

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL**



**EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS NUTRICIONALES Y MICROBIOLOGICAS
DE LA PAPAYA (*Carica papaya L.*) DESHIDRATADA CON LA LEVADURA
*Candida guilliermondii***

PAOLA MOLINA VARGAS

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
Para optar por el título de**

MICROBIÓLOGA INDUSTRIAL

BOGOTÁ D. C.

2011

**EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS NUTRICIONALES Y MICROBIOLOGICAS
DE LA PAPAYA (*Carica papaya L.*) DESHIDRATADA CON LA LEVADURA
*Candida guilliermondii***

PAOLA MOLINA VARGAS

APROBADO

Janeth Arias Palacios MSc
Director(a) de Carrera

Dra. Ingrid Schuler PhD
Decana Académica

**EVALUACION DE LAS CARACTERISTICAS NUTRICIONALES Y MICROBIOLOGICAS
DE LA PAPAYA (*Carica papaya L.*) DESHIDRATADA CON LA LEVADURA
*Candida guilliermondii***

PAOLA MOLINA VARGAS

APROBADO

Gerardo Moreno MSc
Director

Janeth Arias Palacios MSc
Evaluador(a)

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Sólo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y porque las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vean en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”

Artículo 23, Resolución No. 13 de 1946

AGRADECIMIENTOS

- A mis papás y hermana por su apoyo incondicional durante todo este tiempo de formación.
- A María Teresa Mecon y a Yenny Dueñas por su ayuda durante la realización de este proyecto.
- A mi director Gerardo Moreno por brindarme su apoyo y dirección durante la investigación.

TABLA DE CONTENIDO

Resumen	1
Abstract	2
1. Introducción	3
2. Formulación del problema y Justificación	4
3. Marco Teórico	5
4. Objetivos	12
4.1 Objetivo General	12
4.2 Objetivos Específicos.....	12
5. Materiales y Métodos	13
5.1 Selección de la fruta.....	13
5.2 Acondicionamiento de la fruta.....	13
5.3 Rehidratación de <i>Candida guilliermondii</i>	13
5.4 Obtención de la concentración de <i>Candida guilliermondii</i>	13
5.5 Aplicación de la levadura.....	13
5.6 Análisis Proximal.....	14
5.7 Análisis Microbiológico.....	15
6. Resultados y Discusión	17
6.1 Descripción macroscópica y microscópica.....	17
6.2 Curva de crecimiento <i>Candida guilliermondii</i>	18
6.3 Análisis Proximal de <i>Carica papaya L.</i>	19
6.4 Pérdida de peso de <i>Carica papaya L.</i>	24
6.5 Análisis Microbiológicos.....	26
7. Conclusiones	28
8. Recomendaciones	28
9. Referencias Bibliográficas	29
10. Anexos	32

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: asimilación de diferentes carbohidratos <i>C.guilliermondii</i>	10
Tabla 2: Comportamiento cinético de la levadura <i>C.guilliermondii</i>	18
Tabla 3: Recuentos microbiológicos realizados a la papaya	27

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Características microscópicas <i>Candida guilliermondii</i>	16
Figura 2: Características macroscópicas <i>Candida guilliermondii</i>	17
Figura 3: Concentracion en g/L de <i>C.guilliermondii</i>	18
Figura 4: Coloracion de Gram de <i>C.guilliermondii</i>	18
Figura 5: Humedad de Carica papaya L. tratada con <i>C.guilliermondii</i>	19
Figura 6: Cenizas de Carica papaya L. tratada con <i>C.guilliermondii</i>	20
Figura 7: Extracto Etéreo de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C. guilliermondii</i>	21
Figura 8: Protéina Total de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C.guilliermondii</i>	22
Figura 9: Vitamina C de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C.guilliermondii</i>	22
Figura 10: Fibra de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C.guilliermondii</i>	23
Figura 11: Carbohidratos de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C.guilliermondii</i>	24
Figura 12: Pérdida de peso neto de <i>Carica papaya L.</i> tratada con <i>C.guilliermondii</i>	25
Figura 13 y 14: <i>Carica papaya L.</i> en diferentes tiempos de deshidratación.....	25

ANEXOS

ANEXO 1: Datos obtenidos durante los análisis proximales	32
---	----

RESUMEN

Para determinar el efecto de la levadura *Cándida guilliermondii* en el proceso de deshidratación de la papaya se llevaron a cabo cuatro etapas, siendo la primera la rehidratación de un vial liofilizado de la levadura *Cándida guilliermondii* para realizar la curva de crecimiento y determinar la concentración más adecuada para la aplicación en la papaya. En la segunda etapa se aplicó la solución de levadura en caldo YGC a la fruta previamente acondicionada en una proporción de 1ml por cada 50g de fruta, y se realizó un seguimiento de la masa de la fruta, durante un tiempo determinado, el cual fue de nueve días, este procedimiento se llevo a cabo una temperatura de 20°C aproximadamente. En la tercera etapa se efectuaron los análisis proximales de humedad, cenizas, extracto etéreo, fibra, carbohidratos y Vitamina C. Se finalizó con la última etapa, la cual consistió en la realización de los análisis microbiológicos mencionados a continuación, recuento de *E.coli*, coliformes totales mesófilos, hongos y levaduras. Los resultados obtenidos mostraron que la concentración de la levadura más adecuada fue de 10^8 cel/ml; los análisis proximales de la papaya mostraron que la humedad tuvo una disminución del 86,82% en el tiempo del ensayo, en cuanto al contenido de azúcar se encontró un incremento del 89,06%, el contenido de vitamina C, tuvo un incremento del 16,69% al finalizar el proceso; el contenido de fibra en la papaya se incremento un 10,52%; los resultados de proteína mostraron un incremento de 32,14%; el extracto etéreo tuvo un incremento del 7,69%; respecto al contenido de ceniza se incrementó un 26,41%. Finalmente los resultados de los recuentos microbiológicos en la papaya tratada con *C.guilliermondii* fueron: mesófilos, $39 \cdot 10^5$ UFC/g de muestra; coliformes $2 \cdot 10^2$ UFC/g de muestra, *E. coli* <100 UFC/g de muestra, por último el recuento de hongos y levaduras, fue de $28 \cdot 10^4$ UFC/g de muestra en el producto terminado, la muestra control presento alta contaminación en los recuentos microbiológicos así pues el recuento de microorganismos mesofilos fue de $68 \cdot 10^7$ microorganismos/g de muestra, hongos y levaduras >1600 microorganismos/g de muestra, coliformes totales $1 \cdot 10^1$ microorganismos/g de muestra, finalmente el recuento de *E.coli* presentó un recuento de <100 microorganismos/g de muestra. Se determinó que la aplicación de 1 ml de levadura con concentración de 10^8 cél/ml por cada 50 gr de fruto de papaya madura genera una pérdida de peso del 55,58% en el sexto día de tratamiento, y de 5,58 al noveno día.

ABSTRACT

To determine the effect of the yeast *Candida guilliermondii* in the dehydration process is conducted papaya four stages, the first rehydrating a lyophilized vial of *Candida guilliermondii* yeast for the growth curve and determine the most suitable concentration for application in papaya. In the second stage applied in the yeast YGC broth solution to fruit previously conditioned at a rate of 1ml per 50g of fruit, and were followed by the mass of the fruit, during a certain time, which was nine days, this procedure was carried out at 20°C approximately. In the third stage, the analysis proximal moisture, ash, crude fat, fiber, carbohydrates and vitamin C. It ended with the last stage, which consisted of performing microbiological analyzes listed below *E.coli* count, total coliforms mesophilic fungi and yeasts. The results showed that the concentration of the most suitable yeast was 10^8 cells/ml, the proximal papaya analysis showed that the moisture had a 86.82% decrease in the time of the trial, in terms of sugar content found an increase of 89.06%, the content of vitamin C, had an increase of 16.69% at the end of the process, the fiber content in papaya had an increase of 10.52%; results showed increased protein of 32.14%, the ethereal extract was an increase of 7.69%; with respect to ash content increased by 26.41%. Finally the results of microbiological counts in papaya *C.guilliermondii* treated were: mesophilic, 39×10^5 CFU/g of sample; coliform 2×10^2 CFU/g of sample *E. coli* <100 CFU/g of sample, finally counting fungi and yeasts, was 28×10^4 CFU/g of sample in the finished product, the control sample showed high contamination in microbiological counts, so count mesophilic microorganisms was 68×10^7 microorganisms/g sample, fungi and yeasts >1600 cells/g of sample 1×10^1 microorganisms total coliforms/g sample, finally introduced *E.coli* had a count of <100 cells/g of sample. It was determined that the application of 1 ml of yeast concentration of 10^8 cells/ml per 50 g of mature papaya fruit produces a weight loss of 55.58% on the sixth day of treatment, and the ninth day 5.58%.

1. INTRODUCCIÓN

La papaya es una fruta originaria de las regiones del centro y el sur de América, y en Colombia, la cosecha de variedad Maradol se encuentra ubicada en zonas de la costa Atlántica, Meta, Santander, Tolima, Huila y Valle del Cauca. (Bohórquez, 2008). *Carica papaya L.* es una fruta con un elevado contenido de agua, cerca del 86%, fuente rica en vitaminas A y C, los carbohidratos presentes constituyen cerca de un 12% de su masa, el contenido de minerales como fósforo, calcio, hierro entre otros, es bajo. (Riviera, 2004) Otra de las características nutricionales importantes es la presencia de la papaína la cual es una enzima tipo proteasa muy usada en la industria de alimentos, ya que su consumo facilita la digestión en personas que no pueden digerir un alimento con alto contenido de proteína. (González, 2008).

La levadura *Cándida guilliermondii*, es una cepa no patógena aislada de tomates heteroinjertados cultivados de forma orgánica, que asimila gran parte de los carbohidratos, y a partir de estos genera compuestos como el acetato de etilo xilitol y alcoholes. Es por esto que desde el año 2000 se han realizado estudios en la Unidad de investigaciones Agropecuarias UNIDIA con *Cándida guilliermondii*, demostrando que este microorganismo, además de deshidratar diferentes frutos como banano, manzana, tomate, mango, uchuva y piña en un corto tiempo, también presenta la capacidad de realizar control biológico frente a microorganismos fitopatógenos (Arbeláez y Forero, 2010; Buitrago, 2009; Ortigón, Ramírez, 2000)

En esta investigación se busca estudiar si el uso de la levadura *Cándida guilliermondii*, sobre frutos maduros de papaya afecta o no las características nutricionales; de igual forma se pretende obtener un producto libre de contaminación que puedan afectar la vida útil y la calidad del producto obtenido.

2. FORMULACION DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACION

2.1 Pregunta de Investigación

¿Cuál es el efecto de la levadura *Cándida guilliermondii*, sobre las características nutricionales de la papaya madura?

2.2 Justificación

La papaya es una de las frutas de mayor consumo en el país, esto se debe a sus propiedades digestivas; sin embargo es una de las frutas más difíciles de conservación debido a su fácil descomposición (Duque, 2003). Razón por la cual se han desarrollado procesos para alargar la vida útil de esta fruta, la deshidratación brinda la posibilidad de que la papaya se conserve por más tiempo, no obstante algunos de los métodos más usados para deshidratar son a su vez los más costosos.

Con el desarrollo de la investigación que se propone, se pretende conocer, las posibles variaciones generadas por la levadura *Cándida guilliermondii* al ser aplicada sobre frutos maduros de papaya en lo referente a las características nutricionales ya que en estudios adelantados por la Unidad de Investigaciones Agropecuarias (UNIDIA), con otras frutas que poseen menor contenido de humedad como la Uchuva (Arbeláez, 2010) y el banano (Buitrago, 2009), los valores correspondientes al porcentaje de proteína, vitamina y carbohidratos, se incrementaban luego de ser tratadas con *Cándida guilliermondii*. En cuanto a las características microbiológicas se busca obtener un alimento inocuo, libre de microorganismos que puedan alterar la calidad y estabilidad.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 El Papayo

“Es una planta originaria de América Central y parte de América del Sur y los primeros reportes sobre el avistamiento de esta fruta datan de 1535 cuando el cronista español Oviedo relato que habían papayas creciendo en el sur de México y Nicaragua, siendo rápidamente distribuida en los países del trópico llegando hasta Asia y África. En cuanto a las condiciones de crecimiento, requiere temperaturas entre los 20°C y los 30°C y no resiste temperaturas inferiores a 15°C (Oliveira, 2011), su ciclo de vida es corto (no más de 3 años); necesita grandes cantidades de luz para su desarrollo, un buen drenaje, pH cercano a la neutralidad (6-7), y requiere grandes cantidades de agua durante su periodo de crecimiento, siendo necesario realizar riego semanalmente. Según el lugar de origen y las condiciones del clima existen diferentes variedades como: Solo (Hawaiano), Sunrise, Sunset y Maradol”. (Arango, 2000)

3.2 Taxonomía

El papayo es una planta dicotiledónea, perteneciente a la familia Caricaceae, de la cual hacen parte 4 géneros con 71 especies, siendo el más conocido *Carica* por ser nativo de América Central y la zona Noroccidental de América del Sur (valle húmedo de los Andes). En Colombia el género más cultivado es *Carica papaya* con sus variedades silvestres o papayuelos como: *Carica cundinamarcensis* o “chamburo”, *Carica quodotiana* o “papayuelo”, *Carica cauliflora* (Solórzano, 2002) *Carica pentágona* es un híbrido que no produce semillas, su corteza es brillante de color verde-amarillo, es muy jugosa y ligeramente acida que se puede consumir en fruta fresca o procesada (Arango, 2000).

3.3 Morfología del Papayo

Raíz: La raíz principal es desarrollada y ramificada en forma radial y puede crecer hasta 1.5 metros de profundidad, dependiendo de las limitaciones físicas ó químicas del suelo donde se siembre (Arango, 2000).

Tallo: El tallo generalmente es único, no ramificado, y puede alcanzar alturas hasta de 12 metros. Con el paso de los años el tronco tiende a volverse más fibroso y hueco; a medida que envejece va tomando una coloración gris (Arango, 2000).

Hojas: Las hojas son de tallos largos y huecos; de color verde, morado o una combinación de estos dos colores; la hoja es grande, gruesa, de forma palmeada, el haz es de color verde oscuro, lampiño; el envés es más claro y en él se observan las salientes protuberantes. Las hojas aparecen en forma alterna a lo largo del tallo; una cada cuatro días aproximadamente, para un total de 100 hojas por año. (Arango, 2000)

“Flores: Las flores nacen en la unión de cada hoja y pueden tener pistilos, estambre o ambas, dando lugar a plantas femeninas, masculinas o hermafroditas, respectivamente”. (Arango, 2000)

“Flor Masculina: La flor es pequeña de forma tubular con cinco pétalos color blanco-cremoso y alargado. Esta flor no produce frutos, aunque algunas flores terminales del racimo pueden desarrollar un pistilo y por esta razón se pueden encontrar plantas machos produciendo frutos que por lo general son deformes, alargados o curvados y de mala calidad”. (Arango, 2000)

“Flor Femenina: Son flores grandes de forma acampanada; posee cinco pétalos grandes, de color blanco-cremoso. En su interior posee una gran cantidad de óvulos de placentación parietal. Carece de estambres y órganos masculinos por lo que necesita para ser polinizada de plantas masculinas o hermafroditas. Esta flor produce frutos globosos”. (Arango, 2000)

“Flor Hermafrodita: Se diferencia de la flor hembra en su forma, ya que presenta un cuello por encima de su base, aunque, dependiendo del tipo de flor, también puede ser acampanada”. (Arango, 2000)

3.4 *Carica papaya* L. Variedad *Maradol*

El origen de esta variedad se da en el año de 1956 mediante autopolinización, proceso que logro disminuir el tamaño del fruto, mejorar los rendimientos y aumentar la vida en anaquel. El nombre de esta variedad se debe a la combinación de los nombres del creador y su esposa “María y Rodolfo”. (Solorzano, 2002)

3.5. Características nutricionales de *Carica papaya* L.

3.5.1 Agua: La papaya es una de las frutas con mayor contenido de agua, aproximadamente un 88% del peso de la papaya es agua, razón por la cual el valor energético es tan bajo (USDA, 2011).

3.5.2 Carbohidratos: El contenido de azúcares presentes en esta fruta es relativamente bajo, aproximadamente el 12% del peso corresponde a azúcares como glucosa, sacarosa y fructosa, variando la cantidad de cada uno de éstos. Según la etapa en la que se encuentre ya que en la primera etapa se encuentra más cantidad de glucosa, y cuando el fruto alcanza su madurez están presentes los otros azúcares (fructosa y sacarosa) (Oliveira, 2011).

3.5.3 Fibra: La fibra que contiene la papaya se conoce como fibra dietaria, siendo la más importante la fibra soluble porque se encuentra en mayor cantidad en la papaya, y está compuesta de pectina y gomas que, cuando se solubilizan en agua, y por tanto la viscosidad aumenta. “El contenido de fibra esta alrededor de 1.7g por cada 100g de papaya”. (Escudero, 2002). Cabe aclarar que las fibras sólo son asimiladas por el

organismo en un 50% por procesos de degradación como la fermentación, y el 50% restante es eliminado en las heces.

3.5.4 Minerales: Los principales minerales que se encuentran en la papaya de importancia nutricional son el Potasio (K), Magnesio (Mg) y Calcio (Ca), los cuales se ha demostrado que juegan un papel importante en el mantenimiento de una tolerancia normal a la glucosa, además de ser los encargados de la liberación de la insulina desde la células beta hacia los islotes pancreáticos o de Langerhans (Oloyede, 2005). Las cantidades aproximadas de minerales son: potasio 182mg/100g, Magnesio 21mg/100g y Calcio 20mg/100g (USDA 2011)

3.5.5 Vitaminas: La papaya es una fruta muy rica en vitaminas, sobresaliendo la provitamina A, el cual es un compuesto liposoluble que se transforma en Vitamina A, y le brinda a la papaya una gran pigmentación de color naranja (Rodriguez,1997). En cuanto a la vitamina C también presente en esta fruta, es un compuesto hidrosoluble que no puede ser sintetizada por el organismo y por lo tanto esta se debe suministrar en dosis diarias por ser esencial para el funcionamiento del sistema inmunológico. “La cantidad de esta vitamina en papaya es de 60.9mg/100g”. (<http://www.vitabasix.com/es/vitaminas-suplementos-nutricionales/vitamina-c/vitamina-c-descripcion-del-producto.html#c5677>).

3.5.6 Grasa y Proteínas: El contenido de grasa en la papaya es aproximadamente 0.1g por cada 100 g de fruta lo cual hace que sea una fruta apta y recomendada para las personas que deseen perder peso. (Kishna, 2008) En cuanto a las proteínas, la más importante es la papaína la cual se extrae de la corteza de los frutos verdes, y de los frutos maduros se extrae de la pulpa. Esta enzima es una proteasa parecida a la pepsina la cual hidroliza los enlaces de las proteínas haciendo más fácil su degradación. La cantidad de proteínas en papaya es de 0.47/100g de fruta (Oliveira, 2011).

La papaya ofrece una gran posibilidad para la elaboración de productos industrializados como mermeladas, deshidratados, pulpa, compota, materia prima para la alimentación de animales, enlatados, obtención de látex, entre otros. (Krishna, 2008)

3.6 Levaduras

Las levaduras son células de gran tamaño comparándolas con las bacterias, lo cual permite diferenciarlas por la presencia de estructuras intracelulares como núcleo, citoplasma, pared celular, membrana citoplasmática, además está rodeada de una capa de celulosa. La membrana plasmática es semipermeable por lo tanto permite la salida de desechos celulares, y el ingreso de compuestos nutritivos para la misma. (Vargas L, 2002).

“La mayoría de las levaduras crecen en medios en donde la disponibilidad de agua (a_w) es alta 0.88 – 0.94 (Stewart Russel 1991); sin embargo las levaduras osmofílicas crecen en un a_w de 0.78, por lo que cada levadura tiene sus rangos de crecimiento óptimo. En cuanto a la temperatura, las levaduras crecen en un intervalo de 25°C a 30°C; el pH en el

que se favorece su crecimiento es el ácido generalmente va de 3.8 a 5; en cuanto a las condiciones de oxígeno pueden haber levaduras aerobias estrictas y facultativas las cuales toleran condiciones de anaerobiosis". (Tortora, 2007)

3.6.1 Género *Cándida*

"Pertenece a la clase *Blastomycetes* que comprende a las levaduras imperfectas (asexuales), se considera un taxón heterogéneo que puede dividirse en 40 secciones que comprenden tres grupos principales basados principalmente en la composición de los ácidos grasos y en el cariotipado electroforético. Forma hifas verdaderas o falsas con abundantes células en gemación o blastoporas, y pueden formar clamidosporas" (Pelczar, 1994).

Este género abarca más de 160 especies, de las cuales se consideran que solo 18 son patógenas, una característica en común es la ausencia de una forma sexual, estas levaduras se reproducen por gemación. Poseen metabolismos oxidativo y fermentativo, y en ciertas condiciones especiales del cultivo desarrollan pseudomicelio (López, *et al.* 2005).

Por otra parte, no todas las cepas de una misma especie presentan igual capacidad patogénica. Otras especies de *Cándida* causan algunas infecciones, pero la debilidad del huésped debe ser muy marcada para permitir que estos microorganismos menos virulentos lo invadan. Dado que muchas de las especies de *Cándida* clínicamente relevantes son anamorfas y carecen de características sexuales, que son las principales características morfológicas en que se basa la clasificación de hongos, la taxonomía de este grupo heterogéneo de levaduras en base a características morfológicas es subjetiva. (López, *et al.* 2005).

Las levaduras originarias del género *Cándida* además de ser los microorganismos de mayor propagación presentan la mejor capacidad para metabolizar la xilosa, un compuesto no tóxico, que se constituye en el principal sustrato para la producción de xilitol, un edulcorante natural que se usa como sustituto del azúcar en la industria de alimentos, farmacéutica y en productos de salud oral.

3.6.2 *Cándida guilliermondii*

C. guilliermondii, es la parte asexual de la especie *Pichia guilliermondii*. Esta especie es heterotálica y sólo las formas haploides se han aislado. A raíz del apareamiento de los tipos de apareamiento complementarios, de los ascos resultantes, se pueden producir hasta cuatro ascosporas en forma de sombrero, y las esporas son liberadas poco después de la formación (Kurtzman y Fell. 1998). Este género de levaduras no son capaces de realizar completamente el ciclo de reproducción sexual, por lo que se reproducen asexualmente por gemación y sexualmente mediante ascosporas o basidiosporas. Durante la reproducción asexual, una nueva yema surge de la levadura

madre cuando se dan las condiciones adecuadas, tras lo cual la yema se separa de la madre al alcanzar un tamaño adulto (Romano et al, 2007).

La actividad metabólica de esta levadura se ha investigado hasta la fecha en otras frutas como la uchuva, manzana, mango, piña y banano; y metabólicamente se ha reportado que no consume almidón. Actualmente se encuentran los reportes de los diferentes estudios hechos por la Pontificia Universidad Javeriana sobre la deshidratación de frutos a partir de *C. guilliermondii*, pero no hay bibliografía reportada en bases de datos que cite la deshidratación de los frutos y la producción del acetato de etilo en tomate.

Historia de *Cándida guilliermondii* en la Universidad Javeriana

- Año 2000. Se aisló la levadura encontrada en frutos de tomates Heteroinjertados (HIB), la cual retardaba la pudrición del mismo, y se encontró que esta era el único microorganismo presente en el interior del fruto del tomate y se clasificó dentro del género de *Cándida* y la especie *Cándida incospicua* (Ortegón y Ramírez, 2000).
- Año 2001. Se encontró que la levadura era antagonista de microorganismos presentes en el medio ambiente encontrados en uchuva en descomposición (Romero, 2001).
- Año 2003. Se estableció una curva de crecimiento de la levadura y los medios de cultivo adecuados al crecimiento (Vargas, 2002).
- Año 2003. Se le realizó una cromatografía líquida en donde se determinó la presencia de alcoholes y varios compuestos químicos que usaba la levadura para deshidratar el fruto, y entre los más abundantes estaba el acetato de etilo, seguido por el xilitol (Albarracín y Barreto, 2003).
- Año 2008, Se realizó una reclasificación de la especie, obteniendo la nueva clasificación de la levadura *Cándida guilliermondii*, con un 99,7% de certeza generado por Api 20C AUX, además se encontró que era capaz de atravesar la corteza del banano (Escobar y Buitrago, 2008).
- Año 2009. Se obtuvo que la levadura era capaz de atravesar en corto tiempo la corteza del banano maduro y así mismo se determinó cuál era la concentración más eficiente para obtener en menor tiempo una deshidratación (Rubiano, 2009) (Pardo y Rubio, 2009).
- Año 2010. Se realizó la aplicación de la levadura *Cándida guilliermondii* en uchuva. (Arbeláez y Forero, 2010)
- Año 2011. Se realizaron pruebas de antagonismo en la leche de la levadura *Cándida guilliermondii* frente a bacterias ácido lácticas para la posible realización de un yogurt. (Barrientos, 2011).
- Año 2011. Se realizaron varias pruebas moleculares para determinar algunas de las características genéticas de la levadura *Cándida guilliermondii*

3.6.3 Metabolismo

En estudios anteriores se realizó la identificación de la levadura *Cándida guilliermondii* por medio de API 20C aux, donde se evidenció la asimilación de los siguientes carbohidratos.

Tabla 1: Resultados de la asimilación de diferentes carbohidratos por parte de *C. guilliermondii*

Azúcar	Abreviación API 20 C	Asimilación
Glucosa	GLU	+
Glicerol	GLY	+
2 Keto-D-Gluconato	2KG	+
L-Arabinosa	ARA	+
D-Xilosa	XYL	+
Adonitol	ADO	+
Xilitol	XLT	+
Galactosa	GAL	+
Inositol	INO	-
Sorbitol	SOR	+
α Metil-D-Glucósido	MDG	+
N-Acetil-D-Glucosamina	NAG	+
Celobiosa	CEL	+
Lactosa	LAC	-
Maltosa	MAL	+
Sacarosa/Sucrosa	SAC	+
Trealosa	TRE	+
Melezitosa	MLZ	+
Rafinosa	RAF	+

Tomado de: Vargas, 2002

En diferentes estudios realizados en la Pontificia Universidad Javeriana, se ha demostrado que la levadura *Candida guilliermondii* produce alcoholes los cuales se han analizado química y Bioquímicamente en tejidos vegetales, encontrando que estos alcoholes son capaces de retener e hidrolizar el agua presente en los tejidos razón por la cual hay deshidratación. (Buitrago, Escobar, 2009).

3.7 Microorganismos Indicadores de Calidad en Alimentos

Los alimentos pueden ser susceptibles a contaminación ya sea física o químicamente, adicionalmente pueden sufrir deterioro causado por microorganismos como bacterias hongos entre otros, lo que conlleva a tener un mayor control sobre las diferentes etapas de producción es decir desde el momento de la cosecha hasta que el producto llegue al consumidor (Soto, 1995).

La inocuidad en alimentos es la garantía en cuanto a que los alimentos no causaran daños al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo al uso al que se destinen (Decreto 60, 2002).

Para garantizar adecuadamente la inocuidad de un alimento se tienen en cuenta entre muchas cosas el recuento de microorganismos indicadores, los cuales son empleados para reflejar la calidad microbiológica de los alimentos es decir que no haya presencia de microorganismos potencialmente patógenos (Arango, 2007). A continuación se describen algunos de los microorganismos indicadores más relevantes.

Bacterias Mesófilas aerobias: Este grupo indica la vida útil que pueda tener la materia prima, de tal forma que cuando hay un recuento elevado de mesófilos aerobios esto indica la mala calidad higiénica de la materia prima. En alimentos deshidratados indican el control sanitario ejercido durante el proceso (Duran, 1999).

Coliformes Totales: Este grupo comprende varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae* la cual se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, agua y el suelo; la presencia de este grupo de microorganismos es signo de mala calidad higiénica durante el proceso, y la recontaminación después del proceso (Carrascal, 2009).

Escherichia coli: Bacteria perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* habitante normal del tracto intestinal de los animales de sangre caliente incluido el hombre. Su presencia en los alimentos indica contaminación de tipo fecal. (Doyle *et al*, 2001).

Hongos y Levaduras: Este grupo de microorganismos se caracterizan por crecer en alimentos los cuales presentan una acidez elevada y el contenido de agua es elevado, características en las cuales la mayoría de las bacterias no pueden crecer. Su importancia radica en que algunos hongos pueden producir sustancias tóxicas conocidas como micotoxinas, las cuales pueden dañar el alimento; por otra parte las levaduras, estas pueden causar alteraciones en las características organolépticas del alimento (Orbera, 2004).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar las características nutricionales y microbiológicas de la papaya (*Carica papaya L.*) deshidratada con la levadura *Cándida guilliermondii*.

4.2 Objetivos Específicos

- Determinar los valores nutricionales y la variaciones de peso de *Carica papaya L* madura tratada con *Cándida guilliermondii*.
- Establecer la carga microbiológica *Carica papaya L* madura tratada con la levadura *Cándida guilliermondii*.

5. MATERIALES Y METODOS

PAPAYA

5.1 Selección de la fruta

Para la selección de una papaya de calidad se tienen en cuenta parámetros de calidad como: “uniformidad de tamaño (diámetro y largo), y de color; ausencia de daño por insectos, golpes, pudriciones, cicatrices externas, abrasiones de cáscara, y daños provocados por microorganismos” (Elizondo, 2006).

5.2 Acondicionamiento de la fruta

Para la preparación de la papaya, se procedió a retirar la corteza y semillas con los utensilios correspondientes, previamente desinfectados; posteriormente, se realizaron cortes en forma de cubos de aproximadamente 1,5cm, los cuales se ubicaron en un recipiente plástico evitando cualquier contacto entre cubos de papaya.

*Levadura *Cándida guilliermondii**

5.3 Rehidratación de la levadura *Cándida guilliermondii*

La cepa de la levadura utilizada para este estudio fue tomada de una muestra liofilizada obtenida en estudios previos en el segundo semestre de 2010. Para la rehidratación de la levadura se inyectaron 2,5ml de Caldo YGC (Extracto de levadura 5g/L; D (+) Glucosa 20g/L; Cloranfenicol 0,1g/L) al vial liofilizado directamente, esta mezcla se dejó a 21°C por 10 minutos, pasado este tiempo la mezcla se agregó a un erlenmeyer de 100ml que contenía 25ml de Caldo YGC y se llevó a agitación a 150rpm a 27°C +/- 2°C.

5.4 Obtención de la concentración de *Cándida guilliermondii*

Con el fin de obtener la concentración deseada de *Cándida guilliermondii*, se realizó la curva de crecimiento en un erlenmeyer de 500ml en donde se adicionaron 225 ml de caldo YGC y 25 ml de pre-inoculo anteriormente preparado, y se incubó a 27°C +/- 2°C y 150rpm durante 12 horas, en paralelo se realizaron muestreos de 4ml cada 2 horas en el cual se determinó la pureza del cultivo de levadura mediante coloración de Gram; para establecer la concentración se realizaron los siguientes procedimientos: espectrofotometría con lectura a 620nm, y recuento en cámara de Neubauer hasta la obtención de una concentración de 10⁸ células/ml. Una vez se logró dicha concentración los erlenmeyer fueron refrigerados inmediatamente (Buitrago *et al*, 2009).

5.5 APLICACIÓN DE LA LEVADURA

Papaya con levadura

Los cubos cortados anteriormente se dispusieron en bandejas de plástico con aproximadamente 300g de papaya cada una, posteriormente las bandejas se rotularon con los días del ensayo (0, 3, 6 y 9 días). Cada día tenía 3 réplicas, a cada una de las bandejas se les aplicó 6ml de suspensión de levadura con una concentración de 10⁸ cél/ml mediante aspersión; terminado este paso se procedió a girar cada uno de los cubos con el fin de favorecer la aireación de cada lado de la fruta y así evitar una posible

contaminación externa. De cada día de ensayo se tomó una cantidad de 50g para realizar los análisis proximales; adicionalmente el último día se tomaron 50g para la realización de los análisis microbiológicos. El control de la masa de la fruta se llevó a cabo cada tercer día, en el cual la totalidad de los cubos fueron pesados, para observar los posibles cambios presentados.

Papaya sin levadura (control)

Para la realización de los controles, se tomaron 3 bandejas plásticas, cada una con 250g de papaya cortada en cubos, los cuales se dispusieron de tal forma que no hubiera contacto entre ellos, estas bandejas fueron puestas en un lugar diferente al de las bandejas con levadura, para evitar cualquier tipo de contaminación. Se dejaron a temperatura ambiente (20°C - 25°C) hasta completar los 9 días del ensayo, siguiendo el proceso de deshidratación de forma natural. Al igual que los cubos con levadura, el control de masa se realizó cada tercer día, en la cual la totalidad de los cubos fueron pesados, con observación de posibles cambios.

5.6 Análisis Proximal

Estas pruebas tienen como objetivo determinar el porcentaje de humedad, extracto etéreo, proteína bruta, fibra cruda, cenizas, y Vitamina C presentes en la papaya. Para la elaboración de estos análisis se procederá de acuerdo a los procedimientos de Official Methods of Analysis. (A.O.A.C.) de la siguiente manera:

- **Humedad:** De acuerdo a la A.O.A.C. 934.06, se pesaron 10g de la muestra, los cuales fueron dispuestas en una capsula para luego introducirlas en un horno de secado por 6 horas a 70°C±1°C, hasta alcanzar peso constante, posteriormente las muestras son introducidas en un desecador por 5 minutos hasta bajar la temperatura de las muestras. Finalmente las muestras fueron pesadas nuevamente para obtener el peso final.

Extracto etéreo: Se procedió de acuerdo al método de la A.O.A.C. 7.060/84,920.39/90 adaptado, en el cual, de la muestra seca resultante de la prueba de humedad se pesaron 2g, y fueron puestos en papel filtro y después en un dedal de extracción, y dicha extracción se realizó con hexano tipo reactivo. Al finalizar este paso se sacó la muestra y se colocó un dedal de recuperación para el hexano. Cuando la totalidad del éter se recuperó, el residuo sobrante en el vaso, fue la cantidad de grasa que poseía la papaya.

- **Proteína total:** Se procedió de acuerdo al Método de Kjeldhal-Gunning-Arnold, adaptado de Griffin 1955. Este procedimiento se llevó a cabo en 3 etapas, digestión, destilación y valoración. En la primera etapa se pesaron 2g de la muestra, 0.8g de mezcla catalizadora de Kjeldhal y 10ml de H₂SO₄ (98% de pureza), los cuales se adicionaron en un matraz de digestión que se puso a calentar en un digestor, donde la temperatura va aumentando a medida que la muestra lo requiera; esperando destruir la materia orgánica presente en la fruta, esto se evidencia por el cambio de color (negro-dorado claro).

En la etapa de destilación, la muestra obtenida anteriormente 15ml se pasó por un destilador con 15 ml de NaOH al 40%, paralelamente se tenía un beaker de 50ml con 10ml de Acido Bórico y 3 gotas de indicador de Tashiro, el beaker se colocó al

final del equipo para recoger las gotas del destilado, cuando el color cambia a un azul aguamarina se detiene el proceso. Finalmente en la etapa de valoración se tomó una bureta la cual se llenó con HCl al 0.01N; y la solución obtenida en el destilador fue titulada con ese ácido, lo que se esperaba es que el color virara nuevamente al color azul oscuro inicial antes de la destilación.

- **Fibra:** Se procedió de acuerdo al método de la A.O.A.C 7.066/84, 962.09/90 adaptado. En este se tomaron 2g aproximadamente de muestra proveniente de la prueba de extracto etéreo, y se mezclaron con 100ml de H₂SO₄ y de 3 a 4 gotas de alcohol isoamilico en un vaso de digestión, el cual se conectó al condensador y se dejó calentar hasta ebullición por 30 minutos, pasado este tiempo se procedió a retirar el vaso para después filtrar el contenido al vacío, se realizó el mismo procedimiento mencionado anteriormente, pero en esta ocasión se utilizó NaOH caliente y nuevamente de 3 a 4 gotas de alcohol isoamilico.

Posteriormente Se conectó al condensador nuevamente y bajo reflujo se dejó hasta ebullición por 30 minutos, pasado el tiempo se retiró el vaso y se filtró el contenido, para luego pasar el filtrado a un crisol previamente pesado y este se dejó por un tiempo de 12 horas en un horno a 110°C, tiempo después del cual se dejó enfriar y se pesó, para finalmente calcinar en mufla a 600°C para destruir la materia orgánica que pueda interferir con el resultado.

- **Cenizas:** Para el análisis de cenizas se procedió de acuerdo al método de la A.O.A.C.7.009/84, 942.05/90 adaptado, en el cual se pesaron 2g de muestra, y se pasaron a un cápsula previamente pesada, y esta se llevó a una mufla para su calcinación a 500°C por 2 horas, al finalizar el tiempo se retiró de la mufla y se dejó enfriar en desecador para posteriormente pesar.
- **Determinación de Vitamina C:** se procederá de acuerdo al Método Colorimétrico de la 2-Nitroanilina. Estandarizado en el Depto. de Química de la Universidad Nacional. Bogotá. Silva M.I.; López E. Tomado de Stroberker. Para este método primero se preparó el extracto problema, el cual se realizó con Ácido oxálico y se dejó al ambiente hasta su uso. Se procedió a construir la curva de calibración de 2-nitroanilina, con la muestra problema para hallar la concentración de ácido ascórbico. Esta técnica tiene como fundamento el ácido ascórbico tratado con 2-nitroanilina diazotada pasa a 2-nitrofenilhidrazida del ácido el cual en presencia de un exceso de NaOH forma una sal sódica de color rojo- violeta que tiene un máximo de absorción de 540nm.

5.7 Análisis Microbiológico

Mesófilos aerobios: Se pesarán 10 g de la papaya deshidratada y se llevarán a un frasco que contenga 90 ml de agua peptonada, se homogenizará para después realizar las diluciones de la siguiente manera; se transferirá 1ml de la dilución 10⁻¹ (obtenida anteriormente), a un tubo que contenía 9 ml de agua peptonada para obtener la dilución 10⁻², con otra pipeta se volvió a transferir 1ml de la dilución 10⁻² a un tubo que contenga 9ml de agua peptonada (diluyente) para obtener la dilución 10⁻³, este proceso se repitió hasta llegar a la dilución 10⁻⁵. Finalmente se procedió a sembrar en profundidad por duplicado 1 ml de las últimas 3 diluciones inmediatamente después se adicionarán de 15 a 20 ml del Agar Plate Count fundido el cual debe estar a 45°C aprox, las cajas de petri con el medio se mezclarán y se dejarán solidificar, para llevar a incubación a 35°C por 48

horas, pasado este tiempo se procederá a realizar el recuento de las cajas que contengan de 30 a 300 colonias.

Hongos y Levaduras: Se pesarán 10 g de la papaya deshidratada y se llevaran a un frasco que contenga 90 ml de agua peptonada, se homogenizará para después realizar las diluciones de la siguiente manera; se transferirá 1ml de la dilución 10^{-1} (obtenida anteriormente), a un tubo que contenga 9 ml de agua peptonada para obtener la dilución 10^{-2} , con otra pipeta se volvió a transferir 1ml de la dilución 10^{-2} a un tubo que contenga 9ml de agua peptonada (diluyente) para obtener la dilución 10^{-3} este proceso se repitió hasta llegar a la dilución 10^{-5} . Finalmente se procedió a sembrar en profundidad por duplicado 1 ml de las últimas 3 diluciones inmediatamente después se adicionarán de 15 a 20 ml del Agar OGY (Oxitetraciclina Glucosa Extracto de Levadura) fundido el cual debe estar a 45°C aprox, las cajas de petri con el medio se mezclarán y se dejaran solidificar, para llevar a incubación a 25°C por 5 días, pasado este tiempo se procederá a realizar el recuento de las cajas que contengan de 15 a 200 colonias.

Coliformes y *E.coli*: Se pesarán 10 g de la papaya deshidratada y se llevaran a un frasco que contenga 90 ml de agua peptonada, se homogenizará para después realizar las diluciones de la siguiente manera; se transferirá 1ml de la dilución 10^{-1} (obtenida anteriormente), a un tubo que contenga 9 ml de agua peptonada para obtener la dilución 10^{-2} , con otra pipeta se volvió a transferir 1ml de la dilución 10^{-2} a un tubo que contenga 9ml de agua peptonada (diluyente) para obtener la dilución 10^{-3} este proceso se repitió hasta llegar a la dilución 10^{-5} . Finalmente se procedió a sembrar en profundidad por duplicado 1 ml de las últimas 3 diluciones inmediatamente después se adicionarán de 15 a 20 ml del Agar cromógeno Chromocult fundido el cual debe estar a 45°C aprox, las cajas de petri con el medio se mezclarán y se dejaran solidificar, para llevar a incubación a 35°C por 24-48 horas, pasado este tiempo se procederá a realizar el recuento de las cajas que contengan de 20 a 200. Las colonias de color rojo indicaran la presencia de Coliformes, mientras que las colonias con un color azul oscuro indicaran la presencia de *E.coli*.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Descripción microscópica y macroscópica

A partir de las cajas de medio YGC se realizó la coloración de Gram, en el cual se identificaron células de forma ovalada, Gram positivas debido a que la pared celular gruesa permite la retención de complejo cristal violeta – yodo Figura (1)

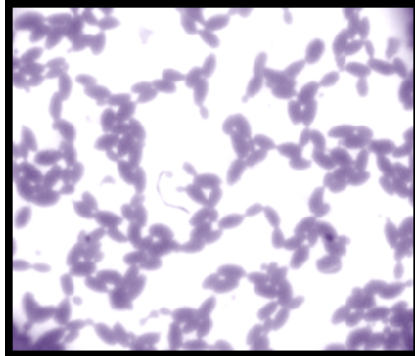


Fig. 1: Características microscópicas de *C. guilliermondii*, tinción de Gram.

Las colonias en el medio YGC se observaron de un color blanco cremoso, lisas redondas, el crecimiento de *C. guilliermondii* se favoreció en este medio ya que contiene un alto contenido de glucosa como fuente de carbono y extracto de levadura como fuente de nitrógeno, además la adición de cloranfenicol evita la contaminación de bacterias Figura 2



Fig. 2. Características macroscópicas de *C. guilliermondii* en agar YGC

6.2. Curva de crecimiento de *C. guilliermondii*

Para poder determinar la concentración (g/L) en cada muestreo de la curva de crecimiento, se tuvo en cuenta el estudio de Buitrago y colaboradores, 2009 quienes

realizaron la curva patrón de peso seco de *C. guilliermondii* bajo las mismas condiciones del estudio. La ecuación determinada fue

$$Y=0,2584x + 0.0401$$

Buitrago *et-al*, 2009

Donde Y es la ABS a 620 nm, X es la concentración (g/L), 0,0401 es el punto intercepto de la curva, por último 0,2584 es la pendiente de la curva.

En la figura 3 se observa la fase de adaptación de la levadura, en donde se observa que hubo un aumento muy lento de biomasa, esto como consecuencia de la readaptación de la levadura a una nueva concentración de medio, de igual forma la concentración en g/L también tuvo un aumento leve, ya que esta va relacionada a la biomasa formada.

A partir de la hora 4 se observa como la biomasa empieza a tener un aumento debido al consumo de los nutrientes del medio YGC. La concentración más elevada de la levadura empezó desde la hora 8 hasta la hora 12 tiempo después del cual se detuvo el proceso mediante la refrigeración. (Tabla 2).

Se determinó que la mejor hora para tomar el inóculo fue a la hora 8 ya que se pretendía que la concentración de levadura estuviera lo suficientemente alta como para que al adicionarla a la papaya esta pudiera crecer rápidamente, mientras si se hace a una concentración muy alta las levaduras podrían estar en fase estacionaria o muertas y esto afectaría la deshidratación de la papaya.

Tabla 2: Comportamiento cinético de la levadura *C. guilliermondii* trascurridas 12 horas.

Tiempo	Abs 620 nm	Células/ml	X g/L
0	0,042	2,10E+06	0,0422
1	0,152	2,50E+06	0,1547
2	0,257	3,70E+06	0,2593
3	0,584	4,10E+06	0,2942
4	0,732	4,50E+07	0,3523
5	0,824	5,30E+07	0,4143
6	1,671	5,70E+07	0,5578
7	1,839	5,90E+07	0,6159
8	2,832	6,30E+08	0,9453
9	4,962	7,50E+08	1,6585
10	5,635	7,90E+08	1,8833
11	7,098	8,30E+08	2,3717
12	8,317	8,70E+08	2,7787

Concentración en g/L de *Candida guilliermondii* durante su crecimiento

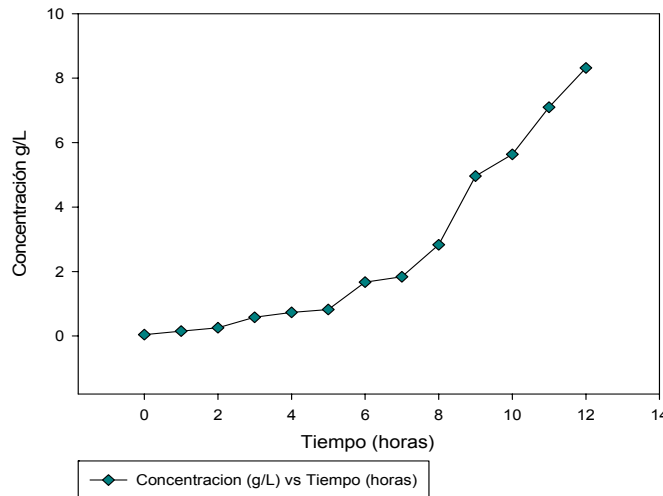


Fig. 3: Concentración g/L de *C. guilliermondii* durante su crecimiento

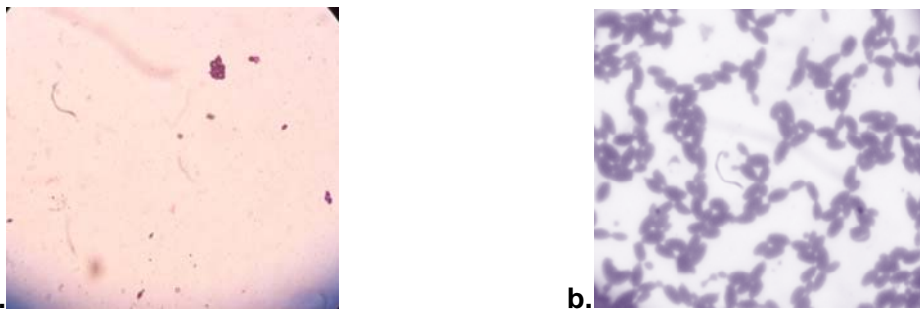


Fig. 4: Coloración de Gram de la levadura *Cándida guilliermondii* en diferentes horas de muestreo de la curva de crecimiento a. hora 0 b. hora 12.

6.3 Análisis Proximal de *Carica papaya L.*

6.3.1 Humedad: Al iniciar el proceso de aplicación de la levadura, la papaya presento una humedad de 90,76%, al tercer día la humedad bajo a 72,33%, para el día 6 la humedad estaba en un 16,75% y al finalizar el proceso la humedad de la papaya fue de 11,96% (Fig 5). Al respecto Valencia y colaboradores obtuvieron resultados del 4% de humedad en la papaya deshidratada mediante atomización; por tanto se presume que la pérdida de peso de la papaya con *C. guilliermondii* ocurrió debido a que esta levadura pudo haber producido algunos metabolitos como cierto tipo de alcoholes, los cuales podrían haber alterado la fluidez en las membranas de las células de la papaya lo que pudo haber ocasionado la alteración en la interacción de lípidos y proteínas debido a que el alcohol tiende a desplazar el agua presente provocando una deshidratación celular. (Elvir, 2005).

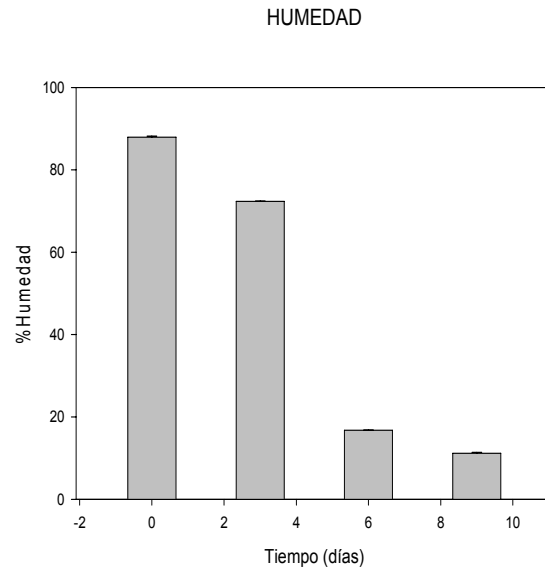


Fig. 5: Humedad de *Carica papaya L.* tratada con *C.guilliermondii* durante el proceso de deshidratación

6.3.2 Cenizas: El contenido de cenizas al iniciar el proceso de deshidratación con *C.guilliermondii* fue de 1,06%, al tercer día de tratamiento 1,14% para el sexto día las cenizas estaban en 1,33% y al finalizar en 1,39% (Fig.6) Las cenizas hacen referencia al contenido de minerales importantes para la alimentación humana como calcio, fosforo, potasio, magnesio y hierro, cuando se realiza la incineración de una muestra el contenido de materia orgánica se destruye dando origen a nuevos compuestos (Bernal, 1998) Como se observa en la figura 6 se presenta un ligero aumento en el porcentaje de ceniza, al respecto Valencia y colaboradores, encontraron que los valores de cenizas se mantuvieron a pesar de la deshidratación de papaya por atomización.

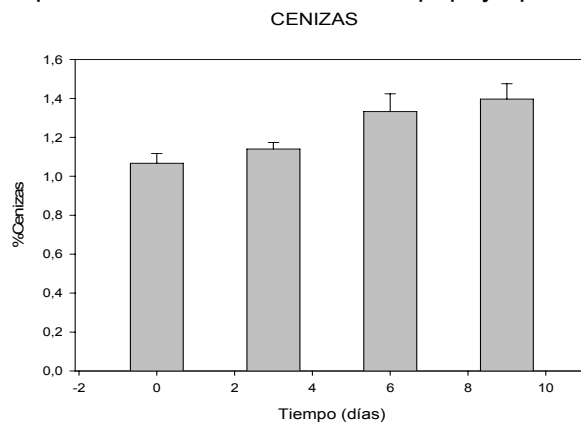


Fig. 6: Cenizas obtenidas durante el proceso de deshidratación papaya con *Cándida guilliermondii*

6.3.3 Extracto etéreo o grasa: Al iniciar el tratamiento con *C.guilliermondii* el porcentaje de extracto etéreo fue de 0,13% y tuvo el mismo comportamiento durante el proceso (Figura 7). El extracto etéreo Incluye sustancias como fosfolipidos, glicéridos, esteroides,

ácidos grasos libres pigmentos carotenoides y vitaminas liposolubles (Bernal, 1998). Valencia y colaboradores, en su estudio encontraron que los valores de grasa aumentaron, debido a que el proceso de atomización aumenta la concentración de solutos, lo cual implica un aumento de nutrientes en las muestras atomizadas; sin embargo la concentración de grasa al finalizar la atomización fue de 0,4%. Dado que la papaya no se sometió a ningún proceso de deshidratación exhaustiva, se podría inferir que el contenido de grasa en la papaya hace parte de los carotenos precursores de la provitamina A (vitamina liposoluble).

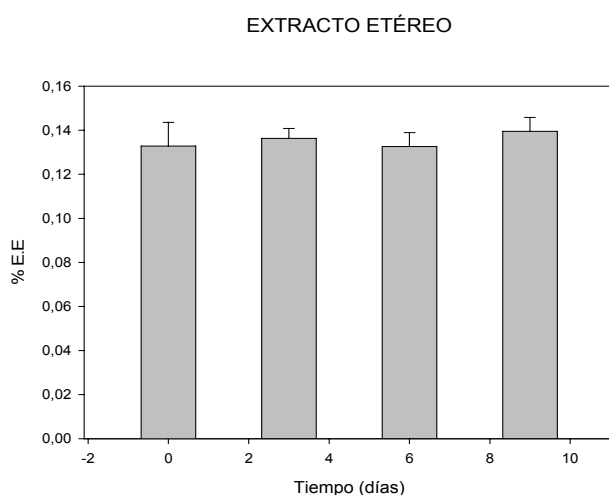


Fig. 7: Extracto etéreo de papaya obtenido durante el proceso de deshidratación con *Cándida guilliermondii*.

6.3.4 Proteínas: Al iniciar el proceso el porcentaje de proteína total fue de 0,28%, al tercer día fue de 0,33%, al sexto día fue de 0,35% y finalizó con 0,37%. (Fig 8) Al respecto Valencia y colaboradores obtuvieron al final de la atomización un porcentaje de 0,37% después de haber iniciado con un porcentaje de 0,25%. debido a que en este proceso eleva la concentración de solutos lo cual implica un mayor contenido de nutrientes. El aumento del contenido de proteína total pudo haber sido influenciada por el uso de *Cándida guilliermondii*, debido a que la pared de las levaduras así como muchos de los organelos de esta, están constituidos principalmente por proteínas (Chaves, 2007).

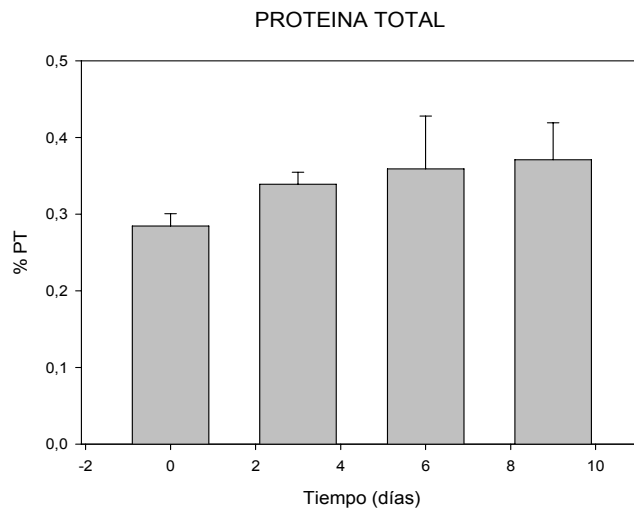


Fig. 8: Proteína total durante la deshidratación de papaya tratada con *C. guilliermondii*.

6.3.5 Vitamina C: Los resultados observados en la figura 9 muestran que al iniciar el proceso de deshidratación la papaya con la levadura empezó con 5,39mg de ácido ascórbico y al finalizar el proceso el contenido de vitamina estaba en 6,12mg de ácido ascórbico/100ml de zumo (Fig 9). Según estudios realizados por Valencia *et al*, 2002 mencionan que el contenido de esta vitamina aumenta cuando se eliminan los sólidos insolubles en el prensado de pulpa de papaya, por su parte Sauvageot 1969 citado por Valencia *et al* 2002 menciona que la pérdida de vitamina C está estrechamente vinculada con el oxígeno y la temperatura, ya que un aumento en el oxígeno en las pulpas de papaya hacen que se oxide la vitamina C; Casas, 2006 menciona que se pierde aproximadamente un 30% de esta vitamina cuando se realiza deshidratación osmótica, debido a que el coeficiente de difusión de el agua es el doble de la vitamina C.

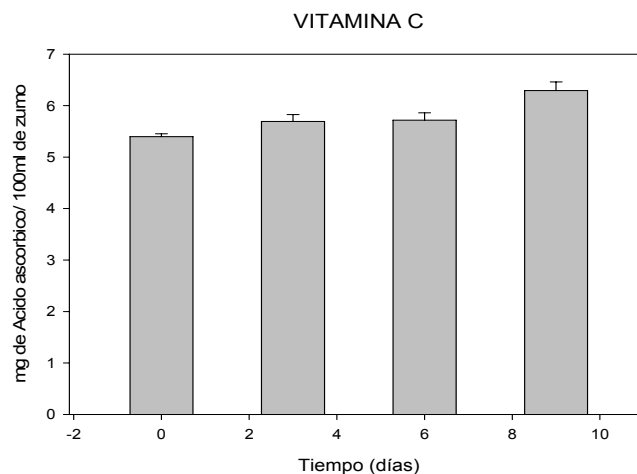


Fig. 9: Contenido de Vitamina C durante la deshidratación en papaya

6.3.6 Fibra: Los resultados del porcentaje de fibra durante el tratamiento fueron los siguientes, el primer día el porcentaje de fibra fue de 1,14%, al tercer día fue de 1,24%, para el sexto día el resultado obtenido fue de 1,22% y al finalizar el resultado fue de 1,26%. Al respecto Valencia y colaboradores encontraron un aumento en los valores de fibra para la papaya atomizada ya que este proceso aumenta la cantidad de nutrientes en un alimento. El aumento pudo deberse en parte a que la pared celular del género *Cándida* contiene manojitina una hemicelulosa, que es un heteropolisacarido corto ramificado (Flanzy, 2003)..

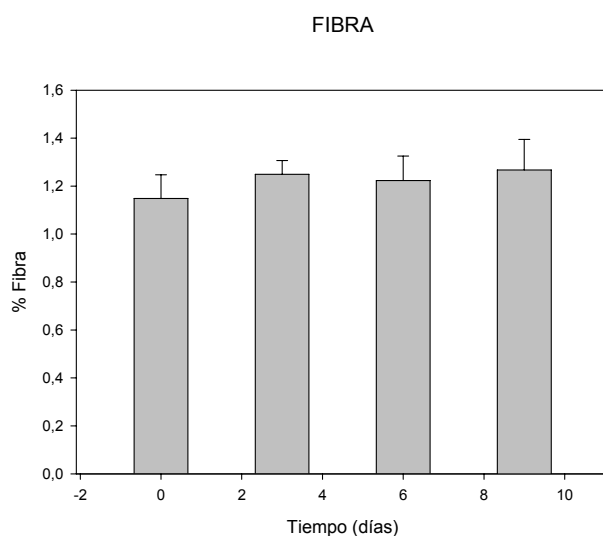


Fig. 10: Fibra obtenida durante el proceso de deshidratación de papaya con *Cándida guilliermondii*

6.3.7 Carbohidratos: Al iniciar el tratamiento la cantidad de carbohidratos eran de 9,38, para el tercer día estaban en 24,79, al sexto día estaban en 80,23 y finalmente para el día 9 los carbohidratos se incrementaron al 85,7. Este grupo abarca compuestos que van desde azúcares simples mono y disacáridos (glucosa, sacarosa) hasta los más complejos (celulosa, y almidón). (Bernal, 1998); Los resultados de la figura 11 muestran un aumento de carbohidratos esto se debe a que en el proceso de deshidratación lo que se busca es eliminar gran parte del agua disponible en el alimento, (Monsalve, 2007) razón por la cual muchos de los macro nutrientes se concentran y por eso aumentan dando como resultado el sabor de la dulce fruta. Al respecto Valencia y colaboradores encontraron que al atomizar la papaya los carbohidratos aumentaron de 4,68% a 80,36% esto se debe a que los azúcares se favorecen por el pH ácido de la papaya el cual está entre 4,4 y 5,6. Esto podría explicar en cierta forma el aumento de los carbohidratos.

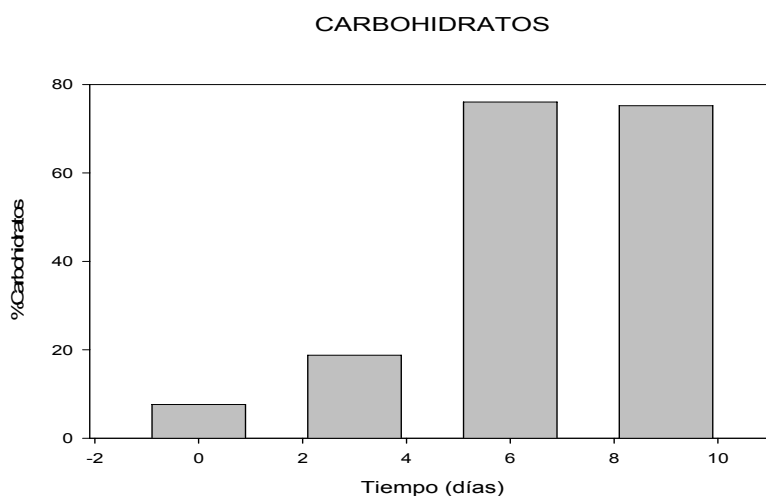


Fig. 11: Variación del porcentaje de Carbohidratos durante la deshidratación de *Carica papaya L.* con *C. guilliermondii*.

6.4 Pérdida de peso de *Carica papaya L.* tratada con *Cándida guilliermondii*.

En cuanto a la pérdida de peso neto (Figura 12) se observa que al iniciar el proceso la fruta no perdió peso, al tercer día la pérdida de peso fue de 14,56%, al sexto día la pérdida de peso fue de 55,58% y para el día 9 la pérdida de peso fue de tan solo 5,58% esto se debe a que al final de la deshidratación gran parte del agua disponible fue eliminada, pero queda agua ligada al alimento razón por la cual la pérdida de peso no fue tan elevada como en el día 6. (Shafiur, 2003). Al finalizar el ensayo la pérdida total de agua fue de 75,72%

La pérdida de peso en la fruta se puede deber al metabolismo que tiene *Cándida guilliermondii*, en especial porque produce ciertos metabolitos secundarios como metilbutanol, isobutanol, isopentanol (Jiménez, 2010) todos estos son alcoholes los cuales están implicados de cierta manera en la deshidratación de la papaya, ya que los alcoholes alteran la permeabilidad de las células haciendo que estas eliminen casi que todo su contenido de agua.

Por otra parte en el proceso de deshidratación se detiene el crecimiento de microorganismos que puedan ser perjudiciales (Barbosa, Mercado 2000), en ese sentido se comprobó que posiblemente *C. guilliermondii* es capaz de metabolizar los carbohidratos presentes en la fruta y de esta forma generar alcoholes que ocasionan la pérdida de agua, figuras 13 y 14.

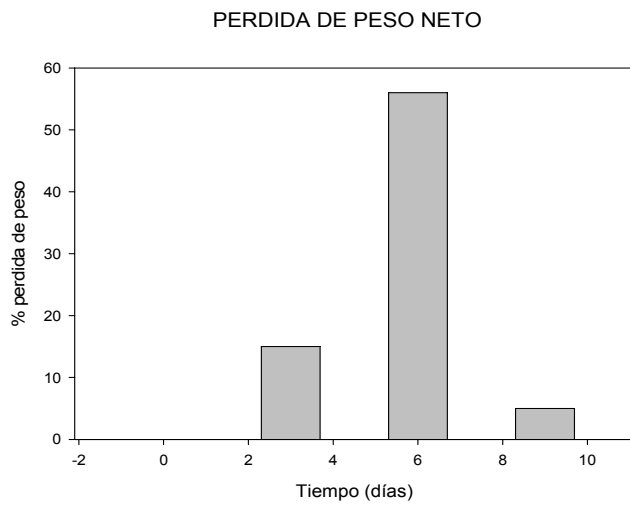


Fig. 12: pérdida de peso neto de *Carica papaya L.* tratada con *Cándida guilliermondii*

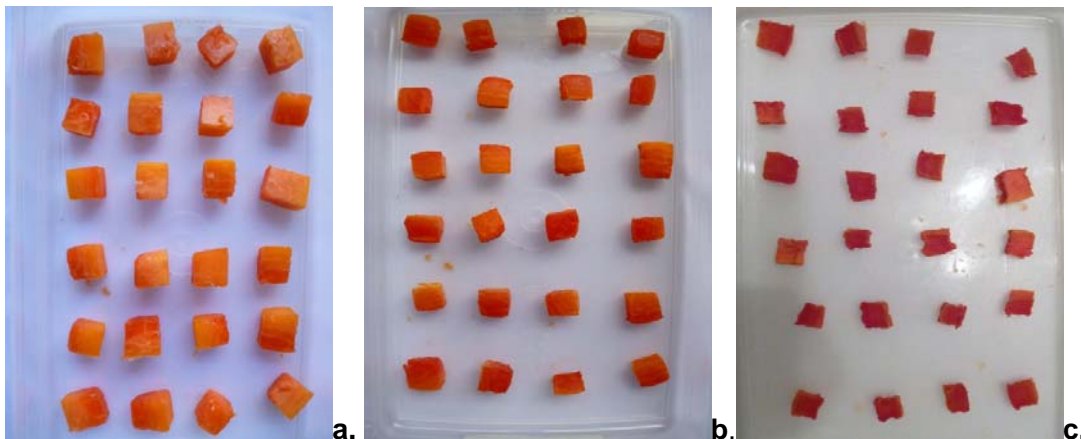


Fig. 13: *Carica papaya L.* con *Cándida guilliermondii*, a. día 0, b. día 6 c. día 9.



Fig. 14: *Carica papaya L.* tratada con *Cándida guilliermondii* a. día 0 b día 6 c. día 9.

6.5. ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

De acuerdo a la tabla 3 se observan recuentos de mesófilos (39×10^5 microorganismos/g de muestra) y de hongos y levaduras (28×10^4 microorganismos/g de muestra) muestran que a pesar de que la humedad de la papaya disminuyó un 80% persisten microorganismos que están en el ambiente y que pueden alterar la calidad del producto final; por otro lado el resultado de Coliformes totales (2×10^2 microorganismos /g de muestra) muestra que posiblemente hubo una recontaminación después de ser tratada con *Cándida guilliermondii*, y finalmente en cuanto al recuento de *E.coli* (>100 microorganismos/g de muestra) se puede decir que no se presentó ninguna contaminación de origen fecal en la papaya tratada con *Cándida guilliermondii*.

El contenido de agua disponible en un alimento está directamente relacionado con la cantidad de microorganismos que pueden estar presentes. Valencia y colaboradores 2002, encontraron que en la atomización el recuento de mesófilos, hongos y levaduras fue menor a 10 UFC/g y menor a 100UFC/g.

Por su parte Castro 2006, obtuvo recuentos de Coliformes totales 4UFC/g, hongos y levaduras 6UFC/g, y no se evidenció la presencia de *E.coli* con lo cual concluyó que la deshidratación no garantiza que no ocurra el crecimiento de microorganismos a temperaturas de 60°C. Fuselli y colaboradores 2004; obtuvieron recuentos para hongos y levaduras de 20UFC/g y para mesófilos aerobios obtuvieron un recuento de 15UFC/g después de aplicar técnicas de salmuera y escaldado en ajo y cebolla deshidratadas, ellos concluyeron que la aplicación de estas barreras contribuyen positivamente a la estabilidad microbiológica de estos dos productos por 1 año.

De acuerdo a la tabla 3 en donde se establecen las diferencias entre la papaya tratada con *C. guilliermondii* y la papaya deshidratada mediante tratamiento térmico, se establece que en la papaya deshidratada mediante calor los recuentos son más estrictos ya que en un proceso industrial el agua disponible del alimento es disminuido a niveles inferiores con el fin de mantener la calidad del alimento por un tiempo prolongado.

En la papaya tratada con *C. guilliermondii* se observan recuentos altos debido a que fue un proceso realizado al medio ambiente sin ninguna protección a los microorganismos, aunque las levaduras al crecer forman una capa que protege a la fruta, por tanto se presume que al no tener ningún control de las condiciones medio ambientales en donde se realizó el ensayo la papaya se pudo haber contaminado desde el inicio, afectando de esta forma los recuentos de microorganismos.

En cuanto a microorganismos como los Coliformes, se observa en la tabla 3 que superan el máximo permitido en frutas deshidratadas por calor el cual es de 1UFC/g de muestra, la papaya tratada con la levadura *C.guilliermondii* muestra un recuento de 2×10^2 UFC/g de muestra, este incremento en el recuento podría significar que las condiciones en donde se realizaron los ensayos no fueron las mejores. Comparándolo con los resultados obtenidos en papaya deshidratada con calor, se ve una diferencia de casi 200 veces entre ambos tratamientos, lo anterior se debe a que el tratamiento por calor además de eliminar el agua disponible en la fruta, también elimina la gran mayoría de los posibles microorganismos causantes de enfermedades.

En cuanto al recuento de *E.coli* los resultados no evidenciaron la presencia de esta bacteria lo cual indica que la papaya tratada con *C. guilliermondii* no presenta ningún tipo

de contaminación fecal que pudiera afectar la calidad del alimento, Estos resultados concuerdan con los de la papaya deshidratada por calor en donde el recuento de *E. coli* es menor a 10 UFC/g. Reiss y colaboradores 2006 encuentran que el almacenamiento de las frutas deshidratadas influye en la calidad microbiológica ya que no se necesitan de conservantes.

Por otra parte el recuento de microorganismos aerobios mesófilos no depende del proceso como tal sino de las condiciones del ambiente ya que este grupo indica que de alguna forma el tratamiento utilizado no fue el más adecuado o que la materia prima ya venía contaminada, como se observa el recuento de mesófilos para papaya tratada con *C. guilliermondii* fue más elevado que el proceso de deshidratación por calor con lo cual se comprueba que en este caso el calor influye positivamente a que hayan menos microorganismos ya que el a_w del alimento bajara a cerca de un 0.55 en donde muy pocos microorganismos proliferan. (Barbosa Vega 2000).

Tabla 3: Recuentos microbiológicos realizados a la papaya tratada con *C. guilliermondii*

Microorganismos	Recuento papaya deshidratada con <i>C. guilliermondii</i>	Recuentos de papaya sin levadura	Recuento papaya deshidratada por calor
Mesófilos	$39 \cdot 10^5$ microorganismos/g de muestra	$68 \cdot 10^7$ microorganismos/g de muestra	$<10^3$ UFC/g
Hongos y Levaduras	$28 \cdot 10^4$ microorganismos /g de muestra	>1600 Microorganismos/g de muestra	$<10^3$ UFC/g
Coliformes totales	$2 \cdot 10^2$ microorganismos /g de muestra	$1 \cdot 10^1$ microorganismos/g de muestra	Máx. 1 UFC/g
<i>E.coli</i>	<100 microorganismos /g de muestra	<100 microorganismos/g de muestra	<10 UFC/g

Finalmente en cuanto al recuento de hongos y levaduras (tabla 3), estos muestran que también son elevados en comparación al proceso térmico realizado en la misma fruta, este resultado no solo significaría que el alimento sufra de deterioro si no que también indicaría de manera explícita que puede haber la posibilidad de encontrar micotoxinas (Snozzi 2001). Frente a los recuentos de la fruta sin levadura se observa un recuento mayor a los 1600 microorganismos, esto significa que al ser una fruta con un elevado contenido de agua y de nutrientes es más vulnerable a la contaminación con hongos ya que estos tienen la capacidad de crecer a pH ácidos en los cuales las bacterias no se desarrollan, y en donde la humedad es elevada, por lo tanto los resultados expresados en la tabla 3 sugieren que la humedad de la papaya debe disminuir aun más con el fin de garantizar la inocuidad de la papaya deshidratada, además de controlar el ambiente en donde se realicen los experimentos.

8. CONCLUSIONES

- Se determinó que la aplicación de 1 ml de levadura con concentración de 10^8 cél/ml por cada 50 gr de fruto de papaya madura genera una pérdida de peso del 55,58% en el sexto día de tratamiento, y de 5,58 al noveno día.
- Se determinó que al finalizar el ensayo la pérdida neta de peso de la papaya madura fue de 75,72% usando *Candida guilliermondii*, debido al metabolismo de esta levadura el cual metaboliza las fuentes de carbono disponibles en la fruta y produce alcoholes, los cuales son volátiles.
- Hubo una pérdida de humedad de la papaya en los 3 primeros días del experimento de un 79,69%, mientras que en los días siguientes fue de un 18,45% (día 6), y de un 13,17% en el día 9.
- El extracto etéreo de la papaya, tiene un comportamiento similar a lo largo del experimento conservando el valor de 0,13% estable.
- Los valores de las proteínas encontradas en la papaya, se mantuvieron en valores de 0,33% a 0,37%.
- Los valores de vitamina C, aunque se mantuvieron estables sufrieron un aumento de 0,73 mg de Ácido ascórbico durante el proceso.
- En cuanto a los recuentos microbiológicos, y comparando los valores de la papaya tratada con *Candida guilliermondii*, con la papaya sin levadura, se observa un incremento en la población tanto de hongos y levaduras 28×10^4 microorganismos /g de muestra (con levadura) y sin levadura de >1600 Microorganismos/g de muestra, lo cual muestra que al ser tratada la papaya madura con la levadura *C.guilliermondii* esta ofrece cierta protección a la fruta. No hubo presencia de *E.coli* ya que ambos recuentos estuvieron <100 microorganismos/g de muestra.

9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar análisis microbiológicos al fruto en fresco para establecer si la contaminación se da en el proceso o tiene su origen en la materia prima y de las instalaciones donde se realiza el experimento
- Se sugiere que se enriquezca más la investigación sobre este tema, ya que puede ser una técnica novedosa y amigable con el medio ambiente.
- Se sugiere realizar la deshidratación con la levadura *Candida guilliermondii* no más de 6 días ya que en este lapso de tiempo se logra perder más del 50% del peso inicial.

10. REFERENCIAS

- Almeida A., Pimentel J., Souza D.; (2011) Estudio de la conservación de la papaya (Carica papaya) asociado a la aplicación de películas comestibles; *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*; 49-60p.
- Arango L., (2000) El cultivo de papaya en los llanos orientales de Colombia, Manual de Asistencia Técnica N°4, Corpoica.
- Barbosa G, Mercado H; (2000) Deshidratación de Alimentos. Editorial Acribia S.A. España 2000.
- Bernal I., Análisis de Alimentos; (1998) Academia Colombia de Ciencias exactas, físicas y naturales. Tercera edición. Bogotá.
- Bohórquez, E; (2008) Deshidratación de Frutas una Oportunidad de Negocios, Corpoica.
- Buitrago J, Escobar A, (2009) Aplicación de la levadura *Cándida sp* como una alternativa viable para la retardación en la pudrición del banano (*Musa acuminata*). **Trabajo de grado**, Facultad de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Castro K; (2006) Validación de deshidratación convencional para la conservación del hongo comestible *Pleurotus sajor-caju*, *Revista Universidad de Caldas*; 123-133 p.
- Casas N., Herrera A., Sotelo I., González G., Pardo M. (2006) Relación entre la pérdida de agua y vitamina C durante la deshidratación osmótica de piña (*Ananás comosus*), Facultad de Ingeniería de Producción Agroindustrial. Universidad de la Sabana.
- Chaves F., Arciniegas L., (2007) Macromoléculas de la levadura; Universidad Antonio Nariño.
- Domínguez G; (2007) Manual Técnico de procesamiento de frutas bajo reglamentos y estándares internacionales de calidad, Primera Edición, El Salvador.
- Duque C.; (2003) Conservación de papaya maradol roja (*caricaceae*) utilizando encerado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia.
- Elvir J., (2005) Efecto biológico sobre las membranas biológicas, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Venezuela.
- Elizondo J; (2006) Propuesta de un Sistema de Control de calidad para el recibo de tomate, papa, papaya, y sandía que se comercializa en los Supermercados de la corporación Coopre Agri R.L.; Instituto Tecnológico de Costa Rica.
- Escudero E., González P., (2006) La fibra dietética; *Nutrición Hospitalaria* N°21 Suplemento 2; 31-72p. Madrid, España.
- Flanzky C., (2003) Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos; Mundi prensa.
- Fuselli S., Filisinger B., Fritz R., Yeannes M.(2004) Estudio microbiológico de ajo (*Allium sativum L.*) y cebolla (*Allium cepa L.*) deshidratados; *Revista Argentina de Microbiología* vol.36 139-144p.
- García G., Cobos C., Rey A., Mejía O., Casariego C.,Clavijo D., García A., Hernández S., Báez S., (2006)Biología, patobiología y bioclínica de la actividad de oxidorreduccion de la Vitamina C en la especie humana, *Universitas Médica* Vol. 47 N° 4.

- Guayazan L. (2010) Evaluación de diferentes condiciones en el proceso de liofilización para la conservación de *Cándida guilliermondii*. **Trabajo de grado** de pregrado. Facultad de Microbiología, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- González C; Isaza J; (2008) Deshidratación por calor seco de las frutas que se cosechan en el corregimiento de AltaVista, Medellín Colombia.
- Jiménez L., (2010) Análisis sistemático de literatura sobre el efecto bactericida y/o fungicida de los subproductos de *Cándida guilliermondii* en el tomate. **Trabajo de grado**. Pontificia Universidad Javeriana.
- Krishna, K., Paridhavi M., Patel J., (2008) Review on nutricional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya Linn*). *Natural product radiance* vol. 7 364-373p. India
- Kurtzman Cletus .P, Fell Jack. W.(1998) The Yeasts, a Taxonomic Study. Fourth edition.
- López. C. Giro. L, Ramos. L, Ramadán. S, Bulacio. L. (2005) Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género *Cándida*. Revista Argentina de Microbiología.
- Monsalve J., Machado M., (2007) Evaluación de dos métodos de deshidratación del tomate (*Licopersicum esculentum mil*) variedad manzano; Multiciencias Vol 7 N° 003. Universidad de Zulia. Venezuela 256-265p.
- Oliveira J., Vitoria A., (2011) Papaya: Nutritional and pharmacological characterization, and physiological disorders. An overview. *Food research international* 1306-1313p.
- Pelczar, M. (1994). Microbiology. Cuarta edición. New York: McGraw-Hill.
- Reiss R., Ramos A., Regazzi A., Minim V., Stringueta P; (2006) Almacenamiento de mango secado: análisis fisicoquímico, microbiológico, color y sensorial; *Ciencia y Tecnología alimentaria* Vol 5 N° 003; Reynosa, México. 214-125p
- Rivera, J; Ortiz, F; Ayala, J; González, G; (2004) Efecto del corte y temperatura de almacenamiento en la calidad de papaya fresca cortada *Carica papaya L*. CV "Maradol", Sinaloa, México.
- Rodríguez D., (1997) Carotenoides y Preparación de Alimentos: La retención de los carotenoides, provitamina A en los alimentos procesados y almacenados; Universidad Estatal Campiña, Brasil.
- Romano P., Capece A., Jespersen L., (2006) Taxonomic and Ecological Diversity of Food and Beverage Yeasts. The Yeast Handbook. Capitulo 2.
- Shafiur R; (2003) Manual de Conservación de Alimentos; editorial Acribia, Zaragoza España. 189 p.
- Steward G., Russell I., (1991) Biochemical and genetic control of sugar and carbohydrate metabolism in yeast; 1st edition. Ed Allen and Win, London.
- Solórzano I., (2002) Manual Técnico Buenas Prácticas Agrícolas en papaya. El Salvador.
- Snozzi M., Grabow K., Ashbolt N; (2001) Indicators of microbial water quality.
- Tortora G., Funke B., Case C.,(2007) Introducción a la microbiología, 9na edición.
- Valencia J., Pérez A., Vargas M., (2002) Obtención de polvo de papaya de monte (*Carica pubescens*) por atomización; Ingeniería UC, Vol 9 N°001; Carabobo, Venezuela.
- Vargas L., (2002) Caracterización morfológica y bioquímica de la levadura asociada a tomates heteroinjertados, **Trabajo de grado**, Microbiología Industrial, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá

Recursos electrónicos

- Estudio del mercado nacional de la papaya maradol, Centro Regional para la competitividad empresarial. Puebla México 2007. Consulta en línea octubre 10 2011:
<http://www.fuppue.org.mx/CONVERTIDOS%20PDF/estudio%20de%20mercado%20papaya%20maradol.pdf>.
- Organic farming in the tropics and subtropics: Papaya; consulta en línea octubre 15 2011:
<http://www.naturland.de/fileadmin/MDB/documents/Publication/English/papaya.pdf>.
- Dry yeast rehydratation; consulta en línea noviembre 1 2011,
<http://home.comcast.net/~mzapx1/FAQ/Rehydrate.pdf>.
- USDA National Nutrient Database for Standar reference raw papaya.
http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl

ANEXOS

Resultados obtenidos de los análisis proximales durante el proceso de deshidratación.

HUMEDAD

DIA	% HUMEDAD	SD
0	87,9829	0,0422
3	72,3395	0,0639
6	16,7576	0,0578
9	11,1140	0,0728

CARBOHIDRATOS		
DIA	A	100-A
0	90,6160	9,3840
3	75,2048	24,7952
6	19,7624	80,2376
9	14,2353	85,7647

EXTRACTO ETereo

DIA	% E.E	SD
0	0,1328	0,0108
3	0,1363	0,0045
6	0,1326	0,0063
9	0,1395	0,0063

PROTEINA TOTAL

DIA	%PT	SD
0	0,2844	0,0162
3	0,3390	0,0156
6	0,3589	0,0690
9	0,3709	0,0481

DIA	%CENIZAS	SD
0	1,0672	0,0504
3	1,1405	0,0335
6	1,2898	0,0383
9	1,3434	0,0377

VITAMINA C

DIA	mg vit. C	SD
0	5,3961	0,0554
3	5,6916	0,1366
6	5,7193	0,1394
9	6,2909	0,1687

FIBRA

DIA	%FIBRA	SD
0	1,1487	0,0984

3	1,2495	0,0573
6	1,2235	0,1016
9	1,2675	0,1278