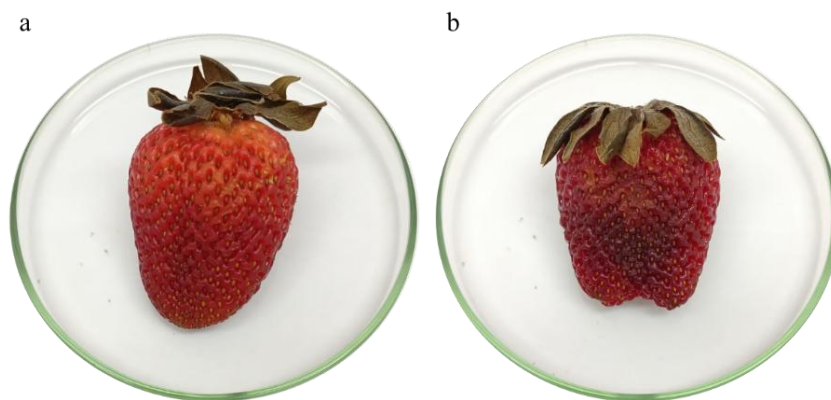


Figura 14. Fresa recubierta (a) y sin recubrir (b), día 7 de almacenamiento en condiciones ambiente.

La pérdida de peso en fresa es un indicador clave que evidencia tanto la actividad respiratoria como la pérdida de agua por evaporación durante el almacenamiento. Como se observa en la Tabla 10, la pérdida de peso no tuvo diferencia significativa entre la fresa recubierta y el control. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Jiang et al. (2022), quienes evaluaron el efecto de recubrir fresas con EPS extraído de *Pediococcus pentosaceus* E8 sobre la conservación de las mismas. Los autores reportan que la tasa de pérdida de peso fue más rápida en las muestras control que en las recubiertas con EPS, a pesar de que la pérdida máxima fue similar para ambos tratamientos. Estos resultados pueden atribuirse a la naturaleza hidrofílica de los polisacáridos que contribuyen con la inhibición de la migración de oxígeno y humedad de los alimentos mejorando así las propiedades mecánicas de los productos tratados con recubiertos a base de estas biomoléculas (Priya et al., 2023).

La alteración del color superficial del fruto representa un aspecto crucial de su calidad, ya que incide directamente en su valor comercial y en la aceptación por parte del consumidor. La Tabla 10 muestra que hubo diferencia significativa en el parámetro ángulo de tono entre las fresas recubiertas y sin recubrir. Estos hallazgos son consistentes con lo informado previamente por Lee et al. (2022b) quienes estudiaron el efecto de diferentes suspensiones de recubrimiento comestible en la calidad de fresa durante el almacenamiento (suspensiones de recubrimiento de uno o varios de los siguientes polisacáridos, nanocristales de celulosa de bagazo, nanofibras de quitosano y alginato de sodio, mezclados con aceite esencial de orégano). Los autores reportan que a lo largo del periodo de almacenamiento, las fresas sin recubrimiento presentaron una tonalidad significativamente más oscura en comparación con las recubiertas y que los frutos tratados con el recubrimiento multipolisacárido a base de alginato de sodio mostraron una menor intensidad de oscurecimiento que aquellos tratados con recubrimientos formulados con un solo polisacárido.

9.3 Viabilidad de *Lactiplantibacillus plantarum* en el recubrimiento

Tal como se ilustra en la Figura 15, la viabilidad de la cepa bacteriana dentro del recubrimiento se mantuvo consistentemente por encima de 10^5 UFC/mL a lo largo de 15 días. Este hallazgo es crucial, ya que demuestra que las condiciones de 37 °C, así como la disponibilidad de sustrato y las condiciones de almacenamiento, no comprometieron la capacidad de supervivencia de la cepa. Aunque se registró una tendencia evidente hacia una disminución en la viabilidad con el transcurso del tiempo, es importante destacar que esta reducción fue gradual y nunca experimentó una caída abrupta, siempre manteniendo concentraciones superiores a 10^5 UFC/mL. Este comportamiento es coherente con los resultados de otras investigaciones realizadas previamente, en las que se ha observado que las bacterias conservan una alta viabilidad en recubrimientos y películas comestibles, lo que les permite mantener su función bioactiva.

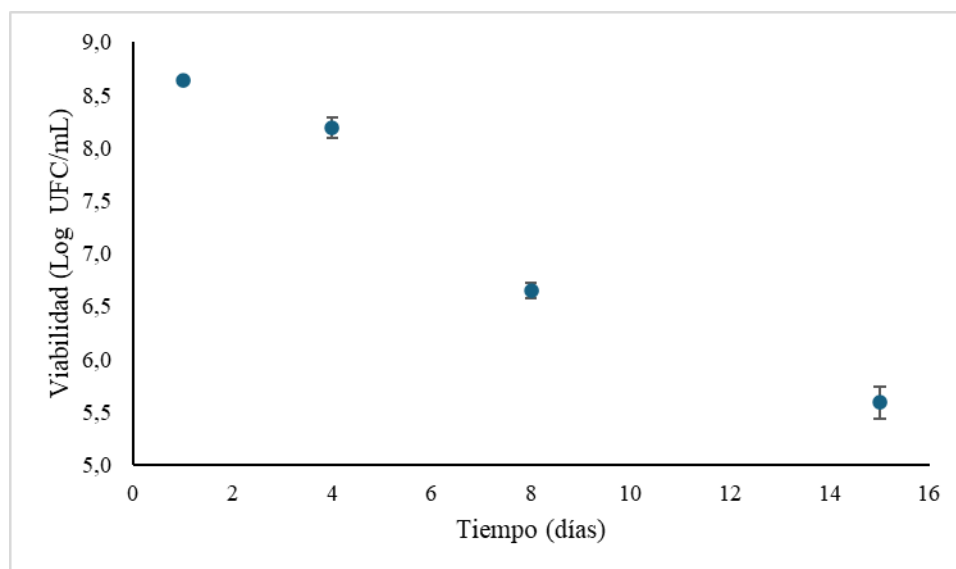


Figura 15. Viabilidad de *Lactiplantibacillus plantarum* A6 en la solución de recubrimiento a través del tiempo. Los valores están representados como la media, y las barras de error denotan la desviación estándar ($n=3$).

La cantidad mínima de bacterias viables que debe estar presente en los alimentos para brindar beneficios para la salud varía, pero comúnmente la industria alimentaria ha adoptado el nivel recomendado de 6 log UFC/g al momento del consumo. Como se observa en la figura 15, hasta el día 8 se obtuvo una viabilidad que superaba el umbral mínimo de 6 log UFC/ g para ser considerado un producto alimenticio probiótico (Alegre et al., 2011).

Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Rodrigues et al., (2018) evaluaron la influencia de recubrimientos comestibles a base de mucílago de linaza, alginato y fructooligosacáridos que contenía *Lactobacillus casei* LC-01 sobre la vida útil de cubos de yacón fresco cortado. Los resultados mostraron que los recubrimientos comestibles fueron eficientes transportadores de células probióticas, preservando el número de células viables en aproximadamente 8 log UFC/ g durante el período de almacenamiento (15 días), lo que indicó el potencial probiótico de estos productos. Otra investigación donde se demuestra la viabilidad de estas bacterias en el tiempo es el de Speranza et al., (2018), quienes registraron elevados niveles de viabilidad para la cepa *L. plantarum* C19 en trozos de manzana y melón, alcanzando viabilidades de 10^7 UFC/mL después de 14 días. Estos resultados se lograron gracias al uso de recubrimientos de alginato y quitosano, con almacenamiento a 14 °C.

En otro estudio de Khodaei & Hamidi-Esfahani (2019) evaluaron diferentes cantidades de *L. plantarum* incorporadas en recubrimientos comestibles de carboximetilcelulosa (CMC) y como afectaban las características fisicoquímicas y microbiológicas de las fresas mediante almacenamiento a 4 °C. Los resultados evidenciaron que el número de probióticos viables en todos los tratamientos fue superior a 6 log UFC/g, además la población de *L. plantarum* en todos los tratamientos de recubrimiento se mantuvo constante durante el período de almacenamiento (15 días) y ayudó a reducir el crecimiento de levaduras y mohos en la superficie de las fresas. Asimismo, Hashemi & Jafarpour, (2021) investigaron la eficacia de

las cepas de *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum* LP3, *L. plantarum* AF1 y *L. plantarum* LU5) incorporadas en un recubrimiento comestible a base de Konjac para prevenir el crecimiento de hongos y conservar las características fisicoquímicas de kiwis recién cortados conservados a 4 °C durante 5 días. Los resultados indicaron que la población de cepas de *L. plantarum* en todos los grupos tratados se mantuvo en cantidades suficientes de consumo de probióticos (por encima de 6 y 7 log UFC/g) al final del período de almacenamiento y *L. plantarum* LP3 tuvo la mayor viabilidad en comparación con otras cepas. En otra investigación realizada por Wong et al., (2021) desarrollaron un recubrimiento comestible probiótico bicapa para rodajas de manzana recién cortadas. Aplicando una solución de carboximetilcelulosa con *Lactobacillus plantarum* 299v a las rodajas de manzana como recubrimiento primario, seguido de un recubrimiento secundario con zeína. Como resultado, la bacteria probiótica *L. plantarum* 299v permaneció estable en las rodajas de manzana recubiertas durante 7 días de almacenamiento a 4 °C (>6 log UFC/g). Todos estos resultados coinciden con lo encontrado en este estudio en términos de viabilidad durante el almacenamiento.

9.4 Evaluación *in vivo* del recubrimiento contra la infección por hongos

El efecto inhibitorio del recubrimiento, enriquecido con bacterias ácido-lácticas (BAL), sobre tres hongos fitopatógenos en fresas fue evaluado tras siete días de almacenamiento a 25 °C. Según se observa en la Figura 16, la aplicación del recubrimiento en fresas suplementado con *Lactiplantibacillus plantarum* A6 logró una inhibición completa de *B. Cinerea* y en menor proporción de *R. stolonifer*, confirmando el potencial antagónico de esta cepa y su impacto positivo en la calidad microbiológica del fruto. Asimismo, se registraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en la reducción de *Botrytis cinerea* entre las muestras recubiertas y no recubiertas, lo que sugiere una prolongación de la vida útil microbiológica de las fresas. No obstante, el recubrimiento no mostró un efecto significativo ($p > 0,05$) en la disminución de *Aspergillus niger*. Estos resultados contrastan con los obtenidos en estudios *in vitro* e *in vivo* con *L. plantarum* A6, lo que podría deberse a la actividad metabólica del hongo en la matriz del alimento, así como a la posible necesidad de una mayor viabilidad bacteriana en el fruto. Además, las condiciones del sustrato (pH bajo y alta disponibilidad de nutrientes) podrían favorecer la proliferación del hongo en detrimento de la BAL.

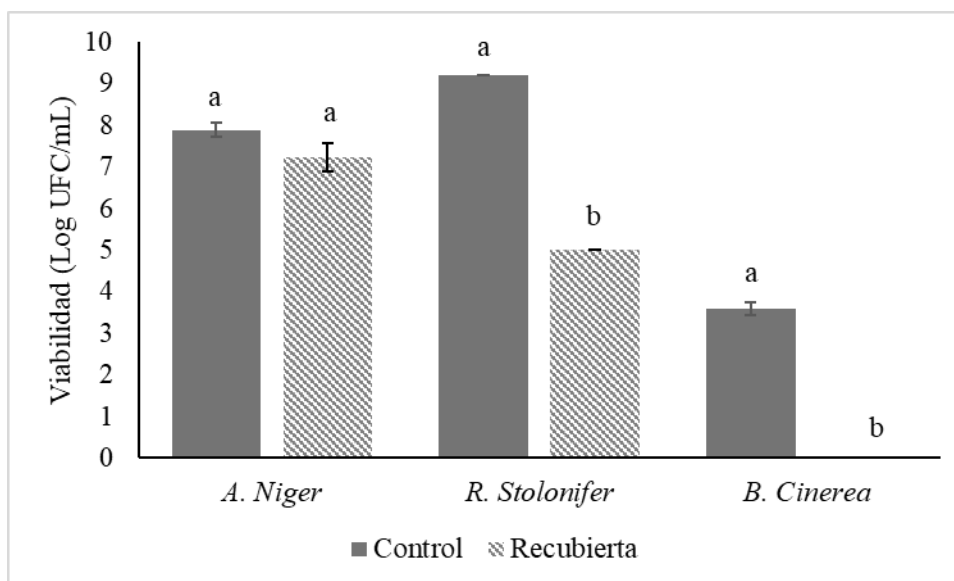


Figura 16. Población de *A. niger*, *R. stolonifer* y *B. cinerea* en fresas, con y sin recubrimiento comestible después de 7 días de incubación a 25 °C. Los valores están representados como la media, y las barras de error denotan la desviación estándar (n=3). Para cada hongo, las columnas con letras diferentes (a,b) representan diferencia significativa entre tratamientos por la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Los resultados indican que la aplicación de recubrimientos contribuye a preservar la calidad del fruto, manteniendo su inocuidad microbiológica frente a dos de los fitopatógenos evaluados (*Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*). Además, se confirma el efecto beneficioso de la incorporación de bacterias ácido-lácticas (BAL) como agente bioactivo con propiedades antifúngicas. De acuerdo con la Figura 16, se registraron recuentos elevados de *Aspergillus niger* y *R. stolonifer* en las muestras control, mientras que en los frutos tratados con el recubrimiento no se detectó desarrollo de *B. cinerea*. Sin embargo, aunque en las Figuras 16 y 17 se observa una ligera reducción en la población de *A. niger*, esta disminución no resultó estadísticamente significativa. Cabe destacar que, en productos frescos de corta vida útil, la presencia de cepas micotóxicas debe ser mínima o nula para garantizar la seguridad del consumidor.

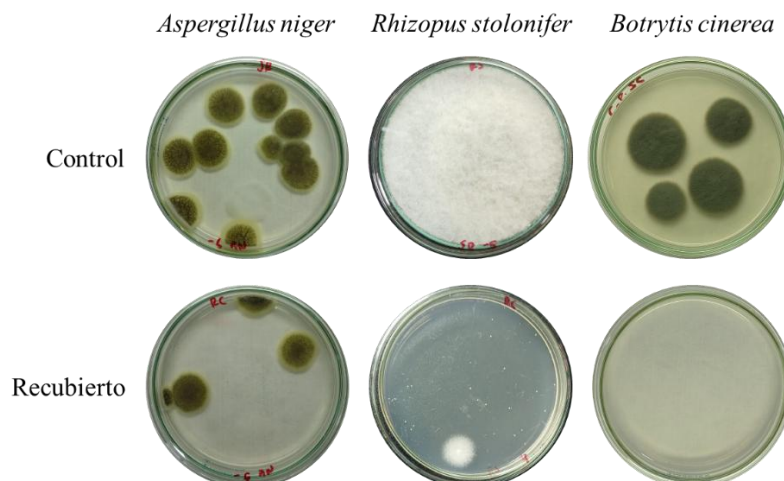


Figura 17. Conteo en placa de *Botrytis cinerea*., *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus niger* de fresas recubiertas y sin recubrimiento (control)

Los resultados encontrados coinciden con la investigación de De Simone et al., (2024) quienes evaluaron el potencial probiótico de *Lactiplantibacillus plantarum* contra *B. cinerea* en jugo de fresa, encontrando que las cepas vivas de *L. plantarum* (A11 y CB56), fueron capaces de controlar el crecimiento de *B. cinerea* en aproximadamente diez y cinco veces más respecto al control. De igual modo, en el estudio realizado por Álvarez et al., (2021) quienes incorporaron *L. plantarum* en un recubrimiento a base de exopolisacarido y evaluaron esta prueba en *A. niger*, *Fusarium* sp. y *R. stolonifer*, encontraron que hubo una inhibición total del crecimiento de *Fusarium* sp. y *R. stolonifer* tras la aplicación del recubrimiento con bacterias lácticas. Sin embargo, el recubrimiento no tuvo un efecto significativo en la población de *A. niger*, como ocurrió en este caso. Las diferencias en la eficacia de los recubrimientos pueden atribuirse a diversos factores como el pH del fruto, adaptación del patógeno a las matrices ácidas y la viabilidad de las bacterias según el sustrato. Por ejemplo, los autores Zivkovic et al., (2019) determinaron *in vitro* e *in situ* el potencial antagonista de *L. plantarum* (DSM 20174) para controlar la pudrición poscosecha causada por hongos fitopatógenos: *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium avenaceum*. Los resultados obtenidos en ensayos *in vitro* mostraron que *L. plantarum* tuvo un efecto inhibitorio más fuerte sobre la germinación de esporas que sobre el crecimiento de micelios de todos los hongos probados. Los ensayos *in situ* mostraron que el tratamiento con *L. plantarum* inhibió eficazmente la necrosis, con una incidencia que va desde el 42,54 % para *C. acutatum* hasta el 54,47 % para *A. flavus*. En otro estudio de Jia et al., (2012) reportaron que la bacteriocina LF-1 secretada por *L. plantarum* logro inhibir significativamente la germinación de esporas de *Rhizopus stolonifer*. En comparación con el control, la tasa de germinación de esporas se redujo en un 64,7 %, al igual que la tasa de descomposición de la fresa. Resultados similares a los obtenidos en esta prueba.

10 Costos de elaboración del recubrimiento

El costo de los componentes para la elaboración de 300 mL de recubrimiento se presenta en la Tabla 11. El valor del exopolisacárido se basó en el cálculo teniendo en cuenta que para su obtención se requiere preparar un inóculo de la bacteria *Weissella confusa*, que es sembrada sobre gelatina sin sabor (San Jorge), tal como se detalla en el numeral 8.4.1. Estudios previos reportaron un rendimiento aproximado luego del secado del 40% con respecto al total producido y el valor presentado en la Tabla 12 se refiere al precio por gramos de EPS seco.

Tabla 11. Precio en COP de los componentes para elaboración del EPS.

Materiales	Cantidad (g)	Precio por gramo (\$/g)	Costo
Suero de leche	19,41	25,9	\$ 503
Leche de soya	21,53	34,8	\$ 749
Azúcar	22,24	3,9	\$ 88
Gelatina	12	56	\$ 672
Materiales	Cantidad (mL)	Precio por mL (\$/mL)	Costo
Agua	300	0,0049	\$ 1,46
Inóculo <i>W. confusa</i>	0,78	760	\$ 593
TOTAL			\$ 2606

Tabla 12. Precio en COP por gramo de EPS en polvo.

Total, EPS obtenido (g)	Precio por g de EPS (\$)
4,8	542,9

Para la estimación de precios es importante mencionar que las marcas usadas para cada ingrediente fueron: RioPaila Castilla (azúcar), Tonig (leche de soya), San Jorge (gelatina sin sabor), para el inóculo (caldo MRS marca Condolab). El costo del agua se calculó en base a la tarifa de acueducto (\$4856/m³) establecida por las Empresas Municipales de Cali (EMCALI), asumiendo el estrato tipo Industrial.

Dentro de los componentes, se reportan los requeridos para preparar el medio de cultivo de la cepa adicionada *L. plantarum*. La Tabla 13 contiene el valor en pesos colombianos (COP) para producir 1 L de solución formadora de recubrimiento y el valor se obtuvo con los precios unitarios de cada material.

Tabla 13. Costo de elaboración del recubrimiento comestible.

Materiales	Cantidad (g)	Precio por gramo (\$/g)	Costo (\$)
Alginato de sodio	0,08	\$ 198	\$ 16

EPS	2,5	\$ 543	\$ 1.357
Materiales	Cantidad (mL)	Precio por mL (\$/mL)	Costo (\$)
Agua	189	\$ 0,0049	\$ 0,918
Glicerol	3,42	\$ 282	\$ 964
Ácido oleico	2	\$ 253	\$ 507
Inóculo <i>L.plantarum</i>	2	\$ 760	\$ 1.520
Tween 80	1	\$ 90	\$ 90
Costo total 300 mL RC			\$ 4.455
Costo total 1 L RC			\$ 22.275

Para la estimación de precios del recubrimiento es importante mencionar que las marcas usadas para cada ingrediente fueron: glicerol (HIMEDIA), alginato (Cape Cristal Brands, BJ, USA), tween 80 (AppliChem), ácido oleico (TuluaQuimicos). La experimentación permitió determinar que 200 mL de solución son suficientes para recubrir alrededor de 1 kg de fresas.

11 CONCLUSIONES

1. El presente estudio permitió evaluar la actividad antifúngica de 5 cepas bacterianas, los resultados indicaron que *Lactiplantibacillus plantarum* fue la cepa que presentó mejor inhibición de crecimiento micelial de los hongos *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea* durante al menos 7 días con halos de inhibición de 50,03 mm, 22,9 mm y 20,59 mm
2. A través de este estudio se logró analizar el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestibles a base de exopolisacáridos sobre la conservación poscosecha de fresas. Los resultados demostraron que ciertas combinaciones de los compuestos principales (EPS, alginato de sodio y glicerol), favorecieron la disminución de la pérdida de peso, la conservación de la textura y la estabilidad del color durante el almacenamiento. Se observó que el aumento de alginato redujo la pérdida de peso, por sus propiedades semi-permeables. Estos resultados respaldan el uso de recubrimientos como una estrategia efectiva para prolongar la vida útil del fruto y promueven el desarrollo de alternativas tecnológicas más sostenibles para la industria alimentaria.
3. La aplicación del recubrimiento comestible podría representar una inversión rentable, siempre que ofrezca beneficios significativos en la reducción de pérdidas durante el transporte poscosecha. Considerando que su implementación incrementa en un 31,82 % el precio de la fresa, su viabilidad económica dependerá de que dicha inversión sea compensada por la disminución de mermas y el aumento en la vida útil del producto. Por tanto, se requiere un análisis costo-beneficio detallado que permita determinar la rentabilidad y sostenibilidad de su uso en condiciones comerciales reales.

12 RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar una evaluación sensorial del fruto recubierto, con el fin de determinar si la aplicación del recubrimiento influye en la percepción y aceptación general por parte del consumidor.

Se sugiere extender la evaluación del recubrimiento a diferentes condiciones de almacenamiento, con el objetivo de establecer su eficacia bajo distintos escenarios de conservación.

13 PRODUCTOS

- Participación con poster en el evento Mujer Científica (marzo 19 del 2024)



- Participación en el XII Congreso Colombiano de Ingeniería Agrícola, Biosistemas y Afines (CIABA). Encuentro Internacional de Aplicaciones de Ingeniería en Agricultura y Sistemas Biológicos (agosto 2024).



**XII CONGRESO COLOMBIANO
DE INGENIERÍA AGRÍCOLA,
BIOSISTEMAS Y AFINES**

**ENCUENTRO INTERNACIONAL DE
APLICACIONES DE INGENIERÍA EN
AGRICULTURA Y SISTEMAS BIOLÓGICOS**



Bogotá, 06 de septiembre de 2024

[CIABA - CP 29 - 2024]

Señor(es) Investigadores(as)

XII Congreso Colombiano de Ingeniería Agrícola, Biosistemas y Afines (CIABA)

Encuentro Internacional de Aplicaciones de Ingeniería en Agricultura y Sistemas Biológicos

Asunto: Constancia de participación en el XII Congreso Colombiano de Ingeniería Agrícola, Biosistemas y Afines (CIABA) y en el Encuentro Internacional de Aplicaciones de Ingeniería en Agricultura y Sistemas Biológicos

Estimado(s) autor(es):

El Comité Organizador del XII Congreso Colombiano de Ingeniería Agrícola, Biosistemas y Afines (CIABA) y del Encuentro Internacional de Aplicaciones de Ingeniería en Agricultura y Sistemas Biológicos, se permite informar que, en el marco del evento desarrollado los días 26 al 30 de agosto de 2024, las personas relacionadas a continuación, realizaron la exposición del trabajo titulado:

Trabajo: *Aislamiento, identificación y caracterización de hongos fitopatógenos presentes en fresa (Fragaria ananassa)*

Modalidad: *Póster*

Autor(es): *Angie Lizeth Quintero Pinilla, Anna María Polanía Rivera, Cristina Ramírez Toro, Esteban Flórez Jaramillo, German Bolívar Escobar*

Agradecemos su participación en este Congreso y en el Encuentro Internacional, los invitamos a las próximas ediciones, ya que sus valiosos aportes contribuyen al crecimiento profesional de la ingeniería y al desarrollo sostenible.

Cordial saludo,

MIGUEL ANGEL VALENZUELA MAHECHA

Coordinador del Congreso - CIABA

Profesor Departamento de Ingeniería Civil y Agrícola

Universidad Nacional de Colombia



- Participación con ponencia oral en el Congreso Iberoamericano de ingeniería de alimentos-CIBIA XIV (octubre 2024).



October 17th, 2024

**CERTIFICATE AS A RECIPIENT OF A DISCOUNT TO
PUBLISH AN ARTICLE IN THE CYTA JOURNAL OF FOOD**

Dear Angie Quintero,

I am glad to inform you that the editors of a special issue of the *CyTA Journal of Food* and the reviewers assigned by the Scientific Committee of CIBIA XIV and IX CEIAL have selected the work entitled "Isolation and identification of three fungi present in strawberry (*Fragaria ananassa*) and *in vitro* evaluation of the antifungal activity of *Lactiplantibacillus plantarum*," (*Aislamiento e identificación de tres hongos presentes en fresa (Fragaria ananassa)* y *evaluación in vitro* de la actividad antifúngica de *Lactiplantibacillus plantarum* - S09403) to receive a discount for publishing a full article in that special issue.

There are 12 discount codes available: 10 codes for a 10% discount and 2 codes for a 100% discount. The assignment of discount codes will be based on the Journal Editor's review of the full manuscript. Detailed instructions regarding deadlines, formats, and guidelines can be found in the email sent along with this certificate.

I congratulate you again and encourage you to take advantage of this excellent opportunity.

With my personal regards,



Edwin Vera Calle, Ph.D.
President of the Organizing Committee of CIBIA XIV and CEIAL IX

Ladrón de Guevara E11-253
[PO-Box 17-01-2759]
Quito · Ecuador
E-mail: edwin.vera@epn.edu.ec

- Ganadora del premio de excelencia a mejor presentación oral en el Congreso Iberoamericano de ingeniería de alimentos-CIBIA XIV (octubre 2024).



- Sometimiento del artículo titulado "Isolation and identification of three fungi present in strawberry (*Fragaria ananassa*) and *in vitro* evaluation of the antifungal activity of *Lactiplantibacillus plantarum*" en la revista CyTA Journal.

My Articles					SUBMIT NEW MANUSCRIPT
SUBMISSION	TITLE	JOURNAL	STATUS	CHARGES	
253086083	Isolation and identification of three...	CyTA - Journal of Food	With Journal Administrator	Quote Accepted	

14 ANEXOS

Estimated Regression Coefficients for Firmeza (component proportions)

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Alginato	-1070	249	*	*	8359,13
EPS	617	208	*	*	910642,34
Glicerol	286,4	96,2	*	*	427678,11
EPS*Glicerol	-1735	590	-2,94	0,042	2483884,52
Alginato*EPS*Glicerol	3265	659	4,96	0,008	2711,74

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	PRESS	R-sq(pred)
0,257672	95,49%	90,99%	11,4229	0,00%

Figura 18. Análisis de varianza firmeza versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.

Coefficientes de regresión estimados para $\arctan(b^*/a^*)$ (proporciones del componente)

Término	EE del				FIV
	Coef	coef.	Valor T	Valor p	
Alginato	-365199	31098	*	*	21784665,99
EPS	-5649	630	*	*	1390965,83
Glicerol	-2690	291	*	*	650960,99
Alginato*EPS	965041	83016	11,62	0,007	22191970,53
Alginato*Glicerol	664601	55217	12,04	0,007	22160981,77
EPS*Glicerol	16355	1786	9,16	0,012	3789375,27
Alginato*EPS*Glicerol	-1740962	146343	-11,90	0,007	22288833,06

Resumen del modelo

		R-cuad.	R-cuad.
S	R-cuad. (ajustado)	PRESS	(pred)
0,631506	99,72%	98,90%	*

Figura 19. Análisis de varianza ángulo de tono versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.

Estimated Regression Coefficients for %Pérdida de peso (component proportions)

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Alginato	752	491	*	*	21675,93
EPS	-1119	256	*	*	919586,12
Glicerol	-535	118	*	*	430594,11
Alginato*Glicerol	1889	1027	1,84	0,163	30598,23
EPS*Glicerol	3241	727	4,46	0,021	2505127,92
Alginato*EPS*Glicerol	-5434	1274	-4,27	0,024	6743,85

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	PRESS	R-sq(pred)
0,316070	94,02%	84,06%	13,0099	0,00%

Figura 20. Análisis de varianza % pérdida de peso versus alginato, EPS y glicerol. Fuente: Minitab 2025.

Parámetros

	Meta	Inferior	Objetivo	Superior	Ponderación	Importar
Firmeza	Máximo	4,0	4,2	4,2	1	1
$\arctan(b^*/a^*)$	Objetivo	25,0	27,0	29,0	1	1
%Pérdida de	Mínimo	4,8	4,8	5,0	1	1

Solución global

Componentes

Alginato = 0,0395297

EPS = 1,25289

Glicerol = 1,70758

Respuestas pronosticadas

Firmeza = 4,1192 , deseabilidad = 0,595801

$\arctan(b^*/a^*)$ = 27,2200 , deseabilidad = 0,890000

%Pérdida de = 4,5017 , deseabilidad = 1,000000

Figura 21. Optimización de respuesta. Fuente: Minitab 2025.

15 REFERENCIAS

- Aaby, K., Ekeberg, D., & Skrede, G. (2007). Characterization of Phenolic Compounds in Strawberry (*Fragaria × ananassa*) Fruits by Different HPLC Detectors and Contribution of Individual Compounds to Total Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4395–4406. <https://doi.org/10.1021/jf0702592>
- Achour, M. (2006). A new method to assess the quality degradation of food products during storage. *Journal of Food Engineering*, 75(4), 560–564. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.056>
- Adaskaveg, J. E., & Förster, H. (Eds.). (2019). CHAPTER 20: Postharvest Fungicide Resistance in Fruit Pathogens in the United States. In *Fungicide Resistance in North America, Second Edition* (pp. 265–280). The American Phytopathological Society. <https://doi.org/10.1094/9780890546222.020>
- Aday, M. S., Buyukcan, M. B., & Caner, C. (2013). MAINTAINING THE QUALITY OF STRAWBERRIES BY COMBINED EFFECT OF AQUEOUS CHLORINE DIOXIDE WITH MODIFIED ATMOSPHERE PACKAGING. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37, 568-581. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2012.00697.x>
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M., & Varzakas, T. (2020a). Lactic Acid Bacteria as Antibacterial Agents to Extend the Shelf Life of Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: Quality and Safety Aspects. *Microorganisms*, 8(6), 952. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>
- Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., Sachadyn-Król, M., & Varzakas, T. (2020b). Lactic Acid Bacteria as Antibacterial Agents to Extend the Shelf Life of Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables: Quality and Safety Aspects. *Microorganisms*, 8(6), 952. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8060952>
- Agrios, G. N. (2002). *Fitopatología* (2nd ed.). Editorial Limusa S.A. De C.V.
- Agronet. (12 de Diciembre de 2024). *Agronet Estadísticas*. Agronet: <https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=4>
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., & Abadías, M. (2011). Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiology*, 28(1), 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.08.006>

- Álvarez, A., Manjarres, J. J., Ramírez, C., & Bolívar, G. (2021). Use of an exopolysaccharide-based edible coating and lactic acid bacteria with antifungal activity to preserve the postharvest quality of cherry tomato. *LWT*, 151, 112225. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112225>
- Angel Espinoza, N., & Ruelas Chacón, X. (2015). *Efecto de un recubrimiento comestible funcional a base de goma guar sobre la calidad postcosecha de guayaba*. Alianza de Servicios de Información Agropecuaria: <https://www.sidalc.net/search/Record/oai:https://repositorio.uaaan.mx:123456789-6703/Description>
- AOAC. (2016). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC International.
- Azeredo, H. M. C. de. (2009). Nanocomposites for food packaging applications. *Food Research International*, 42(9), 1240–1253. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.019>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. APS Press. <https://doi.org/0-89054-192-2>
- Barreto, T. A., Andrade, S. C. A., Maciel, J. F., Arcanjo, N. M. O., Madruga, M. S., Meireles, B., Cordeiro, Â. M. T., Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). A Chitosan Coating Containing Essential Oil from *Origanum vulgare* L. to Control Postharvest Mold Infections and Keep the Quality of Cherry Tomato Fruit. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01724>
- Behzadnia, A., Moosavi-nasab, M., & Tiwari, B. K. (2019). Stimulation of biosurfactant production by *Lactobacillus plantarum* using ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 59, 104724. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104724>
- Ben Salah-Abbés, J. B., Mannai, M., Belgacem, H., Zinedine, A., & Abbés, S. (2021). Efficacy of lactic acid bacteria supplementation against *Fusarium graminearum* growth in vitro and inhibition of Zearalenone causing inflammation and oxidative stress in vivo. *Toxicon*, 202, 115-122. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.09.010>
- Benhoua, I. S., Heumann, A., Rieu, A., Guzzo, J., Kihal, M., Bettache, G., . . . Weidmann, S. (2019). Exopolysaccharide produced by *Weissella confusa*: Chemical characterisation, rheology and bioactivity. *International Dairy Journal*, 90, 88-94. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.11.006>

- Camara de Comercio de Bogotá. (2015). *Manual Fresa*. Biblioteca Digital Camara de Comercio de Bogotá: <https://bibliotecadigital.ccb.org.co/items/af718af3-fcee-4ba3-83ad-c733838806d2>
- Ceredi, G., Antoniaci, L., Montuschi, C., De Paoli, E., Mari, M., & Gengotti, S. (2009). TEN YEARS OF FIELD TRIALS ON GREY MOLD CONTROL ON STRAWBERRIES. *Acta Horticulturae*, 842, 327–330. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.842.60>
- Chavan, P., Lata, K., Kaur, T., Rezek Jambrak, A., Sharma, S., Roy, S., Sinhmar, A., Thory, R., Pal Singh, G., Aayush, K., & Rout, A. (2023). Recent advances in the preservation of postharvest fruits using edible films and coatings: A comprehensive review. *Food Chemistry*, 418, 135916. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.135916>
- Chen, C., Cao, Z., Li, J., Tao, C., Feng, Y., & Han, Y. (2020). A novel endophytic strain of *Lactobacillus plantarum* CM-3 with antagonistic activity against *Botrytis cinerea* on strawberry fruit. *Biological Control*, 148, 104306. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104306>
- Chu, Y., Gao, C., Liu, X., Zhang, N., Xu, T., Feng, X., Yang, Y., Shen, X., & Tang, X. (2020). Improvement of storage quality of strawberries by pullulan coatings incorporated with cinnamon essential oil nanoemulsion. *LWT*, 122, 109054. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109054>
- Contigiani, E. V., Jaramillo Sanchez, G., Castro, M. A., Gómez, P. L., & Alzamora, S. M. (2018). Postharvest Quality of Strawberry Fruit (*Fragaria x Ananassa* Duch cv. Albion) as Affected by Ozone Washing: Fungal Spoilage, Mechanical Properties, and Structure. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 1639-1650. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11947-018-2127-0>
- Cosme, F., Pinto, T., Aires, A., Morais, M. C., Bacelar, E., Anjos, R., . . . Gonçalves, B. (2022). Red Fruits Composition and Their Health Benefits—A Review. *Foods*, 5(11), 644. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods11050644>
- Crowley, S., Mahony, J., & van Sinderen, D. (2013). Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 33(2), 93-109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.004>
- Cruz-Monterrosa, R. G., Rayas-Amor, A. A., González-Reza, R. M., Zambrano-Zaragoza, M. L., Aguilar-Toalá, J. E., & Liceaga, A. M. (2023). Application of Polysaccharide-Based Edible Coatings on Fruits and Vegetables: Improvement of Food Quality and Bioactivities. *Polysaccharides*, 4(2), 99-115. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides4020008>
- Daranas, N., Rosello, G., Cabrefiga, J., Donati, I., Frances, J., Badosa, E., . . . Bonaterra, A. (2019). Biological control of bacterial plant diseases with

- Lactobacillus plantarum strains selected for their broad-spectrum activity. *Annals of Applied Biology*, 174, 92-105. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/aab.12476>
- De Azeredo, H. M. C. (2013). Antimicrobial nanostructures in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, 30(1), 56–69. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.11.006>
- De Jesus, L. C. L., da Silva, T. F., Glória, R. de A., Freitas, A. dos S., Américo, M. F., Fernandes, L. J. da S., Campos, G. M., Gomes, G. C., Santos, R. C. V., Carvalho, R. D. de O., Barh, D., & Azevedo, V. (2022). Lactic acid bacteria–based beverages in the promotion of gastrointestinal tract health. In *Microbiome, Immunity, Digestive Health and Nutrition* (pp. 373–385). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822238-6.00008-X>
- de Man, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A MEDIUM FOR THE CULTIVATION OF LACTOBACILLI. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>
- De Moura, M. R., Mattoso, L. H. C., & Zucolotto, V. (2012). Development of cellulose-based bactericidal nanocomposites containing silver nanoparticles and their use as active food packaging. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 520–524. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.030>
- De Simone, N., Scauro, A., Fatchurrahman, D., Russo, P., Capozzi, V., Spano, G., & Fragasso, M. (2024). Inclusion of Antifungal and Probiotic Lactiplantibacillus plantarum Strains in Edible Alginate Coating as a Promising Strategy to Produce Probiotic Table Grapes and Exploit Biocontrol Activity. *Horticulturae*, 10(4), 419. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10040419>
- Departamento Nacional de Planeación. (2016). *Pérdida y Desperdicio de Alimentos en Colombia*. Publicaciones: Departamento Nacional de Planeación: <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Prensa/Publicaciones/P%C3%A9rdida%20y%20desperdicio%20de%20alimentos%20en%20colombia.pdf>
- Dey, G., Patil, M. P., Banerjee, A., Sharma, R. K., Banerjee, P., Maity, J. P., . . . Chen, C.-Y. (2023). The role of bacterial exopolysaccharides (EPS) in the synthesis of antimicrobial silver nanomaterials: A state-of-the-art review. *Journal of Microbiological Methods*, 212(106809). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.mimet.2023.106809>
- Dhall, R. K. (2013). Advances in Edible Coatings for Fresh Fruits and Vegetables: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 435–450. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.541568>
- Dhundale, V., Hemke, V., Desai, D., & Dhundale, P. (2018). Evaluation and Exploration of Lactic Acid Bacteria for Preservation and Extending the Shelf

- Life of Fruit. *International Journal of Fruit Science*, 18(4), 355-368.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/15538362.2018.1435331>
- Díaz-Montes, E., & Castro-Muñoz, R. (2021). Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview. *Foods*, 10(2), 249.
<https://doi.org/10.3390/foods10020249>
- Dittoe, D. K., Ricke, S. C., & Kiess, A. S. (2018). Organic Acids and Potential for Modifying the Avian Gastrointestinal Tract and Reducing Pathogens and Disease. *Front. Vet. Sci*, 5, 216. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00216>
- Donot, F., Fontana, A., Baccou, J. C., & Schorr-Galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 951-962.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.083>
- Du, R., Zhao, S., Ge, J., & Zhao, D. (2025). Enhanced dextran production by *Weissella confusa* in co-culture with *Candida shehatae* and its quorum sensing regulation mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 295, 139662. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.139662>
- Emamifar, A., & Bavaisi, S. (2020). Nanocomposite coating based on sodium alginate and nano-ZnO for extending the storage life of fresh strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Nanocomposite coating based on sodium alginate and nano-ZnO for extending the storage life of fresh strawberries (Fragaria × ananassa Duch.)*, 14, 1012-1024. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00350-x>
- Escalante Varona, A. V. (2015). *Aplicación de un recubrimiento comestible de goma de tara (Caesalpinia spinosa molina kuntze) sobre fresas (Fragaria ananassa cv. aromas) para prolongar su conservación*. Repositorio Institucional Universidad Agraria La Molina:
<https://repositorio.lamolina.edu.pe/items/f865ba6d-ece5-48cc-a384-830bc2cdb6c0>
- FAOSTAT. (2024). *Datos sobre alimentación y agricultura*. FAOSTAT.
<https://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2016a). Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. *Journal of Berry Research*, 6(1), 47–63.
<https://doi.org/10.3233/JBR-150113>
- Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2016b). Postharvest decay of strawberry fruit: Etiology, epidemiology, and disease management. *Journal of Berry Research*, 6(1), 47–63.
<https://doi.org/10.3233/JBR-150113>

- Fernandez Catalan, A. (2016). *Efecto de recubrimientos comestibles con bacterias ácido-lácticas sobre Botrytis cinerea en uva* [Tesis de máster]. Universitat Politècnica de València.
- Florêncio, J. A., Eiras-Stofella, D. R., Soccol, C. R., Raimbault, M., Guyot, J. P., & Fontana, J. D. (2000). Lactobacillus plantarum Amylase Acting on Crude Starch Granules. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84–86(1–9), 721–730. <https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:721>
- French, E. R., & Hebert, T. T. (1982). *Metodos de Investigacion Fitopatologica Número 43 de Serie Libros y materiales educativos*. Bib. Orton IICA / CATIE.
- García, F. A., Ayala Aponte, A., & Sanchez Tamayo, M. I. (2019). Effect of Aloe vera and sodium alginate edible coatings on postharvest quality of strawberry. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(2), e1320. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1320>
- Guerrero Guevara, B., Santos, K. D., Kamimura, E. S., & Fernandes de Oliveira, C. A. (2024). Application of microbial exopolysaccharides in packaging films for the food industry: a review. *Int J Food Sci Technol*, 59, 17-29. <https://doi.org/https://doi-org.bd.univalle.edu.co/10.1111/ijfs.16789>
- Gennadios, A., Hanna, M. A., & Kurth, L. B. (1997). Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review. *LWT - Food Science and Technology*, 30(4), 337–350. <https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0202>
- Gialamas, H., Zinoviadou, K. G., Biliaderis, C. G., & Koutsoumanis, K. P. (2010). Development of a novel bioactive packaging based on the incorporation of Lactobacillus sakei into sodium-caseinate films for controlling Listeria monocytogenes in foods. *Food Research International*, 43(10), 2402–2408. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.020>
- Giraud, E., Gosselin, L., & Raimbault, M. (1993). Production of a Lactobacillus plantarum starter with linamarase and amylase activities for cassava fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62(1), 77–82. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740620111>
- Gómez-Estaca, J., López de Lacey, A., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. *Food Microbiology*, 27(7), 889–896. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.012>
- Gonzáles, A. (2017). Obtención y evaluación de polisacáridos de una bacteria ácido-láctica para uso como aditivo alimentario. *Universidad Del Valle*.
- Gonçalves Teixeira, C., Fusieger, A., Leite Milião, G., Martins, E., Drider, D., Nero, L. A., & Fernandes de Carvalho, A. (2021). Weissella: An Emerging

Bacterium with Promising Health Benefits. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 915-925. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09751-1>

- Gregirchak, N., Stabnikova, O., & Stabnikov, V. (2020). Application of Lactic Acid Bacteria for Coating of Wheat Bread to Protect it from Microbial Spoilage. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(2), 223–229. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00803-5>
- Guimarães, A., Ramos, Ó., Cerqueira, M., Venâncio, A., & Abrunhosa, L. (2020). Active Whey Protein Edible Films and Coatings Incorporating *Lactobacillus buchneri* for *Penicillium nordicum* Control in Cheese. *Food and Bioprocess Technology*, 13(6), 1074–1086. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02465-2>
- Hashemi, S. M. B., & Jafarpour, D. (2021). Bioactive edible film based on Konjac glucomannan and probiotic *Lactobacillus plantarum* strains: Physicochemical properties and shelf life of fresh-cut kiwis. *Journal of Food Science*, 86(2), 513–522. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15568>
- Hao, W., Gray, M. A., Förster, H., & Adaskaveg, J. A. (2019). Evaluation of New Oomycota Fungicides for Management of Phytophthora Root Rot of Citrus in California. *Plant Disease*, 103(4), 619-628. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/pdis-07-18-1152-re>
- Hingsamer, M., & Jungmeier, G. (2019). Chapter Five - Biorefineries. In *The Role of Bioenergy in the Bioeconomy* (pp. 179-222). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813056-8.00005-4>
- Hu, H. L., Van den Brink, J., Gruben, B. S., Wösten, H. A., Gu, J. D., & de Vries, R. P. (2011). Improved enzyme production by co-cultivation of *Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* and with other fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(1), 248-252. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.11.008>
- Hunter, B. B., & Barnett, H. L. (1998). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. APS Press.
- ICONTEC. (1996). NTC 882-3. ICONTEC - Instituto Colombiano de Normas Técnicas: <https://ecollection-icontec-org.bd.univalle.edu.co/normavw.aspx?ID=5863>
- Jain, S., Sivapragasam, N., Maurya, A., Tiwari, S., Dwivedy, A. K., Thorakkattu, P., . . . Nirmal, N. (2025). Edible Berries- An Update on Nutritional Composition and Health Benefits-Part I. *Current Nutrition Reports*, 14(7). <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13668-024-00607-y>

- Jalali, A., Linke, M., Geyer, M., & Mahajan, P. V. (2020). Shelf life prediction model for strawberry based on respiration and transpiration processes. *Food Packaging and Shelf Life*, 25, 100525. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100525>
- James, A., & Zikankuba, V. (2017). Postharvest management of fruits and vegetable: A potential for reducing poverty, hidden hunger and malnutrition in sub-Sahara Africa. *Cogent Food & Agriculture*, 3(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/23311932.2017.1312052>
- Jia, N., Xie, Y. H., Zhang, H. X., Liu, H., Feng, J. J., Zhu, L. Da, & Zhou, X. B. (2012). Effect of Bacteriocin Treatment on Storage and Quality of Postharvest Strawberry Fruit. *Advanced Materials Research*, 554–556, 1547–1552. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.554-556.1547>
- Jiang, G., He, J., Gan, L., Li, X., Xu, Z., Yang, L., . . . Tian, Y. (2022). Exopolysaccharide Produced by *Pediococcus pentosaceus* E8: Structure, Bio-Activities, and Its Potential Application. *Frontiers In Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.923522>
- Jima, I. M. (2015). *Aplicación de recubrimientos comestibles (gelatina, glicerol, tween, ácido cítrico y glucosa) y su efecto en el tiempo de vida útil de fresa (Fragaria ananassa) variedad albión*. Repositorio Universidad Técnica de Ambato: <https://repositorio.uta.edu.ec/items/441ef269-7711-42ba-93d0-b468e62b29cd>
- Jurado Gámez, H., Ramirez, C., & Aguirre, D. (2013). Cinética de fermentación de *Lactobacillus plantarum* en un medio de cultivo enriquecido como potencial probiótico. *Revista Veterinaria Y Zootecnia*, 7(2), 37-53. <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4379>
- Kaur, R., & Tiwari, S. K. (2016). Isolation, identification and characterization of *Pediococcus pentosaceus* LB44 and *Weissella confusa* LM85 for the presence of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS). *Microbiology (Russian Federation)*, 85(5), 540–547. <https://doi.org/10.1134/S0026261716050088>
- Kaur, K., & Kumar, A. (2022). Enhancement of strawberry shelf life with coating: A review. *Modern Phytomorphology*, 16(2). <https://doi.org/DOI:10.5281/zenodo.7735668>
- Kaur, N., & Dey, P. (2023). Bacterial exopolysaccharides as emerging bioactive macromolecules: from fundamentals to applications. *Research in Microbiology*, 174(4), 104024. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.104024>
- Kerry, J. P., O'Grady, M. N., & Hogan, S. A. (2006). Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based

- products: A review. *Meat Science*, 74(1), 113–130.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.024>
- Khan, I., Tango, C. N., Chelliah, R., & Oh, D.-H. (2019). Development of antimicrobial edible coating based on modified chitosan for the improvement of strawberries shelf life. *Food Science and Biotechnology*, 28(4), 1257–1264.
<https://doi.org/10.1007/s10068-018-00554-9>
- Khodaei, D., & Hamidi-Esfahani, Z. (2019). Influence of bioactive edible coatings loaded with *Lactobacillus plantarum* on physicochemical properties of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110944.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110944>
- Konappa, N. M., Maria, M., Uzma, F., Krishnamurthy, S., Nayaka, S. C., Niranjana, S. R., & Chowdappa, S. (2016). Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt. *Scientia Horticulturae*, 207, 183–192.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.029>
- Krishnan, S. V., Anaswara, P. A., Nampoothiri, K. M., Kovács, S., Adácsi, C., Szarvaz, P., . . . Pusztahelyi, T. (2025). Biocontrol Activity of New Lactic Acid Bacteria Isolates Against *Fusaria* and *Fusarium* Mycotoxins. *Toxins*, 17(2), 68. <https://doi.org/10.3390/toxins17020068>
- Kumar, S., & Bhatnagar, Tripti. (2014). Studies to Enhance the Shelf Life of Fruits Using Aloe Vera Based Herbal Coatings: A Review. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 5(3), 211–218.
- Ladika, G., Strati, I. F., Tsiaka, T., Cavouras, D., & Sinanoglou, V. J. (2024). On the Assessment of Strawberries' Shelf-Life and Quality, Based on Image Analysis, Physicochemical Methods, and Chemometrics. *Foods*, 2(13), 234.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods13020234>
- Lakra, A. K., Domdi, L., Tilwani, Y. M., & Arul, V. (2020). Physicochemical and functional characterization of mannan exopolysaccharide from *Weissella confusa* MD1 with bioactivities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 797–805.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.139>
- Lappa, I. K., Mparampouti, S., Lanza, B., & Panagou, E. (2018). Control of *Aspergillus carbonarius* in grape berries by *Lactobacillus plantarum*: A phenotypic and gene transcription study. *International Journal of Food Microbiology*, 275, 56–65.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.001>
- Lara-Severino, R. del C., Gómez Olivan, L. M., Sandoval Trujillo, Á. H., Isaac-Olive, K., & Ramírez-Durán, N. (2017). BÚSQUEDA DE CAPACIDAD

PRODUCTORA DE BIOSURFACTANTES EN ACTINOBACTERIAS HALOALCALÓFILAS Y HALOALCALOTOLERANTES. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(3), 529–539. <https://doi.org/10.20937/RICA.2017.33.03.15>

- Larone, D. H. (2002). Medically important fungi : a guide to identification. Medically Important Fungi : A Guide To Identification - Ghent University Library. <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:000778429>
- Lee, D., Shayan, M., Gwon, J., Picha, D. H., & Wu, Q. (2022b). Effectiveness of cellulose and chitosan nanomaterial coatings with essential oil on postharvest strawberry quality. *Carbohydrate Polymers*, 298, 120101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120101>
- Lewis, J. (2019). *Codex nutrient reference values*. Roma: FAO y OMS. <https://doi.org/978-92-5-131957-4>
- Li, N., Cheng, Y., Li, Z., Yue, T., & Yuan, Y. (2024). An alginate-based edible coating containing lactic acid bacteria extends the shelf life of fresh strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 274(1), 133273. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133273>
- Li, X., Li, F., Zhang, X., Tang, W., Huang, M., Huang, Q., & Tu, Z. (2024). Interaction mechanisms of edible film ingredients and their effects on food quality. *Current Research in Food Science*, 8, 100696. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100696>
- Lim, J., Kale, M., Kim, D.-H., Kim, H.-s., Chon, J.-W., Seo, K.-H., . . . Kim, H. (2017). Antiobesity Effect of Exopolysaccharides Isolated from Kefir Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10011-10019. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03764>
- Lim, S. K., Kwon, M.-S., Lee, J., Oh, Y. J., Jang, J.-Y., Lee, J.-H., Park, H. W., Nam, Y.-D., Seo, M.-J., Roh, S. W., & Choi, H.-J. (2017). *Weissella cibaria* WIKIM28 ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions by inducing tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in BALB/c mice. *Scientific Reports*, 7(1), 40040. <https://doi.org/10.1038/srep40040>
- Lima de Jesus, L. C., de Jesus Souza, T., Coelho-Rocha, N. D., Profeta, R., Lima Barroso, F., Martins Drumond, M., . . . Azevedo, V. (2021). Safety Evaluation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CIDCA 133: a Health-Promoting Bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14, 816-829. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09826-z>
- Liu, X., Jiang, N., Wang, X., Yan, H., Guan, L., Kong, L., . . . Ma, H. (2024). *Weissella cibaria* Relieves Gut Inflammation Caused by *Escherichia coli*

- through Inflammation Modulation and Gut Microbiota Regulation. *Foods*, 13(7), 1133. <https://doi.org/10.3390/foods13071133>
- López de Lacey, A. M. (2013). *Diseño, desarrollo y aplicación de envases comestibles potencialmente bioactivos* [PhD]. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID .
- Ma, C., Bin, H., Wei, M.-B., Zhao, J.-H., & Zhang, H.-z. (2019). Influence of matured compost inoculation on sewage sludge composting: Enzyme activity, bacterial and fungal community succession. *Bioresource Technology*, 294. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122165>
- Madhu, A. N., & Prapulla, S. G. (2013). Evaluation and Functional Characterization of a Biosurfactant Produced by *Lactobacillus plantarum* CFR 2194. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172, 1777-1789. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12010-013-0649-5>
- Manjarres Melo, J. J., Alvarez, A., Ramirez, C., & Bolivar, G. (2021). Antagonistic Activity of Lactic Acid Bacteria Against Phytopathogenic Fungi Isolated from Cherry Tomato (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). *Current Microbiology*, 78, 1399-1408. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00284-021-02416-w>
- Massoud, R., Khodaeii, D., Hamidi Esfahani, Z., & Khosravi Darani, K. (2023). The effect of edible probiotic coating on quality of fresh fruits and vegetables: fresh strawberries as a case study. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 2517-2526. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13399-021-01332-0>
- Mezzetti, B., Giampieri, F., Zhang, Y.-t., & Zhong, C.-f. (2018). Status of strawberry breeding programs and cultivation systems in Europe and the rest of the world. *Sage Journals*, 3(8), 205-221. <https://doi.org/https://doi.org/10.3233/JBR-180314>
- Ministerio de Agricultura. (2021). *Cadena productiva de la Fresa*. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Fresa/Documentos/2021-03-31%20Cifras%20Sectoriales.pdf>
- Miteluț, A. C., Popa, E. E., Drăghici, M. C., Popescu, P. A., Popa, V. I., Bujor, O., Ion, V. A., & Popa, M. E. (2021). Latest Developments in Edible Coatings on Minimally Processed Fruits and Vegetables: A Review. *Foods*, 10(11), 2821. <https://doi.org/10.3390/foods10112821>
- Moghadas, H. C., Chauhan, R., & Smith, J. S. (2024). Application of Plant Oils as Functional Additives in Edible Films and Coatings for Food Packaging: A Review. *Foods*, 13(7), 997. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods13070997>

- Momin, M. C. B. D., Alemmoa R, J., Ankalagi, N., Takhellambam, H., & Okram Bijaya, D. (2021). Edible coatings in fruits and vegetables: A brief review. *The Pharma Innovation Journal*, 10, 71–78.
- Mora Cabeza, R. A., & Flórez Faura, R. (2010). *Fresa (fragaria x ananassa Duch.) :producción y manejo poscosecha*.
- Moradi, F., Emamifar, A., & Ghaderi, N. (2019). Effect of basil seed gum based edible coating enriched with echinacea extract on the postharvest shelf life of fresh strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3), 1852–1863. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00104-9>
- Moradi, M., Guimarães, J. T., & Sahin, S. (2021). Current applications of exopolysaccharides from lactic acid bacteria in the development of food active edible packaging. *Current Opinion in Food Science*, 40, 33-39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.06.001>
- Mouafo, H. T., Sokamte, A. T., Mbawala, A., Ndjouenkeu, R., & Devappa, S. (2022). Biosurfactants from lactic acid bacteria: A critical review on production, extraction, structural characterization and food application. *Food Bioscience*, 46, 101598. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101598>
- Mouro, C., Gomes, A. P., & Gouveia, I. C. (2024). Microbial Exopolysaccharides: Structure, Diversity, Applications, and Future Frontiers in Sustainable Functional Materials. *Polysaccharides*, 5(3), 241-287. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides5030018>
- Moya Hernandez, I. J. (2023). *Fabricación de una película comestible de alginato de sodio*. Repositorio Universidad de América: <https://hdl.handle.net/20.500.11839/9163>
- Mun, S. Y., Kim, S. K., Woo, E. R., & Chang, H. C. (2018). Purification and characterization of an antimicrobial compound produced by *Lactobacillus plantarum* EM showing both antifungal and antibacterial activities. *LWT*, 114, 108403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108403>
- Myresiotis, C. K., Karaoglanidis, G. S., & Tzavella-Klonari, K. (2007). Resistance of *Botrytis cinerea* Isolates from Vegetable Crops to Anilinopyrimidine, Phenylpyrrole, Hydroxyanilide, Benzimidazole, and Dicarboximide Fungicides. *Plant Disease*, 91(4), 407-413. <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/pdis-91-4-0407>
- Ortega, J. D., & Ortiz, B. S. (2018). Evaluación de exopolisacárido obtenido de microorganismo láctico aplicado como película comestible a embutido carnico tipo chorizo. Universidad del Valle.
- Osorio Mora, O., López Enriquez, D. F., Cuatin Ruano, L. Y., & Andrade, J. C. (2016). Evaluación de un recubrimiento comestible a base de proteínas de lactosuero y cera

- de abeja sobre la calidad fisicoquímica de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Acta Agronómica*, 65(4), 326–333. <https://doi.org/10.15446/acag.v65n4.50191>
- Özcelik, S., Kuley, E., & Özogul, F. (2016). Formation of lactic, acetic, succinic, propionic, formic and butyric acid by lactic acid bacteria. *LWT*, 73, 536–542. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.066>
- Özpınar, F. B., İspirli, H., Kayacan, S., Korkmaz, K., Dere, S., Sagdic, O., . . . Dertli, E. (2024). Physicochemical and structural characterisation of a branched dextran type exopolysaccharide (EPS) from *Weissella confusa* S6 isolated from fermented sausage (Sucuk). *International Journal of Biological Macromolecules*, 264(1), 130507. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130507>
- Pagliarulo, C., Sansone, F., Moccia, S., Russo, G. L., Aquino, R. P., Salvatore, P., Di Stasio, M., & Volpe, M. G. (2016). Preservation of Strawberries with an Antifungal Edible Coating Using Peony Extracts in Chitosan. *Food and Bioprocess Technology*, 9(11), 1951–1960. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1779-x>
- Palou, L., Valencia-Chamorro, S., & Pérez-Gago, M. (2015). Antifungal Edible Coatings for Fresh Citrus Fruit: A Review. *Coatings*, 5(4), 962–986. <https://doi.org/10.3390/coatings5040962>
- Parveen, S., Wani, A. H., Ganie, A. A., Pala, S. A., & Mir, R. A. (2014). Antifungal activity of some plant extracts on some pathogenic fungi. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection*, 47(3), 279–284. <https://doi.org/10.1080/03235408.2013.808857>
- Parvez, S., & Wani, I. A. (2018). Postharvest Biology and Technology of Strawberry. In *Postharvest Biology and Technology of Temperate Fruits* (pp. 331–348). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76843-4_14
- Peng, Q., Yang, J., Wang, Q., Suo, H., Hamdy, A. M., & Song, J. (2023). Antifungal Effect of Metabolites from a New Strain *Lactiplantibacillus Plantarum* LPP703 Isolated from Naturally Fermented Yak Yogurt. *Foods*, 12(1), 181. <https://doi.org/10.3390/foods12010181>
- Plascencia-Jatomea, M., Susana, M., Gómez, Y., & Velez-Haro, J. M. (2012). *Aspergillus* spp. (Black Mold). En *Elsevier eBooks* (pp. 267–286). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-411552-1.00008-9>
- Priya, K., Thirunavookarasu, N., & Chidanand, D. (2023). Recent advances in edible coating of food products and its legislations: A review. *Journal Of Agriculture And Food Research*, 12, 100623. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100623>
- Raghav, P. K., Agarwal, N., & Saini, M. (2016). Edible Coating of Fruits and Vegetables: A Review. *International Journal of Scientific Research and Modern Education*, 1(1), 188–204. <https://doi.org/chrome->

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/108675505/Edible_Coating_of_Fruits_and_Vegetables_April_2016-libre.pdf?1702221100=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DEDIBLE_COATING_OF_FRUITS_AND_VEG

- Ramírez, C. (2005). *Uso de bacterias lácticas probióticas na alimentação de camarões Litopenaeus vannamei como inibidoras de microrganismos patogênicos e estimulantes do sistema imune*. Universidade Federal do Paraná.
- Rasouli, Y., Moradi, M., Tajik, H., & Molaei, R. (2021). Fabrication of anti-Listeria film based on bacterial cellulose and Lactobacillus sakei-derived bioactive metabolites; application in meat packaging. *Food Bioscience*, 42, 101218. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101218>
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124–140. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>
- Rhodes, D. G., Morton, S., Myrowitz, R., & Moshfegh, A. J. (2023). Food and Nutrient Database for Dietary Studies 2019–2020: An application database for national dietary surveillance. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 123(105547). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105547>
- Robledo, N., López, L., Bunger, A., Tapia, C., & Abugoch, L. (2018). Effects of Antimicrobial Edible Coating of Thymol Nanoemulsion/Quinoa Protein/Chitosan on the Safety, Sensorial Properties, and Quality of Refrigerated Strawberries (*Fragaria × ananassa*) Under Commercial Storage Environment. *Food and Bioprocess Technology*, 11(8), 1566–1574. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2124-3>
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., & Garcia, S. (2018). Influence of Linseed Mucilage Incorporated into an Alginate-Base Edible Coating Containing Probiotic Bacteria on Shelf-Life of Fresh-Cut Yacon (*Smallanthus sonchifolius*). *Food and Bioprocess Technology*, 11(8), 1605–1614. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2128-z>
- Salas-Méndez, E. de J., Vicente, A., Pinheiro, A. C., Ballesteros, L. F., Silva, P., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, M. de L. V., Flores-López, M. L., Villarreal-Quintanilla, J. Á., Peña-Ramos, F. M., Carrillo-Lomeli, D. A., & Jasso de Rodríguez, D. (2019). Application of edible nanolaminate coatings with antimicrobial extract of *Flourensia cernua* to extend the shelf-life of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.12.008>
- Salaria, A., Patel, S. S., Sridhar, K., Chawla, P., & Sharma, M. (2025). Extraction and Characterization of Biopolymers from Rice Bran Oil Cake: Development of

- Antimicrobial Edible Coating for Extending Shelf-life of Strawberry Fruit. *Food Bioscience*, 65, 106053. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106053>
- Santamaria, O., & Diez, J. J. (2005). Fungi in leaves, twigs and stem bark of *Populus tremula* from northern Spain. *Forest Pathology*, 35(2), 95–104. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2004.00389.x>
- Sarubbo, L. A., Silva, M. C., Durval, I. J., Bezerra, K. G., Ribeiro, B., Silva, I. A., . . . Banat, I. M. (2022). Biosurfactants: Production, properties, applications, trends, and general perspectives. *Biochemical Engineering Journal*, 181, 108377. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108377>
- Sharma, D., & Saharan, B. S. (2014). Simultaneous Production of Biosurfactants and Bacteriocins by Probiotic *Lactobacillus casei* MRTL3. *International Journal of Microbiology*, 7, 698713. <https://doi.org/10.1155/2014/698713>
- Shahbazi, Y., Shavisi, N., & Karami, N. (2021). Development of edible bioactive coating based on mucilages for increasing the shelf life of strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 394–405. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00638-3>
- Shao, W., Zhao, Y., & Ma, Z. (2021). Advances in Understanding Fungicide Resistance in *Botrytis cinerea* in China. *Phytopathology*®, 111(3), 455–463. <https://doi.org/10.1094/PHTO-07-20-0313-IA>
- Sharafi, H., Alirezalu, A., Liu, S., Karami, A., & Moradi, M. (2024). Postbiotics-enriched flaxseed mucilage coating: A solution to improving postharvest quality and shelf life of strawberry. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 265, 131398. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131398>
- Shi, J.-F., & Sun, C.-Q. (2017). Isolation, identification, and biocontrol of antagonistic bacterium against *Botrytis cinerea* after tomato harvest. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(4), 706–714. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.03.002>
- Sivapragasam, N., Maurya, A., Tiwari, S., Dwivedy, A. K., Jain, S., Thorakkattu, P., Koirala, P., & Nirmal, N. (2025). Edible Berries- An Update on Nutritional Composition and Health Benefits- Part III. *Current Nutrition Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1007/s13668-024-00606-z>
- Sotelo-González, A. M., Reynoso-Camacho, R., Hernández-Calvillo, A. K., Castañón-Servín, A. P., García-Gutiérrez, D. G., Gómez-Velázquez, H. D. de J., Martínez-Maldonado, M. Á., de los Ríos, E. A., & Pérez-Ramírez, I. F. (2023). Strawberry, Blueberry, and Strawberry-Blueberry Blend Beverages Prevent Hepatic Steatosis in Obese Rats by Modulating Key Genes Involved in Lipid Metabolism. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph20054418>

- Speranza, B., Campaniello, D., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2018). Viability of *Lactobacillus plantarum* on Fresh-Cut Chitosan and Alginate-Coated Apple and Melon Pieces. *Frontiers In Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02538>
- Taroub, B., Salma, L., Manel, Z., Ouzari, H. I., Hamdi, Z., & Moktar, H. (2019). Isolation of lactic acid bacteria from grape fruit: antifungal activities, probiotic properties, and in vitro detoxification of ochratoxin A. *Annals of Microbiology*, 69, 17-27. <https://doi.org/10.1007/s13213-018-1359-6>
- Teixeira, C. G., Fusieger, A., Milião, G. L., Martins, E., Drider, D., Nero, L. A., & de Carvalho, A. F. (2021). Weissella: An Emerging Bacterium with Promising Health Benefits. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(4), 915–925. <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09751-1>
- Temitope, F. P., & Oluchi, U. E. (2015). Studies on the Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus fermentum* on Spoilage Fungi of Tomato Fruit. *Journal of Microbiology Research*, 5(3), 95-100. <https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20150503.03>
- Temiz, N. N., & Özdemir, K. S. (2021). Microbiological and physicochemical quality of strawberries (*Fragaria × ananassa*) coated with *Lactobacillus rhamnosus* and inulin enriched gelatin films. *Postharvest Biology and Technology*, 173, 111433. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111433>
- Tenea, G. N., & Lara, M. I. (2019). Antimicrobial compounds produced by *Weissella confusa* Cys2-2 strain inhibit Gram-negative bacteria growth. *CyTA - Journal of Food*, 17(1), 105–111. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1561520>
- Toledo, R. T. (n.d.). Kinetics of Chemical Reactions in Foods. In *Fundamentals of Food Process Engineering* (pp. 285–299). Springer US. https://doi.org/10.1007/0-387-29241-1_8
- Tufan, E. G., Borazan, A. A., & Koçkar, Ö. M. (2021). A Review on Edible Film and Coating Applications for Fresh and Dried Fruits and Vegetables. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(2), 1073-1085. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.996827>
- Upadhyaya, C., Patel, H., Patel, I., Ahir, P., & Upadhyaya, T. (2024). Development of Biological Coating from Novel Halophilic Exopolysaccharide Exerting Shelf-Life-Prolonging and Biocontrol Actions for Post-Harvest Applications. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 29(3), 695. <https://doi.org/10.3390/molecules29030695>
- Vázquez-Briones, M. C., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2013). Recubrimientos de frutas con biopelículas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 5–14.

- Villota, R., & Hawkes, J. G. (2018). Reaction Kinetics in Food Systems. In *Handbook of Food Engineering* (pp. 225–484). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429449734-3>
- Wang, Z., Shen, A., Ge, Y., Zhou, C., Qiao, Y., Xiong, A., & Wang, G. (2025). Regulation of fruit quality formation in strawberry: from omics to biotechnology. *PeerJ*, 13, e19497. <https://doi.org/10.7717/peerj.19497>
- Weng, S., Yu, S., Dong, R., Pan, F., & Liang, D. (2020a). Nondestructive detection of storage time of strawberries using visible/near-infrared hyperspectral imaging. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 269–281. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1716793>
- Wolde, M., & Abirdew, S. (2019). The Significance and Implications of Pesticide Residue on Fruits and Vegetables in Ethiopia: An Overview. *American Journal Of Bioscience And Bioengineering/Bioscience*, 7(6), 71. <https://doi.org/10.11648/j.bio.20190706.11>
- Wong, C. H., Kai Mak, I. E., & Li, D. (2021). Bilayer edible coating with stabilized *Lactobacillus plantarum* 299v improved the shelf life and safety quality of fresh-cut apple slices. *Food Packaging and Shelf Life*, 30, 100746. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100746>
- Yan, X., Gu, S., Cui, X., Shi, Y., Wen, S., Chen, H., & Ge, J. (2019). Antimicrobial, anti-adhesive and anti-biofilm potential of biosurfactants isolated from *Pediococcus acidilactici* and *Lactobacillus plantarum* against *Staphylococcus aureus* CMCC26003. *Microbial Pathogenesis*, 127, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.11.039>
- Yildiz, H., & Karatas, N. (2018). Microbial exopolysaccharides: Resources and bioactive properties. *Process Biochemistry*, 72, 41–46. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.06.009>
- Yilmaz, B., Bangar, S. P., Echegaray, N., Suri, S., Tomasevic, I., Lorenzo, J. M., . . . Ozogul, F. (2022). The Impacts of *Lactiplantibacillus plantarum* on the Functional Properties of Fermented Foods: A Review of Current Knowledge. *Microorganisms*, 10(4), 826. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040826>
- Yuan, S., Wang, Y., Zhao, F., & Kang, L. (2021). Complete Genome Sequence of *Weissella confusa* LM1 and Comparative Genomic Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.749218>
- Zahra, N. I., Songtipya, P., Songtipya, L., Prodpran, T., Sengsuk, T., & Utami, T. (2024). Xyloglucan based edible coating in combination with *Borassus flabellifer* seed coat extract for extending strawberry postharvest shelf life. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 285, 138288. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2024.138288>

Zamani-Zadeh, M., Soleimanian-zad, S., Sheikh-Zeinodinn, M., & Hossein Goli, S. (2014). Integration of *Lactobacillus plantarum* A7 with thyme and cumin essential oils as a potential biocontrol tool for gray mold rot on strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 149-156.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.01.019>

Zikmanis, P., Juhņeviča-Radenkova, K., Radenkovs, V., Segliņa, D., Krasnova, I., Kolesovs, S., Orlovskis, Z., Šilaks, A., & Semjonovs, P. (2021). Microbial Polymers in Edible Films and Coatings of Garden Berry and Grape: Current and Prospective Use. *Food And Bioprocess Technology*, 14(8), 1432-1445.
<https://doi.org/10.1007/s11947-021-02666-3>

Zivkovic, S., Stosic, S., Ristic, D., Vucurovic, I., & Stevanovic, M. (2019). Antagonistic potential of *Lactobacillus plantarum* against some postharvest pathogenic fungi. *Zbornik Matice Srpske Za Prirodne Nauke*, 136, 79–88.
<https://doi.org/10.2298/ZMSPN1936079Z>

Zhao, Y., Sun, J., Cherono, S., An, J., Allan, A. C., & Han, Y. (2023). Colorful hues: insight into the mechanisms of anthocyanin pigmentation in fruit. *PLANT PHYSIOLOGY*, 192(3), 1718-1732. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad160>

Zhao, S., Hao, X., Yang, F., Wang, Y., Fan, X., & Wang, Y. (2022). Antifungal Activity of *Lactobacillus plantarum* ZZUA493 and Its Application to Extend the Shelf Life of Chinese Steamed Buns. *Foods*, 11(2), 195.
<https://doi.org/10.3390/foods11020195>

<https://es.statista.com/estadisticas/635091/produccion-de-fruta-fresca-a-nivel-mundial-de-1990-a/#:~:text=Volumen%20de%20producci%C3%B3n%20global%20de%20fruta%202000%2D2022&text=En%202022%2C%20se%20produjeron%20a,de%20toneladas%20de%20fruta%20fresca.>