



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA-LEON
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA DE FARMACIA



“A la libertad, por la universidad”

Monografía para optar al título de Lic. Químico-Farmacéutico.

Estudio de la actividad antimicrobiana de la pulpa *Ananas comosus* (Piña dorada) por el método Dilución en Caldo, Febrero-Marzo 2015.

Autores:

Br. César Antonio Poveda Rojas.

Bra. María Azucena Ramírez Martínez.

Bra. Isela Roxana Reyes Mendoza.

Tutora: MSc. Lissette Aráuz Molina.

León, Abril 2015.



Agradecimiento:

Sinceros agradecimientos por este trabajo a:

Dios: Quien nos dió la vida y la ha llenado de bendiciones en todo este tiempo, por ser nuestra fortaleza en nuestros momentos de debilidad y por brindarnos una vida llena de aprendizaje, maravillosas experiencias y sobre todo felicidad. A él que con su infinito amor nos ha dado la sabiduría suficiente para culminar esta etapa tan importante en nuestras vidas, la cual es coronar nuestra carrera universitaria. Nuestras palabras no pueden describir cuán agradecidos nos sentimos con nuestro padre celestial por ayudarnos a culminar con éxito.

Padres: Patricia Martínez, Sandra Mendoza y Julia Rojas. Por apoyarnos en todo momento, por los valores que nos han inculcado y hacer de nosotros unas personas de bien, y sobre todo por brindarnos la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de este pequeño paseo aquí en la tierra ya que han sacrificado mucho por ayudarnos a cumplir nuestras metas.

Tutora: MSC. Lissette Aráuz quien con su amable disposición, conocimientos y entrega nos supo guiar en el desarrollo de la presente monografía desde el inicio hasta el final.

César Poveda, María Azucena Ramírez e Isela Reyes.



Dedicatoria:

Dedicamos la presente tesis a:

Dios:

Por permitirnos llegar a este momento tan especial de nuestras vidas, por los triunfos y las situaciones difíciles que nos han hecho más fuertes y valientes y a la vez nos han hecho valorar las cosas que tenemos a nuestro alrededor. Por último por demostrarnos que con paciencia, amor y humildad todo es posible lograr en nuestras vidas.

Padres:

Como un testimonio de eterno agradecimiento por su amor, apoyo y comprensión incondicional; a ellos que siempre tuvieron una palabra de aliento en los momentos más difíciles y por ser el pilar de lucha en nuestras vidas. Gracias por todos sus consejos, para que pudiera concluir este proyecto. Sin ustedes nada de esto hubiese sido posible.

A nuestros abuelos y tíos:

Gracias por su apoyo y motivación fueron de gran de importancia nuestras vidas y en nuestra carrera y por ser el mayor ejemplo de superación y hacernos saber que con esfuerzo todo se puede.

A nuestros amigos:

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora seguimos siendo amigos.

A nuestros maestros:

Aquellos que marcaron cada etapa en nuestro camino universitario y que nos brindaron apoyo y motivación y sobre todo por su tiempo compartido.



INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
OBJETIVOS.....	4
MARCO TEÓRICO.....	5
MATERIAL Y MÉTODO.....	54
RESULTADOS	59
ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	64
CONCLUSIONES	65
RECOMENDACIÓN	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS.....	72



I. INTRODUCCIÓN.

La piña es el fruto de una planta originaria de Sudamérica, conocida como *Ananas*. De hecho los portugueses siguen conociéndola con este nombre, que en la lengua indígena significaba "fruta excelente". Se conocen alrededor de quince especies del género *Ananas* entre las que se destacan por sus propiedades y variedades botánicas.

Un aspecto importante de resaltar en nuestro trabajo, es que esta fruta es la única miembro de esta familia que se cultiva para alimento humano así como para uso botánico. Se conoce que la *Ananas comosus* tiene un elevado contenido de vitaminas, minerales, agua, un bajo valor calórico, propiedades antimicrobianas, efecto laxante y ayuda a regular las funciones intestinales.

Por todo lo antes señalado en cuanto a las propiedades medicinales y alimenticias, decidimos elegir este tema a fin de conocer, describir y experimentar, si realmente la *Ananas comosus* o piña dorada, posee propiedades antimicrobianas ante algunas bacterias y hongos. Además poder aportar a la medicina popular y tradicional en la prevención y cura de problemas relacionados con bacterias que en nuestro país de clima tropical son muy comunes.

Utilizaremos el método de investigación experimental dilución en caldo, este método nos permite verificar si la muestra tiene propiedad antimicrobiana y cuál es su concentración activa.

Este trabajo es un estudio preliminar que permitirá obtener información científica, sobre la actividad antimicrobiana de la *Ananas comosus*, frente a distintas bacterias (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*) y la levadura (*Cándida albicans*).

En vista de que la bibliografía refiere que la *Ananas comosus* tiene propiedades antimicrobianas, se pretende comprobar científicamente sobre que microorganismos tiene actividad, ya que no hay referencias específicas del tema.

Ampliando de esta manera la información sobre esta especie, que es muy utilizada por la población, adjudicándole diversas propiedades medicinales.



Luego de una exhaustiva revisión bibliográfica no encontramos investigaciones efectuadas acorde a nuestro tema. Solamente se encontraron monografías referentes a productos alimenticios derivados de la piña dorada.



II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Tiene actividad antimicrobiana la pulpa de *Ananas comosus* (piña dorada) para las bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella spp.*), la bacteria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) y la levadura (*Cándida albicans*)?



III. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Estudiar la actividad antimicrobiana de la pulpa de *Ananas comosus*, ante bacterias Gram-positiva, Gram-negativas y hongos, por el método dilución en caldo.

Objetivos específicos:

- Investigar la actividad antimicrobiana de la pulpa de *Ananas comosus* contra la bacteria Gram-positiva: *Staphylococcus aureus*.
- Identificar la actividad antimicrobiana de la pulpa *Ananas comosus* contra las bacterias Gram-negativas: *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*
- Demostrar la actividad antimicrobiana de la pulpa de *Ananas comosus* en la levadura: *Cándida albicans*.



IV. MARCO TEÓRICO

Historia de la piña.

La historia de la piña tropical o *Ananás* comienza en el siglo XV cuando Cristóbal Colón y su tripulación desembarcaron en la isla a la que llamaron Guadalupe, lugar donde encontraron y degustaron la piña. Ya para el siglo XVI se cree que el cultivo de la piña estaba ampliamente distribuido en la mayoría de las regiones tropicales del mundo, llevada por los conquistadores españoles hacia otras latitudes.¹

Hay consenso en que la piña proviene de América del Sur y específicamente de Brasil, Paraguay y Argentina. Además se señala que pueden identificarse unas 1400 especies de la fruta. En muchas naciones es conocida como *Ananás*, vocablo guaraní que significa fruta exquisita. El término piña, cuenta la historia, surgió del parecido que los españoles le encontraron con los piñones o bellotas del pino.¹

La piña es uno de los productos que más impresionaron a los conquistadores conforme fueron conociendo toda la producción de la región.¹

Hay escritos en los que probablemente en alusión a su corona de hojas se le denomina la reina de las frutas. Sin embargo, de los cuatro principales productores de piña en el mundo solo Brasil pertenece a la región de origen de la fruta puesto que los otros tres son Tailandia, Filipinas e India.¹

La piña o el *Ananás*, es una planta perenne de la familia de las bromeliáceas, nativa de América del Sur. Esta especie, de escaso porte y con hojas duras y lanceoladas de hasta 1 metro de largo, fructifica una vez cada tres años produciendo un único fruto fragante y dulce, muy apreciado en gastronomía.¹

Propiedades nutritivas.

Aporta 50 calorías por cada 100 gramos pero en almíbar ligero su aporte puede aumentar ligeramente. Su fruto, con su forma y apariencia peculiar, no pareciera que guardara esa deliciosa pulpa fragante y jugosa que tiene un sabor dulce y agrio a la vez, pero sí, es una



fruta deliciosa que disfrutamos comer como fruta, tal y como es, o como ingrediente de nuestros platos y postres favoritos.²⁽²⁸⁾

Piña cruda	
Valor nutricional por cada 100 g	
Energía 50 kcal 210 Kj	
Carbohidratos	13.12 g
Azúcares	9.85 g
Fibra alimentaria	1.4 g
Grasas	0.12 g
Proteínas	0.54 g
Tiamina (Vit. B1)	0.079 mg (6%)
Riboflavina (Vit. B2)	0.032 mg (2%)
Niacina (Vit. B3)	0.5 mg (3%)
Ácido pantoténico (B5)	0.213 mg (4%)
Vitamina B6	0.112 mg (9%)
Ácido fólico (Vit. B9)	18 µg (5%)
Vitamina C	47.8 mg (80%)
Calcio	13 mg (1%)
Hierro	0.29 mg (2%)
Magnesio	12 mg (3%)
Manganeso	0.927 mg (46%)
Fósforo	8 mg (1%)
Potasio	109 mg (2%)
Sodio	1 mg (0%)
Zinc	0.12 mg (1%)
Fuente: Piña, cruda en la base de datos de nutrientes de USDA.	

Origen.

La piña tiene forma cilíndrica, una corteza escamosa de color marrón, una corona de hojas espinosas y una pulpa amarilla. Esta exótica fruta se forma de muchas frutas pequeñas que se funden juntas.¹



Es una fruta tropical originaria de América del Sur. No se sabe con certeza el país donde se dio origen, pero los estudios señalan a Brasil, Paraguay y Argentina. De ahí se propagó principalmente al Amazonas, Venezuela y Perú para luego emigrar a Europa y Asia.¹

Con su forma y corona distintiva la piña es una fruta muy disfrutada en la gastronomía latino-caribeña y ha sido el producto procedente de América Latina que más éxito y aceptación ha tenido en Europa.¹

Los indígenas la llamaron *Ananas* que significa “fruta excelente”. El nombre piña (*opineapple* en inglés) proviene de la similaridad de la fruta a la semilla o cono de los pinos.¹



Taxonomía de la piña dorada o *Ananas comosus*

Reino	<i>Plantae</i>
Sub-reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Tracheobionta</i>
Subdivisión	<i>Monocotiledóneas</i>
Clase	<i>Magnoliophyta</i>
Sub-clase	<i>Liliopsida</i>
Orden	<i>Commelinidae</i>
Familia	<i>Bromeliáceas</i> compuesta de 46 géneros y 2,000 especies aproximadamente
Sub-familia	<i>Bromelioideae</i>
Género	<i>Ananas</i>
Especie	<i>Ananas comosus</i>
Nombre común	piña dorada
Nombre científico	<i>Ananas comosus</i> .
Sinónimos	<i>Ananas ananas (L.)</i> <i>Ananas ananas Ker</i> <i>Ananas bracteatus</i> <i>Ananas parguazensis</i> <i>Ananas sativa Lindl</i> <i>Ananas sativus Schult</i> <i>Bromelia comosa L</i> <i>Ananassa sativa Lindl</i> <i>Ananassa sativa Lindl ex</i>

La fruta debe ser manejada cuidadosamente para evitar daños físicos en la cáscara y magulladuras y otros daños en la pulpa de la fruta, daños que son difíciles de percibir en los procesos de selección, pero que aceleran el deterioro del producto al favorecer pudriciones, problemas fisiológicos, cambios en la textura, fermentación y otros.⁽³⁰⁾



Tipos de piñas.

Existen en la actualidad 3 variedades de piñas, atendiendo a las hojas y a las semillas de su interior:

- **Piña** del tipo *sativus*, que no posee semillas en su interior.
- **Piña** del tipo *comosus*, con semillas en su interior, estas pueden incluso llegar a germinar si se plantasen de nuevo.
- **Piña** del tipo *lucidus*, que sus hojas no tienen pinchos.^{(1) (28)}

Dentro de los tipos que podemos encontrar en el mercado:

- Smoth cayenne: tamaño medio de forma alargada
- Queen: tamaño pequeño y redonda. Muy buen sabor pero de poco jugo
- Red spanish: ideal para fabricar piña en conserva
- Pernambuco: tamaño muy pequeño, tamaño máximo 1/2 kg
- Amazonas: tamaño grande, pulpa grande muy sabrosa.¹

Etimología.

El término “piña” se adoptó por su semejanza con el cono de una conífera; La palabra *Ananá* es de origen guaraní, del vocablo *naná naná*, que significa «perfume de los perfumes».

- *Ananas* es una latinización que deriva de la anterior.
- *comosus*, epíteto latín que significa peludo y, en el caso de las plantas, se refiere a las numerosas hojas, o sea “hojoso”, “frondoso”.¹

Descripción.

Aunque la mayoría de las bromeliáceas son epifitas, *Ananas comosus* es una planta vivaz, terrestre, aparentemente acaule, con una roseta basal de hojas rígidas, sésiles, lanceoladas, estrechamente imbricadas, con los márgenes dotados de espinas de puntas cortas, de 30 a 100 cm de largo; son ligeramente cóncavas, para conducir el agua de lluvia hacia la roseta.



El tallo, rojizo, se hace visible alrededor de los 2 años, creciendo longitudinalmente hasta alcanzar entre 1 y 1,5 m.

De las axilas foliares aparecen pequeños retoños que los cultivadores cortan para la reproducción, aunque si se dejan pueden producir más frutos. ⁽¹⁾ ⁽³¹⁾

Distribución y hábitat.

- El *ananá* es un cultivo claramente tropical.
- Acepta cualquier tipo de suelo, siempre que cuente con buen drenaje; el anegamiento puede llevar a la podredumbre de las raíces.
- Exige buenas concentraciones de nitrógeno y potasio, algo de magnesio y cantidades limitadas de calcio y fósforo.
- No tolera las heladas ni las inundaciones, y requiere de altas temperaturas para fructificar, alrededor de los 24°; los excesos de calor, superando los 30°, perjudican la calidad del fruto al exacerbar el ciclo metabólico
- El régimen de lluvias debe estar entre los 1.000 y 1.500 mm anuales.
- No crece normalmente por encima de los 800 msnm ¹

Usos Alimentario.

La piña es un fruto no climatérico, o sea que hay que cosecharlo ya maduro pues una vez cortado la maduración se detiene por completo y empieza entonces a deteriorarse. El fruto para su consumo puede estar fresco y en conserva.

En Occidente se usa habitualmente como postre, aunque cada vez más como ingrediente dulce en preparaciones de comida oriental. Cuando el *Ananá* está maduro, la pulpa es firme pero flexible, las hojas se pueden arrancar de un fuerte tirón y el aroma es más intenso en la parte inferior. Del jugo se produce un vinagre excelente y muy aromático. Aunque la enzima proteolítica llamada bromelina se concentra en los tallos, si el jugo la contiene en cantidad suficiente, se puede usar como un ablandador de carnes. ¹ ⁽³¹⁾



Uso Medicinal.

- ✓ El fruto de la piña es un proteolítico, digestivo: la bromelina es un fermento digestivo comparable a la pepsina y la papaína.
- ✓ Antiinflamatorio, hipolipemiante, antiagregante plaquetario. Diurético, vitamínico, de gran valor nutritivo.
- ✓ Agente de difusión, detergente de las llagas.
- ✓ Indicado para dispepsias hiposecretoras, reumatismo, artritis, gota, urolitiasis, arteriosclerosis. Bronquitis, enfisema, asma, mucoviscidosis.
- ✓ En uso tópico: limpieza de heridas y ulceraciones tróficas.
- ✓ El corazón de piña se ha preconizado como coadyuvante en regímenes de adelgazamiento, por su contenido en fibra, con acción ligeramente laxante .
- ✓ Metaboliza los alimentos.
- ✓ Es también diurético, ligeramente antiséptico, desintoxicante, antiácido y vermífugo.
- ✓ Se ha estudiado su uso como auxiliar en el tratamiento de la artritis reumatoide.
- ✓ Aliviar infecciones laríngeas y faríngeas.³²

Descripción botánica.

- Planta herbácea.
- Su altura es alrededor de 1 metro.
- Posee de 30 a 40 hojas tiesas con puntas sobre un tallo formado una roseta gruesa.
- El grosor de sus hojas, le confiere una gran capacidad para retener agua y resistir la pérdida de la misma.¹

Sistema radicular.

El sistema radicular de la piña es bastante superficial. Por esta condición, las características físicas del suelo de estructura, aireación y humedad juegan un papel muy importante en su crecimiento.¹



- Puede crecer hasta los 2 metros cuando el medio le resulta favorable.
- Penetran y se extienden hasta los 15 cm del suelo y pueden llegar algunas a los 30 cm de profundidad y muy excepcionalmente a 60 cm o más.
- Las plantas recién sembradas poseen raíces primarias de corta vida, fibrosas, adventicias secundarias.

Las raíces que están en contacto con el suelo son cortas y huecas, excepto en suelos bien aireados. ¹

Tallo.

- El tallo es una estructura anclada al suelo por el sistema radicular.
- Mide hasta 30 cm de largo.
- Ancho de 6.5 cm en la base y 3.5 cm en el centro. ¹

Hojas.

- Poseen venas paralelas y tienen espinas en la punta.
- Están compuestas por un polvo blancuzco que las protege de la pérdida de agua.
- Su forma es variable; según su posición en la planta, grado de crecimiento y madurez. ¹

Fruto.

El fruto de la piña es compuesto por un racimo de frutículos individuales, que son como la extensión del tallo por la forma en que se aloja sobre un pedúnculo de 100 a 150 milímetros de largo. Su peso alcanza hasta 8 libras en piñas grandes, pero comercialmente es preferible la piña de tamaño mediano, unas 4 libras promedio. ³²



Estructuras para reproducción vegetativa.

- (Hijo, corona, hapa, brote del tallo, hijuelos y bulbillos)
 - ✓ Los retoños salen de las yemas del tallo.
 - ✓ Los hijos salen del pedúnculo de la fruta.
 - ✓ De la parte superior de la fruta sale la corona.

- Estas tres estructuras reproductivas poseen yemas de raíces.
 - ✓ El hapa (mitad hijo, mitad retoño) que se encuentra entre el brote del tallo y el bulbillo, se desarrolla a partir de yemas axilares situadas entre el pedúnculo y el tallo.
 - ✓ La corona, utilizada para multiplicación como los demás tipos de retoño.
 - ✓ El brote del tallo, que se desarrolla a partir de un rebrote axilar del tallo.
 - ✓ El hijuelo que nace de la parte subterránea del tallo o en el cuello de la planta y se diferencia únicamente del brote del tallo en que emite raíces que penetran en el suelo y sus hojas son más largas.

Inflorescencia.

La inflorescencia, comienza en el ápice del tallo tomando una forma cónica; sus flores ya terminadas presentan un color lavanda muy llamativo. Las flores de la base se abren primero, hasta los 20 días cuando todas las flores se abren plenamente. Se producen de 100 a 200 flores por inflorescencia.¹

Ecología clima y suelo.

Clima.

El cultivo de la piña se desarrolla en condiciones favorables en altitudes que van desde 100 hasta 600 msnm, considerándose como optimas y de 50 a 200 msnm, como buenas.



Los factores climáticos más relevantes son la temperatura, la precipitación y la luminosidad.¹

Temperatura.

La temperatura juega un papel fundamental en el desarrollo de la planta y fruta, así como de factores de diferenciación y calidad. Los rangos favorables oscilan entre los 20 y 30 °C, aunque temperaturas de 25 a 27 °C son las óptimas.¹

Precipitación

La precipitación es uno de los elementos climáticos más importantes del cultivo. Debe considerarse la cantidad o intensidad de lluvia así como la distribución de los 12 meses del año. Comercialmente se estima que es necesario disponer de 1,200 a 2,500 milímetros anuales de lluvia para garantizar el crecimiento normal del cultivo y en los periodos secos utilizar riego complementario para no detener su desarrollo y en condiciones de exceso de humedad, habilitar drenajes para evacuar el exceso de agua de los campos. Durante su ciclo de producción la planta de piña puede consumir aproximadamente 60 litros de agua.¹

Luminosidad

La piña es una planta que requiere alta luminosidad en sus procesos fisiológicos; plantas que crecen con limitaciones de luz, producen frutas opacas y poco atractivas; en cambio, una luminosidad óptima favorece la producción de frutas brillantes y atractivas a la vista de los consumidores. Excesiva exposición a intensidades lumínicas muy fuertes causa quemaduras superficiales o internas en la fruta, mermando la calidad.¹



Suelo.

Los suelos con mejores condiciones para el desarrollo de estos cultivos son los suelos con textura liviana, bien drenados, y franco o franco arcilloso. La acidez debe estar entre 4.5 a 6 de pH con niveles muy bajos de elementos tóxicos como el aluminio.¹

La mayoría de los suelos conocidos son aptos para cultivar piña, sin embargo los suelos con mayor fertilidad requieren de una inversión mejor igual que la fertilidad, las características físicas influyen en la inversión requerida, dado que resulta más fácil remediar los desequilibrios en elementos nutritivos, que los defectos físicos de un suelo. Las propiedades físicas óptimas de un suelo pueden asegurar particularmente una buena permeabilidad; Su riqueza merece también la debida importancia.¹

Topografía.

Las condiciones de topografía determinan los criterios de conservación de suelos a aplicar, para evitar los efectos destructores de la erosión, en terrenos con pendientes mayores de 2% y en donde se va a controlar las escorrentía y el drenaje superficial, las curvas deben de medirse cada 1.5 metros. La pendiente aceptable va de 0.5 a 10%.¹

Métodos de conservación de suelos.

Los métodos más comunes de conservación de suelos consisten en el uso de terrazas, curvas de nivel, siembra de barreras vivas, barreras muertas con piedras y recubrimiento de canales con semillas.¹

Las prácticas de conservación de suelo contribuyen a reducir la erosión del suelo por escorrentía y riego; aumentan la infiltración, para que puedan ser utilizadas por los cultivos; evacuan los excesos de agua bajando la velocidad de la escorrentía o de la conducción de agua en los canales de riego.¹



Épocas de siembra.

El riego permite sembrar todos los meses del año, en consecuencia esta labor se puede programar, para cosechar de forma escalonada y sostenida, atendiendo la demanda tanto nacional como internacional.¹

Preparación del terreno.

Los elementos primarios a considerar en la preparación del terreno son la limpieza del terreno, la labranza, la distribución espacial y diseño de las camas.¹

Selección de equipos y de los implementos.

Es importante una adecuada selección de equipos y aperos, según el tipo de suelo que se tiene; suelos pesados requieren maquinaria más pesada o de mayor caballaje. Así mismo, se toma en cuenta la extensión o superficie del campo y las climatológicas de la zona. Los equipos y aperos más utilizados son tractores, arados de discos o de vertederas que es apropiado para incorporar el material después del desmonte.¹

Los discos de los arados en la mayoría de los suelos de piña deben penetrar hasta 50 cm para facilitar la penetración de la raíz de sostén de la planta, en consecuencia se recomiendan discos con el diámetro apropiado a esta profundidad de penetración.¹

Limpieza.

Los terrenos plenos a la labranza se limpian de troncos, rastrojos, desechos de siembras anteriores y otros residuos que pueden entorpecer la labor de los equipos, el trazado de camas, canales y curvas de nivel. Es necesario dejar una adecuada aireación en la zona de raíces lo que permitirá un rápido crecimiento del sistema radicular, incluyendo una preparación que facilite la penetración de las raíces más profundas que actúan de



estructuras de amarre y sostén de la parte aérea de la planta de piña. Los terrones se desmenuzan, sin compactar el suelo y no se pulverizan para impedir el arrastre de tierra por la escorrentía. Se afirma que la preparación es el primer paso necesario para lograr la calidad de la fruta que se pretende producir, Es la más alta para el cultivo de la piña.

En suelos vírgenes se realiza desmonte, chapeo, y quema de residuos; en esta labor son muy útiles los tractores de hoja topadora por su fuerza para arrancar arbustos y remover raíces; durante el desmonte se evitará estropear las capas superiores del suelo que son las más ricas en los nutrientes que las plantas requieren.¹

Subsolado.

El subsolado se realiza para despedazar las capas compactas formadas por la rastra y sacar los terrones a la superficie para que la rastra los destruya. Los aperos de subsolado son accionado con tractores de mayor potencia ya que se requiere penetrar por lo menos hasta 50 cm de profundidad. En suelos muy compactos se utiliza el riper.¹

El equipo de subsolado consta de 2 a 5 chuzos. Se hace un primer subsolado y se hace dos pases de rastra; luego se realiza un segundo subsolado (de forma perpendicular al primero) y repiten otros dos pases de rastra para dejar el suelo suelto (no pulverizado). Los pases de rastra y subsolador dependen del grado de compactación, tipo de suelo y secado de los terrones después de la labranza inicial. Con esta práctica controlamos malezas, se incorpora materia orgánica, se desmenuzan los terrones y se nivela la superficie a sembrar.¹

Encamado o lomillado.

La piña es frecuente sembrarla en camas levantadas y en curvas de nivel con pendiente de 0 a 10%. El arreglo espacial de las camas facilita la mecanización determinada por las características del suelo.¹



Reproducción de semilla.

Con la reproducción o multiplicación de semilla se busca obtener los materiales de siembra necesarios para establecer una plantación.¹

Para la obtención de la semilla existen varias formas:

- ✓ Utilización de los brotes que se producen en las plantaciones de la finca, tratando de que salga lo más limpio posible de plagas y enfermedades.¹
- ✓ Estimulando la salida de los brotes con la aplicación de urea, insecticida y fungicida, en un periodo de 15 días entre una y otra aplicación, descartando las plantas que presentan síntomas de marchites.¹
- ✓ Mediante la estrangulación de la planta a los 6 meses de edad y con fertilización y control de plagas y enfermedades cada 15 días, proceso de los que se logran obtener 12 semillas por planta. Para la estrangulación se confecciona una herramienta que consiste en una varilla de 50 cm de largo aproximadamente, con una punta roma en forma de desarmador, que se introduce profundamente hasta penetrar el corazón, accionándose en forma de giro para destruir el meristemo apical. Con esto se provoca un estímulo en las yemas de retoños del tallo; Posteriormente se aplica un fungicida. 3 meses después de la estrangulación recolectan los primeros retoños, continuándose esta operación por aproximadamente 7 meses, hasta la muerte de la planta.¹
- ✓ Mediante la selección del tallo de la planta después de la producción del fruto en tabletas, rodajas que posteriormente se siembran en una cama; se fertilizan cada 15 días y se cosecha 3 meses después, hasta producir 9 semillas por cada planta seccionada.¹



Siembra.

La labor de siembra generalmente en nuestro medio se realiza manualmente; Los intentos de mecanización han sido infructuosos.¹

Procedimiento de siembra:

- ✓ Se marca el área de trabajo.
- ✓ Se distribuye la semilla uniformemente en el área seleccionada.
- ✓ Se deposita el material en los hoyos previamente dispuestos. Cuando esta labor no es mecánica, entonces se utiliza un cordel, colocado en el centro de la cama, y con un palín se abre el hoyo (se utilizan como guía las marcas del hilo y luego la otra línea gemela. Se siembra en la mitad de las marcas como si fuera un tres bolillos).
- ✓ Un jornalero debe sembrar de 3,000 a 4,000 semillas diarias, dependiendo si se utiliza una u otra opción.³²

Fertilización.

La dosis de abono a aplicar en una parcela de piña depende de las recomendaciones del análisis de suelo. La mayoría de los suelos no satisfacen los requerimientos nutricionales de la piña, en consecuencia es necesario abonarlos. Se recomiendan hacer aplicaciones de abono completo, urea y micro elementos. De estos últimos, las presentaciones comerciales de abonos foliares, los incluyen, por consiguiente se recomiendan los mismos.¹

Pruebas de sensibilidad bacteriana.

Las pruebas de sensibilidad bacteriana se llevan a cabo mediante el antibiograma que sirve para medir la sensibilidad de una cepa bacteriana a uno o varios antibióticos. El estudio de la sensibilidad *in vitro* es uno de los requisitos previos para la eficacia *in vivo* de un



tratamiento antibiótico. También es importante para realizar estudios sobre la evolución de las resistencias bacterianas que permite revisar los protocolos de la antibioticoterapia empírica.¹

Atributos de calidad de la piña fresca.

Los atributos de calidad deseables para la piña son:

- Forma.
- Tamaño uniformes.
- Aspecto fresco.
- Fruta firme, sin deformaciones, con una sola corona recta.
- Verde y de longitud media.

También deben ser frutas sanas (libres de podredumbres, quemaduras de sol, daños por insectos, microorganismos, magulladuras, heridas y grietas), limpias, sin olores o sabores extraños y libres de humedad externa anormal. Comercialmente, todos estos atributos son evaluados por los operarios de la planta empacadora, en los procesos de selección, clasificación y empaque, utilizando como herramientas sus sentidos (manos, olfato y vista).

³¹

La excepción son las evaluaciones internas del contenido de sólidos solubles, la acidez de la fruta y otras valoraciones de la pulpa de la fruta, que requieren cortar la fruta. Seguidamente se describen los principales atributos de calidad de la piña dirigida al mercado de productos frescos.³¹

Manejo Post-cosecha de *Ananas comosus*.

- **Forma y tamaño:** La fruta debe tener forma cilíndrica o ligeramente cónica, de 1,0 a 3,0 kg. Dentro de un mismo empaque el tamaño y forma de la fruta deben ser uniformes.³²



- **La corona** debe estar derecha, en la dirección del eje de la fruta y bien unida a ella, tener una longitud media de 1 a 1,5 veces el largo de la fruta, el color verde característico y apariencia fresca.³²
- **Color de la cáscara:** Se debe haber iniciado el cambio de coloración de la cáscara de la piña de verde a amarillo.³²
- **El porcentaje del área de la fruta** con coloración amarilla en el momento de la cosecha depende de la variedad y del mercado final a que se dirige el producto. Las escalas de color varían dependiendo de la variedad de la piña y la compañía comercializadora pero todas ellas se refieren al cambio de color de verde a amarillo de la fruta, que se inicia en la base de la fruta.³²

Se utilizan escalas de 1 a 5, 1 a 6 ó de 0 a 7, para las cuales 0 o 1 se refieren a la fruta verde (full green) y el número mayor de la escala, describe frutas que tienen 100% de coloración amarilla (full gold). 1, 2, 3, 4 y 5 representan 10, 30, 50, 80 y 100% de la fruta con coloración amarilla, respectivamente.³²

Los cambios de color que ocurren durante el transporte y la diferencia en los tiempos de transporte a los mercados. Es importante tomar en cuenta que el color externo de las frutas debe ser uniforme dentro de cada uno de los empaques.³²

- **Firmeza:** La fruta se debe sentir firme, debe estar libre de magulladuras o partes suaves originadas por golpes, daños internos o deshidratación y marchitamiento (fruta vieja). La firmeza se mide al tacto, con las manos.³²
- **Defectos:** Los frutos deben estar libres de deformaciones, daños por insectos o roedores, quemaduras de sol, oscurecimiento interno (por oxidación o daños por frío) magulladuras, grietas y heridas. Deben estar limpias, sin olores o sabores extraños y libres de síntomas de deterioro microbiológico (hongos, bacterias, moho).³²



Contenido de sólidos solubles.

Es un indicador del contenido de azúcares y el sabor dulce de la piña, atributo de calidad deseable para esta fruta. Para su medición se corta una porción con forma de cuña, a lo largo de la fruta (de la base a la corona), se extrae el jugo y se coloca una muestra de unas pocas gotas sobre el prisma de un refractómetro que da directamente la lectura en grados Brix, que equivalen al % de sólidos solubles presentes en el jugo. El jugo colocado en el prisma no debe tener trozos de pulpa, fibras ni burbujas, porque estas afectarán el valor de la medición.³²

- **Acidez de la fruta:** Se mide como % de acidez titulable, y se da en términos del ácido orgánico más común, que para la piña es el ácido cítrico (aunque el ácido málico también es importante).³²

La acidez titulable de la piña es del orden de 0,5g a 1,6g ácido cítrico/100g jugo de la fruta. Se determina titulando una muestra de jugo de piña (peso conocido) con una solución de hidróxido de sodio (NaOH). Los datos de acidez son importantes en conjunto con los datos del contenido de sólidos solubles (relación °Brix / acidez).³²

- **Porosidad:** Se refiere al porcentaje de espacios vacíos que existen en el interior de un producto agrícola. En el Manejo Post-cosecha de la Piña *Ananas comosus* se realiza un corte longitudinal de la cáscara observándose en la superficie interna de la misma la porosidad (Geesink, 1996).³²

Los espacios dependen del estado de madurez de la fruta y de su variedad. Se utiliza una escala de 1 a 5, donde una fruta con porosidad 1, tiene los espacios o poros más grandes. La evaluación depende del operario, por lo que un factor clave es el entrenamiento, y de ser posible el apoyo con fotografías o diagramas que permitan mediciones más objetivas.³²

- **Translucidez:** Es una forma de expresar el color de la pulpa de la piña, que cambia de una apariencia opaca (no transparente) cuando está inmadura, a una apariencia vidriosa y jugosa, debida al aumento en la cantidad de líquido contenido en las células a medida que las frutas se maduran. Estos cambios se deben a que la fruta



inmadura contiene aire y menos jugo, situación que cambia conforme la fruta se va madurando.³²

A mayor translucidez mayor susceptibilidad a daños mecánicos. Para medir la translucidez, se hace un corte transversal a la fruta, y se mide el % de área del corte con zonas translúcidas, utilizando distintas escalas (según la empacadora). Generalmente la fruta con más del 50% de área translúcida ha pasado su madurez óptima y es más susceptible a los daños mecánicos. Sin embargo, la translucidez también se asocia a condiciones climáticas de temperatura y lluvias en la etapa pre-cosecha.³²

- **Desarrollo de los frutículos:** Las hojas que tienen los ojos de la piña y la apariencia externa de los frutículos son indicadores del desarrollo y grado de madurez de la fruta. Las hojas se mueren conforme la fruta madura y los frutículos adquieren una apariencia plana (aplastada).³²
- **Gravedad específica:** La gravedad específica se refiere a la relación entre la densidad del producto y la del agua a una misma temperatura. Cuando la piña es más densa que el agua (fruta sobremadura), la gravedad específica es mayor que 1, y la piña se va hacia el fondo de las pilas de lavado. Por el contrario, cuando es menos densa que el agua, la piña flota.³²

Esta característica se utiliza para separar de la línea de empaque la fruta sobremadura. Sin embargo, se debe tener cuidado porque la densidad de la piña puede variar con las condiciones climáticas y a través del año.³²

Cosecha y preparación para el mercado de productos frescos.

Criterios de cosecha y madurez.

El conjunto de parámetros o características de calidad que indican el momento en que una fruta está lista para ser cosechada, se conoce como criterios de cosecha. Estos varían dependiendo del uso que se le dará al producto y de la ubicación y exigencias del mercado final al cual se enviará.³⁶



La adecuada selección del momento de cosecha permitirá la comercialización de frutos resistentes al manejo con las características de apariencia, sabor y textura que requiere el consumidor. Para el caso de la piña, se debe considerar que una vez cosechada la fruta, solo ocurrirán cambios en el color y apariencia externa e interna de la piña, pero no en el contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$), ya que es una fruta no climatérica y no contiene reservas de almidón que permitan la transformación de estos a azúcares.³⁶

Los criterios de cosecha que se utilizan en piña incluyen:

- ✓ El color de la cáscara (desarrollo de coloración amarilla que se inicia en la base de la fruta).
- ✓ La apariencia plana de los frutículos, el total de sólidos solubles (% o $^{\circ}\text{Bx}$) del jugo de la fruta, que debe ser de al menos 12 - 13 $^{\circ}\text{Bx}$ y la translucidez (0,7 promedio). Cuando se cosecha fruta con un grado de madurez muy avanzado (translucidez de 1,0), es más sensible a los daños físicos y la vida útil que tiene para comercializarla es más corta.³⁶

Por el contrario, cuando se cosecha antes de tiempo, no desarrolla un buen sabor (baja en contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) y aromas y es más susceptible a sufrir daños por frío durante el transporte y almacenamiento refrigerado (Paull, 93).³⁶

Cosecha y manejo en el campo.

La cosecha es un aspecto clave para la calidad de la piña que se comercializa. Los cosechadores deben decidir cuáles frutas cosechar, siguiendo las indicaciones de sus supervisores o de la planta empacadora, en cuanto a apariencia, color, tamaño y los otros atributos mencionados en el apartado anterior.³⁶

Los cosechadores realizan su labor a lo largo de los surcos y deben tomar en sus manos cada fruta y aplicar una pequeña torsión hacia abajo, para que esta se desprenda de la planta madre.³⁶



En plantaciones grandes es común el uso de maquinaria para facilitar la recolección de la fruta. Esta consiste de brazos con bandas transportadoras que se extienden sobre los lotes de piña, de manera que los cosechadores colocan la fruta sobre ellos y esta se lleva hasta las carretas para ser acomodada y enviada a la planta empacadora, con la ventaja de que la maquinaria se desplaza lentamente sobre la plantación, al ritmo de cosecha de los trabajadores, lo cual agiliza el proceso y evita que la piña se coloque directamente sobre el suelo, práctica que reduce los riesgos de contaminación del producto. Para plantaciones pequeñas y medianas que no cuentan con este tipo de equipos, los cosechadores pasan la fruta cosechada hacia los lados y la colocan en canastos o cajas al final de cada hilera, o bien se movilizan con canastos, cajas o sacos a través de la hilera y van cosechando y colocando la fruta en ellos. Luego son cargadas en carretas, camionetas (pick-ups) o camiones y se llevan a la empacadora.³⁶

La fruta no se debe colocar directamente sobre el suelo, por el riesgo de entrada de patógenos a través del corte del pedúnculo, que podrían causar enfermedades durante la comercialización de la piña ³⁶

De cualquier forma que se realice la cosecha, la fruta se debe manipular cuidadosamente. Si se utilizan los brazos de extensión, se debe vigilar que el producto no sufra daños mecánicos ni en la fruta ni en la corona, en los cambios de bandas, elevadores y cambios de dirección de ese equipo, así como en superficies duras o afiladas. Especial cuidado debe tenerse con los elevadores, pues es común que la piña se devuelva rodando desde la parte alta o intermedia, aumentando el riesgo de daños físicos en la fruta y la corona. ³⁶

El acomodo de las frutas en los empaques o carretas de campo, debe hacerse también cuidadosamente, colocando un máximo de tres capas de frutas, especialmente para variedades muy sensibles a los daños físicos. El acomodo debe limitar el movimiento de la piña y para ello la corona cumple una función estabilizadora y amortiguadora de golpes durante el transporte hasta la planta empacadora. Si durante el acomodo de la fruta se detectan frutas con problemas de pudriciones, rajaduras o golpes, estas se deben separar y sacarse de la plantación, dejando su corona para ser usada como material reproductivo. ³⁶



En plantaciones grandes, se usan dos tipos de transporte, uno para los caminos internos de la plantación, con el cual las carretas llenas con fruta se transportan a un patio de espera, haladas por un tractor, donde esperan para su traslado a la empacadora, y el segundo, para trasladar la fruta desde ese patio hasta la planta empacadora. Durante la espera en el campo, la carreta con fruta permanece a la intemperie, expuesta al sol por períodos de 0 a 60 min aunque la espera puede extenderse por muchas horas. El problema de esas esperas es que la piña permanece expuesta directamente al sol donde se calienta y puede sufrir quemaduras de sol si las esperas son prolongadas, además de que la temperatura interna de la fruta aumenta y con ello se hace más susceptible a los daños mecánicos durante el transporte.³⁶

La reducción en los tiempos de espera de la fruta en el campo y el uso de zonas de espera bajo la sombra son necesarios para mantener la calidad de la piña. Se debe instruir a los choferes para que conduzcan cuidadosamente, eviten movimientos bruscos por huecos o cambios de dirección, por el efecto que esto tiene sobre el aumento en las magulladuras y otros daños físicos en la piña, que harán que la fruta sea más susceptible al ataque de patógenos y le reducirán su vida comercial.³⁶

Recomendaciones para la cosecha.

- 1- Definir claramente los criterios de corta con los cosechadores.
- 2- No colocar la fruta cosechada directamente en el suelo.
- 3- Vigilar que la fruta siempre se manipule con cuidado, durante la cosecha y en todas las actividades entre el campo y la planta empacadora.
- 4- Reducir el tiempo de espera de la fruta cosechada en el campo, hasta su traslado a la empacadora y tratar de hacerlo a la sombra.
- 5- Evitar golpes innecesarios entre frutos y de estos contra superficies duras o con filos.
- 6- Vigilar el transporte cuidadoso de la fruta hasta la empacadora.



La piña se lleva a la planta empacadora para acondicionarla para el mercado fresco. Se requiere eliminar todo el producto que no cumpla con los requisitos de calidad del mercado meta y someter la fruta a tratamientos que ayuden a conservar su calidad hasta el consumidor final.³⁶

Para lograr con éxito esta tarea, destacan dos aspectos clave: el producto y los procesos Post-cosecha en la planta empacadora. En cuanto al producto, es necesario realizar procesos de selección que permitan desechar frutas que no califiquen o que puedan poner en riesgo la calidad de todo el lote enviado. Por su parte, los procesos de acondicionamiento de la piña deben buscar la protección del producto de una manera eficiente y efectiva, mediante tratamientos al producto, selección de empaques y mantenimiento de las condiciones de temperatura y humedad que requiere la piña durante su preparación y comercialización.³⁶

Recibo y descarga de la fruta e inspección de calidad.

La fruta que viene del campo llega al área de recepción de la planta empacadora. Esta zona debe tener áreas sombreadas bajo las cuales el producto pueda esperar su ingreso a la planta empacadora, debe tener un fácil acceso y descarga del producto. Se debe registrar e identificar cada lote de entrega con la fecha y hora en que se recibe, lote o finca de procedencia, variedad, cantidad de fruta entregada y calidad de la misma, está última según el reporte de la inspección de calidad que se realice.³⁶

La identificación de los lotes de producto entregado permite realizar evaluaciones y tomar medidas correctivas con respecto a la aceptación y rechazo de un lote, acciones para disminuir los daños físicos al producto, foco de enfermedades y otros.³⁶

La inspección de calidad se debe hacer a todos los lotes que llegan a la planta empacadora. Para ello se toma una muestra representativa de frutas de lote entregado (carreta y otros empaques de campo), se valoran los atributos de calidad que debe tener la fruta, incluyendo apariencia general, color, tamaño, presencia de daños físicos, enfermedades y otros y se registra la información.³⁶



La descarga de la fruta se puede hacer manualmente sobre mesas de recibo y selección, por vaciado en pilas con agua o por inmersión de los empaques de campo. La descarga manual es lenta, generalmente ayudada por bandas transportadoras en las mesas de recibo; su uso se restringe a empacadoras pequeñas.³⁶

El vaciado en pilas de lavado es más rápido; en pequeñas empacadoras se hace manualmente (se coloca fruta por fruta dentro de los tanques) y en las grandes se hace por inmersión de las carretas o empaques de campo. La fruta se desplaza dentro de los tanques con la ayuda de chorros de agua y por el movimiento de las frutas, resultante del impulso que llevan al vaciarlas en el tanque.³⁶

En esos tanques, la fruta se lava y desinfecta. Generalmente se emplea agua clorinada (hipoclorito de sodio 50 - 100 ppm), por la acción desinfectante del cloro, que ayuda a reducir o eliminar los patógenos superficiales que se encuentran sobre la cáscara de la fruta.

Además de la inspección de calidad inicial, la planta empacadora debe contar con un sistema de aseguramiento de la calidad, que vigile tanto los procesos como el producto y en el cual se definan los puntos de control. Se debe controlar la concentración del cloro y el pH del agua de lavado. El cloro se usa en concentraciones de 50 a 100 ppm, pero en algunos casos usan hasta 200 ppm, además, el pH debe estar entre 6,5 y 7,5 para mayor efectividad del cloro como desinfectante, además, se deben hacer cambios frecuentes del agua de la pila, debido a que el cloro se inactiva con la materia orgánica (polvo, hojas). Cuando se aumenta la concentración de cloro o se usan aguas duras (presencia de calcio, carbonato y otros), el pH del agua de lavado podría aumentar a valores superiores a 7,5, lo cual se debe evitar, porque la acción desinfectante del cloro se pierde.³⁶

En las pilas de lavado se desechan las frutas que se hunden (sobremaduras, también llamadas "sinkers") y el resto sale por un elevador en uno de los extremos del tanque que lleva la fruta a las bandas de selección.

Selección: Como se ha mencionado, el proceso de selección consiste de la eliminación del producto que no cumple con los requerimientos de calidad del comprador.³⁶



El proceso de selección se hace manualmente. Operarios entrenados (generalmente mujeres), deben dejar pasar el producto bueno y eliminar el que no califica. Para la eficacia y eficiencia del proceso, es necesario que las mesas de empaque tengan buena iluminación, dimensiones apropiadas para los tamaños y número de seleccionadoras (altura y ancho de las mesas); Los movimientos de torsión de las personas deben ser tan pocos como se pueda en el proceso de selección, para evitar la fatiga, especialmente considerando las dimensiones y peso de la piña. Para que las frutas puedan apreciarse bien en toda su parte externa es deseable que estas se desplacen sobre las bandas de las mesas de selección al mismo tiempo que giren sobre su propio eje.³⁶

Defectos de calidad.

Los mayores problemas para la piña fresca son la pudrición negra (en inglés: "black rot", "thielaviopsis fruit rot", "soft rot " o "water rot"), el oscurecimiento interno (" interna) browning" u oscurecimiento endógeno), la pudrición en los frutículos ("Brown rot" o "fruitlet core rot"), mohos sobre la superficie de la fruta , daños en la corona por ácaros rojos (" red mites ") y daños mecánicos ocurridos durante y después de la cosecha.³¹

Con menor frecuencia, otras enfermedades, daños fisiológicos y defectos pueden también afectar la calidad de la piña y la hacen no apta para su comercialización. Algunos de ellos son:

- ✓ Pudriciones de origen fisiológico (fruta anormalmente suave , daños por frío o por congelación).
- ✓ Cicatrices.
- ✓ Marmoleo (bacteria).
- ✓ Gomosis, bolsas de cuero en la pulpa y cáscara.
- ✓ Daños por insectos.

Algunos defectos leves que cuentan con cierto nivel de tolerancia durante los procesos de selección son los cuellos de botella (base angosta de la corona), suciedad, pedúnculos excesivamente largos y formación de nódulos en la base de la fruta. El origen de muchos de



estos defectos proviene de la etapa de producción agrícola, por factores nutricionales, fisiológicos, genéticos o ambientales por el ataque de insectos o microorganismos patógenos (hongos, bacterias y virus).³¹

Las principales enfermedades que afectan los frutos de piña.

Las enfermedades son originadas por microorganismos (bacterias, virus, hongos y otros) que crecen y se multiplican sobre la superficie o dentro del producto, incrementando la incidencia y severidad de los daños a través del tiempo. Muchas de las bacterias se introducen al producto a través de los cortes de cosecha o heridas en la superficie de la fruta.³²

Daños fisiológicos: Este tipo de daños no es originado por microorganismos, sino que es la respuesta de la planta o la fruta ante una situación externa (sequía, exceso de agua, alta o baja temperatura y otros tipos de estrés).³²

El daño por frío: Es uno de los más importantes, por el impacto sobre la calidad de la fruta.³²

Daños mecánicos: Los daños mecánicos son ocasionados por golpes, carga excesiva, cortes y fricción de las frutas entre sí y con las superficies de la línea de empaque. Los síntomas incluyen magulladuras, cicatrices, cortes, zonas aplastadas o raspadas y heridas abiertas que permiten tanto la salida de fluidos como la entrada de microorganismos, que ingresan y se desarrollan y reproducen con facilidad en tejidos dañados.³²

Este tipo de daño representa limitaciones en el manejo post- cosecha de la piña. Variedades como la Dorada, que han mostrado mayor susceptibilidad a estos daños se deben manipular con mucho mayor cuidado.³²

Los daños por impacto son difíciles de detectar en la fruta entera, especialmente en las primeras horas, pero aceleran el deterioro del producto y aumentan las pérdidas post-cosecha a través de la cadena de comercialización. Cuando se manifiestan como reventaduras o cortes es posible identificarlos con mayor facilidad. Los golpes se



manifiestan en la piña como magulladuras bajo la cáscara del sitio donde ha ocurrido el impacto.³²

La coloración de la cáscara a veces cambia ligeramente y la pulpa cambia de color y textura, hay rompimiento de células lo que acelera su deterioro y provoca la fuga de fluidos (jugos).³²

Para evitar los daños mecánicos en la piña, es necesario también un manejo cuidadoso por parte de los cosechadores y de todos los que manipulan la fruta en el campo y la planta empacadora; Es necesario identificar los puntos dentro de los distintos procesos de empaque y de cosecha, donde el riesgo de este tipo de daño sea mayor y tomar las medidas correctivas necesarias, tales como acolchado de superficies duras contras las que se golpea la fruta, cambios en el ángulo de los elevadores o uso de aletas que ayuden a subir la fruta sin que ésta se devuelva y choque con otras frutas o con superficies duras.³²

Requisitos mínimos de calidad, clases o categorías. / Norma mundial del codex para piña (codex stan 182-1993)

Requisitos mínimos: las frutas deben estar enteras, ser frescas, estar sanas, deberán excluirse los productos afectados por pudrición o deterioro que impidan su consumo, deben estar prácticamente exentas de materia extraña visible, manchas oscuras internas, daños causados por parásitos, magulladuras pronunciadas, daños causados por temperaturas bajas, humedad externa anormal (salvo la condensación consiguiente a su remoción de una cámara frigorífica), exentas de olores y sabores extraños, el pedúnculo debe ser menor de dos centímetros con un corte neto, deben estar suficientemente desarrolladas y presentar un grado de madurez satisfactorio según la naturaleza del producto. El desarrollo y condición de las piñas deberán ser tales que les permitan soportar el transporte y manipulación, y llegar en estado satisfactorio a su destino.²⁸

Clasificación: establecen tres categorías: Extra, I y II.

Categoría Extra: frutos de calidad superior y características de la variedad o tipo comercial. Libre de defectos, salvo defectos superficiales muy leves, siempre y cuando no



afecten el aspecto general, calidad y estado de conservación del producto y a su presentación en el empaque. La corona debe ser simple y recta, sin brotes ²⁸

Categoría I: frutos de buena calidad y características de la variedad o tipo comercial. Se permiten defectos leves de forma y color y en la cáscara (rasguños, cicatrices, raspaduras, magulladuras y manchas producidas por el sol), siempre y cuando no afecten el aspecto general del producto, a su calidad y a su estado de conservación y a su presentación en el envase. ²⁸

Categoría II: fruta que no puede incluirse en las categorías superiores, pero satisfacen los requisitos mínimos especificados. Pueden permitirse defectos de forma y color, siempre y cuando el producto tenga las características comunes de la piña y defectos de la cáscara (rasguños, cicatrices, raspaduras, golpes, magulladuras y manchas producidas por el sol), siempre y cuando las piñas conserven sus características esenciales en lo que respecta a su calidad y estado de conservación y a su presentación. La corona podrá ser simple o doble y recta o ligeramente curva, sin brotes. En ningún caso deberán los defectos afectar a la pulpa de la fruta. ²⁸

Clasificación por tamaño.

- El peso mínimo debe ser de 700 g, salvo para las variedades pequeñas.
- Homogeneidad.

El contenido de cada envase debe ser homogéneo y contar únicamente con piñas del mismo origen, variedad, calidad y calibre. Para la categoría Extra, el color y la madurez deberán ser homogéneos. ²⁸

- Envasado:

Las piñas deberán envasarse de tal manera que el producto quede debidamente protegido. El material utilizado en el interior de los envases deberá ser nuevo, estar limpio y ser de tal calidad que evita daños externos e internos al producto, exento de cualquier materia u olor extraños. Se permite el uso de materiales especialmente papel o sellos, que lleven las



especificaciones comerciales, siempre y cuando están impresos o etiquetados con tinta o pegamento no tóxico. Los envases deben ajustarse al Código de prácticas para el envasado y transporte de frutas y hortalizas tropicales.²⁸

- Contaminantes:

Las piñas deberán estar exentas de metales pesados en cantidades que puedan representar un peligro para la salud humana, y deberán ajustarse a los límites máximos para residuos de plaguicidas establecidos por el Comité del CODEX sobre residuos de plaguicidas para este producto.

En el Mercado de los Estados Unidos de América hay tres calidades establecidas: US Fancy, US No 1 y US No 2. Son más específicas que para la norma CODEX, y debido a la competencia internacional, generalmente se trabaja con calidades de fruta superiores a las específicas dentro de esas tres categorías. Se toman en cuenta los siguientes aspectos: uniformidad de la fruta empacada (color, variedad, tamaño), el producto debe estar firme y seco, libre de pudriciones, heridas, quemaduras de sol y otros daños.²⁸

Bacterias.

El universo que descubrió Leeuwenhoek estuvo conformado por bacterias y protozoarios de diversas características. Es por ello que hoy en día sabemos que hay millones de microorganismos que se encuentran en todos los lugares de nuestro planeta, en el agua dulce y salada, por tanto viven en el aire, agua y tierra, se les haya también en los alimentos, en el exterior y el interior de los seres vivos. También causan enfermedades y otros que son beneficiosos para nosotros.³

Por eso es de vital importancia conocer sobre estos microorganismos. Las bacterias pertenecen al *filum* de las *Shizomycophyta*, se les llama también microbios o gérmenes. Son de pequeño tamaño casi siempre son unicelulares. Están recubiertas por una pared celular de naturaleza quitinosa en su superficie externa. Poseen prolongaciones filamentosas que les permiten desplazarse otras tienen flagelos.³



La pared celular que rodea a las bacterias es compleja y existen dos formas básicas: pared celular **Gram positiva** con una gruesa capa de péptidoglucano y una pared **Gram negativo** con una delgada capa de péptidoglucano, así como una membrana externa.³

Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan solo al interior de células del organismo anfitrión o en un ambiente hipertónico. Para clasificar a las bacterias debemos tener en cuenta su tamaño, forma, disposición espacial, propiedades.

Encontramos también bacterias que pueden provocar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos o a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles.³

Características.

1. Las bacterias son de vidas libres, cosmopolitas y patógenas para el hombre y animales.
2. Miden entre 1 y 10 μm .
3. Estos causan enfermedades infecciosas en los seres vivos.
4. Son beneficiosos como los que reciclan el carbono, azufre, nitrógeno y fósforo; algunos viven el intestino del hombre (ejemplo: *Escherichia coli*), los cuales sintetizan vitaminas como BIOTINA; en rumiantes elaboran celulosa, una enzima que digiere la celulosa.³

Funciones.

1. Nutrición: autótrofa por fotosíntesis y quimio síntesis y heterótrofa (bacterias).
2. Reproducción: asexual y sexual, la reproducción de las bacterias se realiza a gran velocidad; algunas se dividen una vez cada 20 minutos.³

Estructura.

Constituida por:

- Pared celular.
- Membrana Celular.
- Estructura Citoplasmáticas.



- Genóforo.
- Cápsula.
- Fimbrias o Pilis.
- Ausencia de Envoltura Nuclear.¹⁵

Tinción Gram.

La tinción Gram es una prueba potente y rápida que nos permite diferenciar dos clases de bacterias estas son: Bacterias Gram positivas y las Gram negativos.³⁷

Las Gram positivas se tiñen de morado ya que el colorante se queda atrapado en la capa gruesa de péptidoglucano que rodea a la célula³⁷

Las Gram negativos tienen una capa de péptidoglucano mucho más delgada es por ello que no retiene el violeta cristal y por esto las células se tiñen con safranina y las observamos rojas.³⁷

Péptidoglucano: es un exoesqueleto que da consistencia y forma esencial para replicación y supervivencia de la bacteria. Poseen una pared celular más compleja:

1. Pared celular interna.
2. Pared de péptidoglucano.
3. Bicapa lipídica externa.

Membrana externa: forma un saco rígido alrededor de la bacteria, mantiene estructura y es barrera impermeable a macromoléculas, ofrece protección en condiciones adversas, no tiene espacio peri- plasmático³⁷

Espacio peri-plasmático: espacio entre la superficie externa de la membrana citoplasmática y la interna de la membrana externa.

La red de mureína está muy desarrollada y llega a tener hasta 40 capas. La red de mureína presenta una sola capa.

- Poseen otros componentes: ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos.
- Poseen proteínas con concentraciones elevadas.³⁷



Gram positivas y Gram negativas.

En microbiología, se denominan bacterias **Gram positivas** a aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram: de aquí el nombre de "Gram-positivas" ³

Esta característica química está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales grupos de bacterias, y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de *Posibacteria*.³

La pared celular se une a la membrana citoplasmática mediante moléculas de ácido lipoteicoicos. La capa de péptidoglucano confiere una gran resistencia a estas bacterias y es la responsable de retener el tinte durante la tinción de Gram. ³

A diferencia de las Gram-positivas, las Gram-negativas presentan una segunda membrana lipídica externa a la pared celular.³

Incluyen especies tanto móviles (vía flagelos) como inmóviles con forma de bacilo (*Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Listeria*) o coco (*Staphylococcus*, *Streptococcus*); Con gruesas paredes celulares o sin ellas (*Mycoplasma*).³

Algunas especies son fotosintéticas, pero la mayoría son heterótrofas. Muchas de estas bacterias forman endosporas en condiciones desfavorables. Realmente, no todas las bacterias del grupo son Gram-positivas (no se tiñen por la aplicación de ese método), pero se incluyen aquí por su similitud molecular con otras bacterias Gram-positivas.³

Las siguientes características están presentes generalmente en una bacteria **Gram-positiva**:

- ✓ Membrana citoplasmática.
- ✓ Capa gruesa de péptidoglucano.
- ✓ Ácidos teicoicos y lipoteicoicos, que sirven como agentes quelantes y en ciertos tipos de adherencia.
- ✓ Polisacáridos de la cápsula.



Si algún flagelo está presente, este contiene dos anillos como soporte en oposición a los cuatro que existen en bacterias Gram-negativas, porque las bacterias Gram-positivas tienen solamente una capa membranal.³

Tanto las bacterias Gram-positivas como las Gram-negativas pueden presentar una capa superficial cristalina denominada capa S. En las bacterias Gram-negativas, la capa S está unida directamente a la membrana externa. En las bacterias Gram-positivas, la capa S está unida a la capa de péptidoglucano.³

Se reconocen dos filos principales de bacterias Gram-positivas. Uno de ellos es Firmicutes, que incluye muchos géneros bien conocidos tales como:

- *Bacillus.*
- *Listeria.*
- *Staphylococcus.*
- *Streptococcus, Enterococcus.*
- *Clostridium.*

Este filo se ha expandido con la introducción de los *Mollicutes*, bacterias similares a *Mycoplasma* que pierden las paredes celulares y no pueden ser teñidas por el método de Gram, pero son derivadas de tales formas.³

El otro filo es Actinobacteria, que incluye algunas de las bacterias más típicas de vida terrestre, desempeñando un importante papel en la descomposición de materia orgánica. Éstas y los Firmicutes son referidos, respectivamente, como grupos de G+C alto y bajo, basándose en el contenido de guanosina y la citosina en su ADN. Las bacterias *Deinococcus-Thermus*, también presentan bandas Gram-positivas, sin embargo se clasifican con las bacterias Gram-negativas, pues son similares estructuralmente a estas.³

No está claro si las bacterias Gram positivas derivan de las Gram negativas o viceversa. Si la segunda membrana (la membrana externa) es una condición derivada, los filos Firmicutes y Actinobacteria podrían ser basales entre las bacterias; de lo contrario serían probablemente grupos monofiléticos recientes.³



Staphylococcus aureus

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Staphylococcaceae</i>
Genero	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>S. aureus</i>

Una vez que el *Staphylococcus* entra en el cuerpo, puede propagarse a los huesos, las articulaciones, la sangre o cualquier órgano, como los pulmones, el corazón o el cerebro. Las infecciones graves por *Staphylococcus* son más comunes en personas con un sistema inmunitario debilitado.³

Síntomas.

Es normal que las personas sanas tengan *Staphylococcus* en su piel. A muchos de nosotros nos pasa. La mayoría de las veces, no causan una infección ni ningún tipo de síntoma. Esto se denomina "colonización" o "ser colonizado". Alguien que es colonizado con el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) puede propagarlo a otras personas.²

Un signo de una infección cutánea por estafilococos es un área de piel roja, hinchada y adolorida. Puede haber secreción de pus u otros líquidos de esta área y ésta puede lucir como un forúnculo. Estos síntomas tienen mayor probabilidad de presentarse si la piel se ha cortado o frotado porque esto le brinda a la bacteria del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) una ruta para "entrar". Los síntomas también son más probables en áreas donde hay más vello corporal debido a los folículos pilosos.

Algunos síntomas de estas infecciones graves son:

- Dolor torácico.
- Tos o dificultad para respirar.



- Fatiga.
- Fiebre y escalofríos.
- Sensación de malestar general.
- Dolor de cabeza.
- Salpullido.
- Heridas que no sanan.

Bacteria Gram negativa.

En microbiología, se denominan bacterias Gram negativas a aquellas bacterias que no se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram, y lo hacen de un color rosado tenue: de ahí el nombre de "Gram-negativas" o también "Gram-negativos". Esta característica está íntimamente ligada a la estructura didérmica dada por la envoltura celular, pues presenta doble membrana celular (una externa y la otra citoplasmática), lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. Son uno de los principales súper grupos de bacterias y cuando se tratan como taxón se utiliza también el nombre de Negibacteria o Didermata.³

Las bacterias Gram-negativas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de péptidoglucano, mientras que las bacterias Gram-positivas presentan sólo una membrana lipídica y la pared de péptidoglucano es mucho más gruesa, al ser la pared fina, no retiene el colorante durante la tinción de gram.³

Muchas especies de bacterias Gram-negativas causan enfermedades. Los cocos Gram-negativos causan:

- Gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*).
- Meningitis (*Neisseria meningitis*).
- Síntomas respiratorios (*Moraxella catarrhalis*), entre otros.
- Los bacilos Gram-negativos incluyen un gran número de especies. Algunos de ellos causan principalmente enfermedades respiratorias (*Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*).
- Enfermedades urinarias (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*).



- Enfermedades gastrointestinales (*Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*). Otros están asociadas a infecciones nosocomiales (*Acinetobacter baumannii*).

La envoltura celular de las bacterias Gram-negativas está compuesta por una membrana citoplasmática (membrana interna), una pared celular delgada de péptidoglucano, que rodea a la anterior, y una membrana externa que recubre la pared celular de estas bacterias. Entre la membrana citoplasmática interna y la membrana externa se localiza el espacio periplásmico relleno de una sustancia denominada periplasma, la cual contiene enzimas importantes para la nutrición en estas bacterias.³

La membrana externa contiene diversas proteínas, siendo una de ellas las porinas o canales proteicos que permiten el paso de ciertas sustancias. También presenta unas estructuras llamadas lipopolisacáridos (LPS), formadas por tres regiones: el polisacárido O (antígeno O), una estructura polisacárida central (KDO) y el lípido A (endotoxina).³

Las bacterias Gram-negativas pueden presentar una capa S que se apoya directamente sobre la membrana externa, en lugar de sobre la pared de péptidoglucano como sucede en las Gram-positivas. Si presentan flagelos, estos tienen cuatro anillos de apoyo en lugar de los dos de las bacterias Gram-positivas porque tienen dos membranas. No presentan ácidos teicoicos ni ácidos lipoteicoicos, típicos de las bacterias Gram-positivas. Las lipoproteínas se unen al núcleo de polisacáridos, mientras que en las bacterias Gram-positivas estos no presentan lipoproteínas. La mayoría no forma endosporas (*Coxiella burnetii*, que produce estructuras similares a las endosporas, es una notable excepción).³

Una de las varias características únicas de las bacterias Gram-negativas es la estructura de la membrana externa. La parte exterior de la membrana comprende un complejo de lipopolisacáridos cuya parte lípida actúa como una endotoxina y es responsable de la capacidad patógena del microorganismo. Este componente desencadena una respuesta inmune innata que se caracteriza por la producción de citocinas y la activación del sistema inmunológico. La inflamación es una consecuencia común de la producción de citocinas, que también pueden producir toxicidad. Si la endotoxina entra en el sistema circulatorio, provoca una reacción tóxica con aumento de la temperatura y de la frecuencia respiratoria y



bajada de la presión arterial. Esto puede dar lugar a un shock endotóxico, que puede ser fatal.³

Esta membrana externa protege a las bacterias de varios antibióticos, colorantes y detergentes que normalmente dañarían la membrana interna o la pared celular de péptidoglucano. La membrana externa proporciona a estas bacterias resistencia a la lisozima y a la penicilina.³

Dentro del grupo de las bacterias Gram-negativas podemos distinguir dos subgrupos:

- Ecobacteria.
- Glycobacteria.

Que se distinguen por la composición de la membrana externa. En los primeros, la membrana externa presenta solo simples fosfolípidos, mientras que en los segundos además presenta la inserción de moléculas complejas de lipopolisacáridos (la estructura típica descrita anteriormente). Por ello se considera que Ecobacteria son las bacterias más primitivas. Incluye a *Chlorobi* (bacterias fotosintéticas *anoxigénicas*) y a *Deinococcus-Thermus* (quimiorganotrofos extremófilos); estos últimos, aunque dan positivo en la tinción de Gram son estructuralmente similares a las bacterias gram-negativas.³

Las proteobacterias son uno de los grupos principales, incluyendo a *Escherichia coli*, *Salmonella* y otras enterobacterias, *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Helicobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bdellovibrio*, bacterias del ácido acético, *Legionella* y las *proteobacterias* alfa como *Wolbachia* y muchas otras.³

Pseudomonas aeruginosa.

Pseudomonas aeruginosa (o *Pseudomonas pyocyanea*) es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, con motilidad unipolar. Es un patógeno oportunista en humanos y también en plantas.⁵

Son bacilos G (-), móviles con flagelos polares, aerobios estrictos, metabolismo oxidativo no fermentativo. La principal especie es la *Pseudomona Aeruginosa*, crecen entre 10 y



42°C. Muy repartidas por el medio: suelo, agua y de aquí pasan a las plantas o animales. En el hombre son oportunistas. Los alimentos implicados: vegetales crudos, agua, leche no pasteurizada.⁵

***Pseudomona aeruginosa*.**

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Orden	<i>Pseudomonadales</i>
Familia	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genero	<i>Pseudomonas</i>
Especie	<i>P. aeruginosa</i>

Epidemiología.

- La *Pseudomona aeruginosa* tiene una distribución mundial, es cosmopolita.
- Se aísla de suelos, agua, plantas, animales, incluyendo al hombre, algunas veces es patógeno para animales y vegetales.
- La epidemiología de la *Pseudomona aeruginosa* refleja predilección por un medio ambiente húmedo, esto es evidente ya que ambiente natural está relacionado con agua y suelo.
- La colonización humana por esta bacteria ocurre en sitios húmedos como las axilas, los oídos y la zona alrededor del ano.
- La humedad es un factor crítico en los hospitales, los reservorios en hospitales pueden ser: equipos de ventilación mecánica, soluciones de limpieza, medicamentos, desinfectantes, etc.
- La enfermedad humana extra hospitalaria también se asocia a ambientes húmedos como en piscinas, soluciones para lentes de contacto, etc.



- Los pacientes con quemaduras serias en la piel, pacientes ventilados o con heridas pueden producir una infección por la presencia de *Pseudomona aeruginosa*.

Las infecciones por *Pseudomona aeruginosa* son graves, especialmente cuando existe bacteriemia. Ésta suele presentarse en pacientes con enfermedad grave de base, larga estancia hospitalaria y uso previo de antibióticos.⁵

Al parecer la lesión inicial provocada por la *Pseudomona aeruginosa* al epitelio respiratorio y otras mucosas está mediada por Pili o fimbrias y por un exopolisacrido mucoide conocido como alginato. Existen receptores de estas adhesinas en las células epiteliales.⁵

El microorganismo produce diversas enzimas extracelulares como la proteasa alcalina, elastasa, fosfolipasa, citotoxina y exoenzimas A y S. la alteración de los tejidos del huésped por estos productos bacterianos extracelulares crea las condiciones necesarias para la proliferación e invasión bacteriana y la consiguiente destrucción del tejido⁵

Enfermedades producidas por *Pseudomona aeruginosa*.

La *Pseudomona aeruginosa* es responsable de un amplio espectro de enfermedades, incluyendo la otitis externa, foliculitis del baño caliente y enfermedades de las uñas, principalmente en los buceadores.

Las *Pseudomona aeruginosa* también causan infecciones en pacientes con quemaduras o heridas.⁵



Escherichia coli.

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gamma Proteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genero	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. coli</i>

La *Escherichia coli*, también conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*, es quizás el organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se le puede encontrar en todos lados, dado que es un organismo ubicuo.⁶

Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von *Escherich*, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor.⁶

Esta y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de producir las vitaminas B y K. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram (gram negativo), es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC es +++.⁶ Es una bacteria utilizada frecuentemente en experimentos de genética y biología molecular.

La *Escherichia coli*, en su hábitat natural, vive en los intestinos de la mayor parte de los mamíferos sanos. Es el principal organismo anaerobio facultativo del sistema digestivo. En individuos sanos, es decir, si la bacteria no adquiere elementos genéticos que codifican factores virulentos, la bacteria actúa como un comensal formando parte de la flora intestinal y ayudando así a la absorción de nutrientes. En humanos, la *Escherichia*



coli coloniza el tracto gastrointestinal de un neonato adhiriéndose a las mucosidades del intestino grueso en el plazo de 48 horas después de la primera comida. Tiene un ancho variable.⁶

La *Escherichia coli* O157:H7 es una de las cientos de cepas de la *Escherichia coli*. Aunque la mayoría de las cepas son inocuas y viven en los intestinos de los seres humanos y animales saludables, esta cepa produce una potente toxina y puede ocasionar enfermedades graves como el síndrome urémico hemolítico.⁶

La *Escherichia coli* O157:H7 fue reconocida inicialmente como causa de enfermedad en 1982 durante un brote de diarrea aguda con sangre en Estados Unidos. Se determinó que el brote se debía a hamburguesas contaminadas.⁶

La *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, vías urinarias, cistitis, meningitis peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa.⁶

Salmonella spp.

Reino	Bacteria
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genero	<i>Salmonella</i>
Especie	<i>S. spp</i>

Características.

Salmonella es el nombre del género de una bacteria móvil (con excepción de las bacterias *S. gallinarum* y *S. pullorum* que no son móviles), con forma de barra, no



espongiforme y Gram negativa, Está presente muy frecuentemente en los animales, especialmente en las aves y los porcinos. Entre las fuentes ambientales de este organismo se incluyen el agua, el suelo, los insectos, las superficies de las fábricas, las superficies de las cocinas, las heces fecales de los animales, las carnes crudas, el pollo crudo, los productos marinos crudos, entre otros.⁸

Desde hace mucho tiempo, varias especies de *Salmonella* han sido aisladas del exterior de la cáscara de los huevos. La situación actual concerniente a la *Salmonella enteritidis* complicada debido a la presencia de este organismo al interior del huevo, específicamente en la yema. Esta y otras informaciones sugieren fuertemente la transmisión vertical de esta bacteria, esto quiere decir, la deposición del organismo en la yema antes de la formación de la cáscara, debido a que la gallina está infectada. Otros alimentos además del huevo han producido también brotes de la enfermedad causada por *Salmonella enteritidis*.⁸

La *Salmonella* es sensible al calor y muere por calentamiento (mayor a los 70 °C). Los alimentos crudos o que hayan sufrido una media cocción, además de la contaminación cruzada que ocurre cuando los productos cocidos entran en contacto con los materiales crudos o contaminados (como las tablas para cortar), son las principales causas de infección. Por lo tanto, la cocción adecuada y la higiene durante la manipulación de los alimentos pueden prevenir en una gran medida las infecciones causadas por la *Salmonella*.⁸

Levaduras.

Las levaduras son hongos que forman sobre los medios de cultivo colonias pastosas, constituidas en su mayor parte por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoideas o alargadas. Unas pocas presentan hifas. Las dimensiones pueden oscilar de 1 a 9 µm de ancho y 2 a más de 20 µm de longitud según la especie, nutrición, edad y otros factores. Algunos hongos fitopatógenos forman colonias *levaduriformes* en cultivos axénicos y varios patógenos de animales se presentan como levaduras en los materiales clínicos.²⁴



En general, las células de las levaduras son conidios formados según diferentes tipos de conidiogénesis. En *Saccharomyces* una célula madre da lugar a la formación de yemas en diferentes puntos de la superficie produciendo en cada uno sólo una célula hija (*blastoconidio* o *blastospora*), pero en *Rhodotorula* o *Cryptococcus* todos los brotes surgen desde un solo punto. La célula apiculada de *Saccharomyces* brota repetidamente de cada extremo, extendiéndose un poco con cada conidio formado. En el caso de *Schizosaccharomyces* la célula es casi cilíndrica y los conidios tienen una base muy ancha. Las levaduras hifales, como *Trichosporon* o *Geotrichum* producen artroconidios (o artrosporas) por formación de septos dobles en las hifas, que luego se escinden²⁴

Las levaduras pertenecen a dos clases de hongos: ascomicetos o basidiomicetos, aunque muchas de ellas se presentan comúnmente en la forma imperfecta. Las levaduras ascomicéticas forman ascas libres, con 1 a 8 ascosporas, y en las especies hifales las ascas están desnudas.²⁴

Las ascosporas de las levaduras son algo más resistentes al calor y la desecación que las células vegetativas, si bien tienen mucha menor resistencia térmica que las esporas bacterianas, por lo que mantienen la viabilidad de la especie durante los cambios adversos del medio ambiente.²⁴

El modo de diploidización en las levaduras ascomicéticas se efectúa entre una célula y su brote, como es el caso de *Schwanniomyces*, *Debaryomyces* y otras, o puede efectuarse entre dos células independientes, por fusión directa (*Schizosaccharomyces*) o por medio de un tubo de conjugación (*Zygosaccharomyces*). En el caso de levaduras estabilizadas en el estado diploide, éste se restaura por conjugación de las ascosporas dentro del asca (*Saccharomyces*). En ciertos casos, si el cigoto se reproduce por mitosis, existen en el mismo ciclo las fases vegetativas haploide y diploide (*Saccharomyces*).²⁴



Cándida albicans.

Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Saccharomycetes
Orden	Saccharomycetales
Familia	Saccharomycetaceae
Genero	<i>Candida</i>
Especie	<i>C. albicans</i>

Candida albicans es un hongo diploide asexual (forma de levadura) saprófito de la familia de los *Sacaromicetos*.

Normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Está envuelta en un rol relevante en la digestión de los azúcares mediante un proceso de fermentación.²⁴

Candida albicans puede asumir patogeneidad provocando la candidiasis; en ese caso se presenta como una afección vaginal (vagininitis), de la cavidad oral (muguet), del intestino o de la piel.

En un físico debilitado, inmunodeprimido o convaleciente de un larga cura antibiótica, la *Candida* se multiplica en modo anómalo y, atraviesa el intestino, para entrar al torrente sanguíneo, donde libera sus propias toxinas provocando la candidemia. Este fenómeno da lugar a algunos síntomas abdominales: mala digestión, gases e hinchazón, molestias intestinales (estreñimiento o diarrea), intolerancia alimentaria, irritabilidad, insomnio, pérdida de la memoria, dolores de cabeza y depresión.²⁴

Uno de los más interesantes hechos del genoma de *Candida albicans* es la ocurrencia de rearrreglos numéricos y estructurales cromosomales, como medio de generar diversidad genética, dando longitudes de cromosomas con polimorfismo (contracción /expansión de repeticiones), translocaciones recíprocas, borrado cromosómicos y trisomía de cromosomas individuales. Estas alteraciones del cariotipo lideran cambios en el fenotipo, que es una



estrategia de adaptación de esta levadura. Estos mecanismos genéticos serán mejor interpretados con el análisis completo del genoma de *Cándida albicans*.²⁴

Concentración mínima inhibitoria.

La determinación de la **Concentración Mínima Inhibidora (CMI)** es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Es la mínima cantidad de antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas. Es el método habitual utilizado en los laboratorios de Microbiología. Para llevarlo a cabo es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables. Este método nos ofrece información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente).¹²

Existen diferentes técnicas de laboratorio que permiten medir o calcular de forma rutinaria, y de manera semicuantitativa, las CIM (métodos manuales y métodos automatizados o semiautomatizada). Se puede realizar mediante:

- 1.- Difusión en agar: Disco placa y E-test.
- 2.- Dilución: Medio sólido y Medio líquido (micro/macrodilución).
- 3.- Mecanizados y Automatizados.¹²

1.1 Métodos para cultivar microorganismos.

En un primer momento, el método estándar utilizado para las pruebas *in vitro* de microorganismos fue el de dilución en caldo, que proporcionaba un resultado cuantitativo. Actualmente existen varios métodos que se utilizan para llevar a cabo los estudios de sensibilidad a los antibióticos y brindarnos resultados cualitativos, todos ellos se realizan bajo condiciones estandarizadas por organismos internacionales.²⁹



- **Dilución en caldo.**

Se colocan concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano, generalmente diluciones 1:2, en tubos con un caldo de cultivo que mantiene el desarrollo del microorganismo. Los antibióticos se preparan en "soluciones madre" concentradas y luego se diluyen en caldo hasta obtener las concentraciones apropiadas.²⁹

Un tubo de caldo se mantiene sin inocular como control negativo de crecimiento. Después de un periodo de incubación adecuada se observa la turbidez de los tubos que indica el desarrollo bacteriano. El microorganismo crecerá en el tubo control positivo y en todos los que no contengan suficiente agente antimicrobiano que sea capaz de inhibir su desarrollo. La concentración de agente antimicrobiano que presente ausencia de crecimiento es la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).²⁹

A partir de la CMI, se siembra una cantidad conocida de inóculo de cada uno de los tubos de caldo que no tienen turbidez en placas de agar.²⁹

- **Difusión en agar.**

Este método incorpora el antimicrobiano a discos de papel de filtro. Su introducción permitió agilizar la determinación de la sensibilidad de las cepas bacterianas frente a un número importante de antimicrobianos de forma simultánea. El empleo de los discos de papel de filtro para las pruebas de sensibilidad está estandarizado y se correlaciona con las CMIs. Durante muchos años, y a pesar de ser una técnica puramente cualitativa, el método de difusión por disco (o método Kirby-Bauer).¹⁸

El microorganismo a investigar se inocular en una o varias placas de agar y sobre su superficie se disponen los discos correspondientes a varios antibióticos. Se incuban las placas durante 16-24 horas y se estudia el crecimiento en ellas. Se valora el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor de cada disco y se compara con las referencias oportunas publicadas por la NCCLS (Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio). De esta manera se sabe si el microorganismo es Sensible, Intermedio o Resistente.¹⁸



1.2 Método de E-test.

Es un método más reciente, es una combinación de características de los métodos anteriores. Se trata de una técnica cuantitativa en placa que permite obtener una lectura directa de CMI en $\mu\text{g/ml}$, ya que se emplean tiras plásticas impregnadas en concentraciones crecientes de la sustancia a estudiar.¹⁸

El microorganismo se inocula en una placa y se incuba durante 16-24 horas a 35°C y se valora la zona de inhibición. La CMI se lee directamente observando el punto más bajo de la elipse que presente el crecimiento.¹⁸

1.3 Métodos automatizados.

La mayoría de estos métodos utilizan sistemas de microdilución en medio líquido sobre microplacas con pocillos en "U" e interpretan el crecimiento bacteriano en los diferentes pocillos por medio de un autoanalizador (mediciones por turbidez o fluorescencia). Anteriormente se hacía por lectura óptica del técnico a través de un espejo invertido.¹⁸

Son sistemas fáciles y rápidos, generalmente automatizada o semiautomatizada. Son métodos ideales para grandes volúmenes de trabajo. Una de sus grandes limitaciones es que sólo ofrecen garantía para investigar microorganismos de crecimiento rápido y que no tengan requerimientos especiales.¹⁸

Placa de agar.

Una placa de agar es una placa de Petri que contiene un medio de cultivo (comúnmente agar más nutrientes) usada en microbiología para cultivar microorganismos o pequeñas plantas.¹⁸

Al colocar microorganismos individualmente en la placa crecerán en colonias individuales. Cada réplica del microorganismo es seguramente idéntico genéticamente a su antecesor (excepto por la baja e inevitable tasa de mutación). Por lo tanto, la placa se puede usar para estimar la concentración de microorganismos en un cultivo o una solución de ese cultivo, usando un contador de colonias.



También se puede usar para generar cultivos genéticamente puros a partir de un cultivo mixto, con diferentes especies de microorganismos, usando una técnica llamada «estriado». En esta técnica, una gota del cultivo es tomada de la muestra, mediante un instrumento llamado «asa bacteriológica», estéril; después se distribuye la muestra sobre la superficie del medio de cultivo dibujando estrías (de ahí el nombre), dejando de esta forma un gran número de microorganismos al principio y una baja cantidad al final de colonias aisladas. Luego, las colonias que crecieron pueden removerse individualmente con otra asa estéril, y así determinar a qué especie corresponde cada colonia individual. Este método es además, usado prácticamente en todos los laboratorios de microbiología para hacer cualquier cultivo bacteriológico.¹⁸

Como otros medios de cultivo, las formulaciones de agar usadas en placas pueden ser clasificadas como definidos e indefinidos. Un medio definido es aquel creado a partir de sustancias químicas individuales, requeridas específicamente por el microorganismo, así que la composición molecular exacta es conocida; mientras que un medio indefinido está hecho de productos naturales, donde la composición exacta es desconocida.³

Las placas de agar pueden ser elaboradas como no selectivas, donde puede crecer cualquier organismo sin especificación, o pueden ser selectivas, donde solo crecen organismos específicos.

Esta especificidad, puede ser por un requerimiento nutricional (por ejemplo lactosa como única fuente de carbono, permitiendo crecer de esta manera solo microorganismo capaces de metabolizar lactosa), o agregando antibióticos u otras sustancias con el fin de volver al medio selectivo. Esto se relaciona con las definiciones de medios definidos e indefinidos; los medios indefinidos hechos de productos naturales, contienen una gran variedad de moléculas orgánicas, y es más permisivo en sentido que provee de nutrientes a una amplia gama de microorganismos, mientras que los medios definidos pueden ser precisamente elaborados para seleccionar microorganismos con propiedades específicas.¹⁸

Las placas de agar, también actúan como indicadores, donde los organismos no son seleccionados en base al crecimiento, sino por un cambio de color en algunas colonias, generalmente causada por la acción de una enzima del microorganismo, sobre un componente del medio.¹⁸



Medios para hongos.

Agar glucosado de Sabouraud: el Agar glucosado de Sabouraud es usado para cultivar hongos y tiene un pH bajo que inhibe el crecimiento de la mayoría de bacterias específicamente Gram negativas.²

Medios para bacterias.

BD Tryptic Soy Broth (medio de digerido de soja y caseína) es un medio líquido para enriquecimiento de uso general utilizado en procedimientos cualitativos para la prueba de esterilidad y para el enriquecimiento y cultivo de microorganismos aerobios no exigentes en exceso. En la microbiología clínica, puede utilizarse para la suspensión, el enriquecimiento y el cultivo de cepas aisladas en otros medios.

Método microbiológico. Tryptic Soy Broth (TSB) es un medio nutritivo que favorece el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos, en especial las bacterias anaerobias facultativas y aerobias comunes. Debido a su capacidad para favorecer el crecimiento, ésta fórmula fue adoptada por la Farmacopea de Estados Unidos (USP) y la Farmacopea Europea (EP) como medio de prueba de esterilidad.

La glucosa (dextrosa) es una fuente de energía. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico. El fosfato potásico dibásico actúa como tampón para controlar el pH. Solamente debe ser para uso profesional. No utilizar los recipientes si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento.

Al recibir los frascos, almacenarlos en un lugar oscuro a 5 – 25 °C hasta momento antes de su utilización. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Los frascos pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del envase) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Los frascos de envases abiertos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad. Los frascos abiertos deben utilizarse de inmediato.²¹



V. MATERIAL Y MÉTODO.

- 1. Tipo de estudio:** Experimental.
- 2. Área de estudio:** Laboratorio de microbiología, departamento de Farmacia Industrial, Facultad de Ciencias Químicas, ubicado en el Complejo Docente de la Salud(Campus Médico) de la UNAN-LEON.
- 3. Unidad de Análisis:** Pulpa de la *Ananas comosus*.
- 4. Población de estudio:** Piña de origen *Ananas comosus*, comercializadas en la ciudad de León.
- 5. Muestra:** Se utilizan tres *Ananas comosus*, (piña dorada una por ensayo), lo cual equivale a 150ml de jugo extraído de la pulpa.
- 6. Criterios de inclusión:**
 - Piñas de origen *Ananas comosus* que estén en buen estado natural.
 - Piñas de origen *Ananas comosus* comercializadas en la ciudad de León.
- 7. Criterios de exclusión:**
 - Todos los tipos de piña que no sean *Ananas comosus*.
 - Piñas *Ananas comosus* que estén verdes, muy maduras o en mal estado.
- 8. Fuente de Información:**
 1. Fuentes Primarias:
 - Información obtenida en el ensayo in vitro.
- 9. Materiales, equipos, reactivos y microorganismos.**

Materiales y equipos:



- Piñas de origen *Ananas comosus*.
- Bisturí estéril.
- Mortero y Pilon previamente esterilizado.
- Gasa estéril.
- Beaker previamente esterilizado.
- Gradillas de Tubos de ensayos.
- Placas.
- Asa de inoculación.

Equipos:

- Autoclave para esterilizar los materiales.
- Horno para la incubación.
- Espectrofotómetro.

Reactivos:

- Caldo digerido Caseina Soja para el cultivo de bacterias.
- Agar y Caldo Sabouroud Dextrosa para el cultivo de hongos.
- Agua destilada.

Microorganismo.

- Bacterias Gram-positiva
 - A. *Staphylococcus aureus*.
- Bacterias Gram-negativas
 - A. *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. *Escherichia coli*.
 - C. *Salmonella spp*.
- Levaduras.
 - A. *Cándida albicans*.

10. Procedimiento para la preparación de suspensión de microorganismos.

- Se replicaron 5 microorganismos ATCC en cuñas inclinadas con medio de cultivo correspondiente, se prepara solución salina y de la réplica se inocula sucesivamente el microorganismo correspondiente utilizando un asa de inoculación. Se ajusta el



espectrofotómetro a una longitud de onda de 580 nm y la suspensión se lee a un porcentaje de transmitancia de 25%.

11. Procedimiento para la realización de la parte experimental:

Para la realización del procedimiento experimental, es importante destacar que el método utilizado fue el de Dilución en Caldo, basándonos en pruebas preliminares, ya que este método permite colocar concentraciones decrecientes del extracto de jugo de la pulpa de *Ananas comosus*. El procedimiento, se repitió en tres semanas diferentes (triplicado) conforme los siguientes pasos:

- A.** Lavar la parte externa de la *Ananas comosus*.
- B.** Eliminar la cascara de *Ananas comosus*.
- C.** Realizar pequeños cortes de la pulpa *Ananas comosus* utilizando un bisturí estéril, hasta obtener una cantidad apropiada.
- D.** Majar la pulpa de la *Ananas comosus* con un mortero y pilón, previamente esterilizado.
- E.** Filtrar con gasa estéril el jugo obtenido.
- F.** Medir 150 mililitros del jugo de la pulpa de *Ananas comosus*.
- G.** Agregar 5ml de caldo digerido de caseína soja en 6 tubos de ensayos, por duplicado dejando dos tubos vacíos, dos tubos con medio para control negativo (10ml) y dos para control positivo (10ml).
- H.** Esterilizar los medios de cultivo en autoclave a 120⁰C por 15 minutos.
- I.** Rotular los tubos: 100%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% con el nombre de la bacteria respectiva, igual número de tubos se utilizan para cada una de las bacterias. Para la levadura *Cándida albicans*, se trabaja solo con la concentración de 100% y 50% por falta de medios.
- J.** Adicionar 10 mililitros de jugo de la pulpa de *Ananas comosus* al tubo vacío (100%), al resto de tubos se agregan 5ml, 4ml, 3ml, 2ml, 1ml, 0.5ml, de jugo de la pulpa de la *Ananas comosus*, luego se adiciona agua destilada estéril a partir de la concentración de 40% 1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 4.5ml, para completar el volumen total de 10ml en cada uno de los tubos.



- K.** Cultivar cada una de las bacterias en estudio en los 7 tubos a diferentes concentraciones.
- L.** Incubar los tubos debidamente cerrados a una temperatura de 35-37⁰ C por 24 horas para bacterias.
- M.** Cultivar la *Cándida albicans* en el jugo puro de muestra de *Ananas comosus* por triplicado, incubar a 22°C por 72 horas.
- N.** Realizar un sub-cultivo del medio anterior realizando estrías con un asa de inoculación en agar Saburoud dextrosa.
- O.** Incubar las placas invertidas de 22-25°C por 72 horas.
- P.** Evaluar e interpretar los resultados.

12. Procedimiento para el procesamiento de los resultados y programas a utilizar en el análisis de los datos:

Una vez obtenida la información a través del proceso experimental se procedió a procesar todos los datos a través de tablas que se realizaron en el programa de Microsoft Excel 2013. Después estas tablas fueron transcritas al programa de Microsoft Word 2013.

13. Variables:

- Actividad antimicrobiana



14. Operacionalización de las variables:

Variable	Definición	Indicadores	Escala
Actividad antimicrobiana	Proceso que mata o inhibe el crecimiento de microbios, tales como bacterias, hongos, parásitos o virus.	(+): Presencia de crecimiento microbiano (sedimentos, película fina, turbidez).	(+++): Alto. (++): Medio. (+): Bajo.
		(-): Ausencia de crecimiento microbiano (sedimentos, película fina, turbidez).	(-): ausencia.



VI. RESULTADOS

Todos los resultados obtenidos corresponden a ensayos por triplicado, realizados en diferentes semanas.

1. *Staphylococcus aureus*.

Sub-cultivo en tubos

Resultado de lectura	Turbidez	Sedimentos	Película fina
Tubo 1	+++	++	+++
Tubo 2	+++	++	+++
Tubo 3	+++	++	+++
Tubo 4	+++	++	+++
Tubo 5	+++	++	+++
Tubo 6	+++	++	+++
Tubo 7	+++	++	+++
Control +	+++	+++	+++
Control -	-	-	-

Leyenda

Presencia de crecimiento microbiano	Bajo (+)	Medio (++)	Alto (+++)
Ausencia de crecimiento microbiano	-	-	-



2. *Escherichia coli*.

Sub-cultivo en tubos

Resultado de lectura	Turbidez	Sedimentos	Película fina
Tubo 1	+++	++	+++
Tubo 2	+++	++	+++
Tubo 3	+++	++	+++
Tubo 4	+++	++	+++
Tubo 5	+++	++	+++
Tubo 6	+++	++	+++
Tubo 7	+++	++	+++
Control +	+++	+++	+++
Control -	-	-	-

Leyenda

Presencia de crecimiento microbiano	Bajo (+)	Medio (++)	Alto (+++)
Ausencia de crecimiento microbiano	-	-	-



3. *Salmonella* spp.

Sub-cultivo en tubos

Resultado de lectura	Turbidez	Sedimentos	Película fina
Tubo 1	+++	++	+++
Tubo 2	+++	++	+++
Tubo 3	+++	++	+++
Tubo 4	+++	++	+++
Tubo 5	+++	++	+++
Tubo 6	+++	++	+++
Tubo 7	+++	++	+++
Control +	+++	+++	+++
Control -	-	-	-

Leyenda

Presencia de crecimiento microbiano	Bajo (+)	Medio (++)	Alto (+++)
Ausencia de crecimiento microbiano	-	-	-



4. *Pseudomona aeruginosa*.

Sub-cultivo en tubos

Resultado de lectura	Turbidez	Sedimentos	Película fina
Tubo 1	+	-	-
Tubo 2	++	++	++
Tubo 3	+++	++	+++
Tubo 4	+++	++	+++
Tubo 5	+++	++	+++
Tubo 6	+++	++	+++
Tubo 7	+++	++	+++
Control +	+++	+++	+++
Control -	-	-	-

Leyenda

Presencia de crecimiento microbiano	Bajo (+)	Medio (++)	Alto (+++)
Ausencia de crecimiento microbiano	-	-	-



5. *Cándida albicans*.

Sub-cultivo de las dos placas.

Resultado de lectura	Crecimiento de colonia en estrías.
Placa 100%	+
Placa 50%	+

Leyenda

Presencia de crecimiento microbiano	+
Ausencia de crecimiento microbiano	-



VII. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

1. De acuerdo a estos resultados podemos observar que la *Ananas comosus* no presenta actividad antimicrobiana frente a *Cándida albicans*, *Escherichia coli*, *salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*, debido a la evidencia de crecimiento por presencia de sedimentos, película fina en superficie y turbidez, lo que puede deberse a las características propias de cada microorganismo y la falta de metabolitos lo suficientemente activos en cuanto a propiedades antimicrobianas.

2. Para la *Pseudomona aeruginosa* es evidente una actividad antimicrobiana moderada de *Ananas comosus* en la concentración al 100% debido a que se observó un poco de turbidez y ausencia de película fina y sedimentos.



VIII. CONCLUSION

Se encontró que la *Ananas comosus* tiene actividad antimicrobiana moderada contra la bacteria Gram-negativa *Pseudomona aeruginosa*, y no posee actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella spp*), la bacteria Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) y contra la levadura *Cándida albicans*.



IX. RECOMENDACIÓN

1. Investigar la actividad antimicrobiana de la pulpa de Ananas comosus con diferentes bacterias y hongos.
2. Continuar profundizando el estudio con mayor numero de muestras.
3. Determinar la CMI para la *Pseudomona aeruginosa* en el rango del 90 al 100 %
4. Investigar la actividad antimicrobiana de la pulpa de otras especies de piñas.



X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Domínguez Barradas, Daniel (2013), potencial del cultivo de piña *Ananas comosus* en el municipio Juan Rodríguez, Vera Cruz México. Consultado 11/11/14
2. Moreillon Bennett JE, Dolin R, Mandell GL (2013), "P. Staphylococcus aureus" (including staphylococcal toxic shock) 7ed. Philadelphia, Pa: Churill Livingstone.
3. Martínez, E. (2013). "bacterias gram positivas". Extraída el 2/12/14 desde:
<http://www.mapfre.com/salud/es/cinformativo/abuso-consumo-enfermedades-bacterians.shtml> «Omnipresence of Microorganisms in the Environment». Consultado el 24-01-2015.
4. Vásquez, G. (2006). "Nicaragua: cultivo de Ananas comosus". Extraída el 25/10/2013 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
5. Galli, Lucía (19 de marzo de 2012). Estudio de los factores de adherencia de cepas de pseudomona aeruginosa productoras de toxina Shiga aisladas de bovinos. "www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_06/Capitulo06.pdf" Consultado el 5 de enero de 2015 pp.
6. «Spanish organic cucumber E. coli O104:H4(26 de mayo de 2011 outbreak by the numbers - 600 ill, 214 with HUS and 5 deaths» (en inglés) . Consultado el 5 de enero de 2014.
7. Moredo, Fabiana (10 de agosto de 2012). Prevalencia de Escherichia coli enterotoxigénico y Escherichia coli productor de toxina Shiga en cerdos sin manifestación clínica de diarrea de la provincia de Buenos Aires. pp. 246. Consultado el 11 de diciembre de 2014.
8. Galli, Lucía (19 de marzo de 2012). Estudio de los factores de adherencia de cepas de salmonella spp productoras de toxina Shiga aisladas de bovinos. pp. 119. Consultado el 10 de diciembre de 2014.



9. Playfarir; Roitt Walkelin Williams (2011), Microbiología Médica 2º edición Mims;. Consultado el 10 de diciembre de 2014
10. Fisher, Bruce; Harvey, Richard P.; Champe, Pamela C. Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology (Lippincott's Illustrated Reviews Series). Hagerstwon, MD: Lippincott Williams & Wilkins. ISBN 0-7817-8215-5. Consultado: 12/01/2015
11. Ryan KJ; Ray CG (editors) (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed. edición). McGraw Hill. ISBN 0838585299. Consultado: 12/01/2015
12. Baron S et al., (editors). (1996). Baron's Medical Microbiology (4th ed. edición). University of Texas Medical Branch. (via NCBI Bookshelf) ISBN 0-9631172-1-1. Consultado: 12/01/2015
13. Guinea J, Peláez T, Alcalá L, Bouza E (December de 2005). «Evaluation of Czapeck agar and Sabouraud dextrose agar for the culture of airborne Aspergillus conidia». Diagnostic microbiology and infectious disease 53 (4): 333–4. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2005.07.002.PMID 16263232. Consultado: 12/01/2015
14. Madigan M, Martinko J (editors). (2005). Brock Biology of Microorganisms (11th ed. edición). Prentice Hall. ISBN 0131443291. Consultado: 12/01/2015 «Walther Hesse». Wikipedia. Consultado el 02-04-2015.
15. Jawetz, Melnick y Adelberg (2005), Microbiología Médica de 21º edición. Consultado el 10 de diciembre de 2014
16. Asociacion Americana para la Salud a base de productos naturales. (2013). "Definiciones Básicas". Extraída el 25/10/2013 desde: <http://www.amssac.org/biblioteca/definiciones-basicas/>
17. Marz, C. (2013). "Concepto de Causa". Extraída el 25/10/2013 desde: <http://es.scribd.com/doc/9939010/Concepto-de-Causa>



18. Marti, A. (2010). "Definición del agar para uso microbiológico". Extraída el 25/01/2015, desde: http://www.ciifen.org/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=84&Itemid=111&lang=es
19. Diccionario de la Lengua Española. (2005). "agar". Extraída el 25/01/2015 desde: <http://www.wordreference.com/definicion/edad>
20. Diccionario de la Lengua Española. (2005) "potencia". Extraída el 5/01/2015 desde: <http://www.wordreference.com/definicion/potencia>
21. Medios de cultivos en microbiología. (2005). "agar caseína soja". Extraída el 5/01/2015 desde: <https://www.google.com.ni/#q=inoculacion+medio+de+cultivo>
22. Hernández, I. Limarquez, M. (2008). "Glosario de términos microbiológicos". España: Ministerio de Sanidad y Consumo, Centro de Publicaciones. Extraída el 8/01/2015 desde: http://www.who.int/substance_abuse/terminology/lexicon_alcohol_microbiologi_spanish.pdf
23. Bartholomew, D.P. & Malézieux, E.P. 1994. Pineapple. In: Handbook of environmental physiology of fruit crops. Volume II. Sub-tropical and tropical crops. Editado por Schaffer, B. & Andersen, P.C. CRC Press, Inc. Florida, EE.UU. Bollrn, G.; Prussia, S.E.; Lidror, A. 1993. Visual inspection and sorting: finding poor quality before consumer does. I. consultado 12 de enero 2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
24. Molina, Prado R. (2013) "levaduras". Extraído el 8/01/2015 desde: <http://www.hongos-levadurasCandidaalbicans.es/numeros-anteriores/publicacion-2013-04/metodo> detección pruebas en microbiología.



25. Organización Mundial de la Salud. (2004). "parametros de UFC, en microorganismos". (2004). Extraído el 8/10/2015 desde: http://www.who.int/substance/publications/neuroscienc,specificathions_spanish.pdf.
26. Bollrn , G.; Prussia, S.E.; Lidror, A. 1993. Visual inspection and sorting: finding poor quality before consumer does. In: Shewfelt, R.L.; Prussia, S.E. Postharvest handling. A system approach. Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. San Diego, California. 358p. (2013).". Extraído el 12/01/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
27. Castro, Z. 1994. Cultivo de la piña. En: Atlas agropecuario de Costa Rica. Editado por Cortés Enríquez, G. Editorial Universidad Estatal a Distancia, EUNED. Costa Rica. Extraído el 12/01/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
28. Codex Alimentarius. 1993. Norma mundial del Codex para la piña. Codex Stan 182-1993. En: Codex Alimentarius. Volumen 5B - 1993. Extraído el 12/01/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
29. Liffey, A. "tipos de métodos para ensayos microbiologicos". Extraído el 8/01/2015 Desde:http://www.metodos.../es/informacion_sobre_las_metodos/microbiologicos/tipos_de_metodos/
30. Elizondo, A.C. 2000. El mercado mundial de piña fresca. Servicio de Información de Mercados. Consejo Nacional de Producción, MERCANET. Boletín 2. Extraído el 12/10/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
31. Sobalbaro, P. (2012). Gallo P., F. 1993. Índice de madurez de piña cayena lisa y proyecto de norma de calidad. En: Memorias Primer simposio latinoamericano de piñicultura.. Extraído el 12/10/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf



32. Geesink Arango, H. 1996. Caracterización de las propiedades físicas de la piña (Ananas comosus) de la variedad Dorada Extra Dulce y su relación con el daño mecánico. Proyecto de graduación de licenciatura en Ingeniería Agrícola . Facultad de Ingeniería. Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Extraído el 12/10/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
33. (2008). Pared celular de microorganismos. Extraído el 1/01/2015 desde: http://en.wikipedia.org/wiki/GABAA_receptor
34. Benes, F. (2007)“tinción Gram”. Extraído el 3/01/2015 desde: <http://www.rdnatural.es/blog/Gram-tincion/>
35. Aldaz, P. (2011). “bacterias” Extraído el 3/01/2015 desde: http://q-organicauce.wikispaces.com/file/view/Bacterias+T3_1.pdf
36. López Lago, I.; Díaz Varela, J.; Merino de Cáceres, F. 1996. Calidad de la piña tropical (Ananas comosus L. Merr) presente en el mercado. En: Alimentaria , Mayo 96 , p 59-64 . España. Extraído: 12/01/2015 desde: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-pina-pre-pos.pdf
37. (2011). Límite microbiano BuenasTareas.com. Extraído el 13/01/2015 desde: <http://www.buenastareas.com/ensayos/4-20-limites-microbiologicos/3100318.html>
38. E. Fernández. (2006) “parámetros de extractos según usp”. Extraído el 3/01/2015 desde: <http://www.USP.comentarios.com/pdf/Web/4303/w030147.pdf>
39. Kader, A.A. 2002. Pineapple. Recommendations for maintaining postharvest quality. Produce Facts. University of California, Davis, California, U.S.A., extraido:12/01/2015 desde: <http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/ProduceFacts/-Fruit/^pple.html> i - 7/31 /2002).
40. Organización Mundial de la Salud. (2012). Extraído el 14/01/2015 desde: http://www.unodc.org/docs/treatment/Brochures/JP_Brochure_-_Spanish.pdf



XI. ANEXOS.

Glosario

❖ **Acaule:**

Se aplica a la planta sin tallo, o con el tallo tan corto y subterráneo que no resulta apreciable a simple vista.

❖ **Actinobacteria:** son un grupo de bacterias Gram positivas. La mayoría de ellas se encuentran en la tierra, e incluyen algunas de las más típicas formas de vida terrestre, jugando un importante rol en la descomposición de materia orgánica, tales como la celulosa y quitina.

❖ **Bromeliáceas:**

Familia de plantas monocotiledóneas con las hojas reunidas en la base y dispuestas en rosetón.

❖ **Bulbillos:** son órganos subterráneos de almacenamiento de nutrientes.

❖ **Cámara Frigorífica:** produce frío o lo mantiene de manera artificial.

❖ **Difusión:**

Movimiento espontáneo de las moléculas que origina una distribución uniforme de la materia.

❖ **Dispepsias:** comprende todo trastorno de la secreción, motilidad gastrointestinal o sensibilidad gástricas que perturben la digestión; designa cualquier alteración funcional asociada al aparato digestivo. Por lo general, se presenta cuando no hay una alimentación saludable.

❖ **Enfisema:**

Hinchazón producida por la infiltración de aire en ciertos tejidos del cuerpo.

❖ **Epífita:** se refiere a cualquier planta que crece sobre otro vegetal usándolo solamente como soporte, pero que no lo parasita.

❖ **Escorrentía:** hace referencia a la lámina de agua que circula sobre la superficie en una cuenca de drenaje, es decir la altura en milímetros del agua de lluvia escurrida y extendida.

❖ **Firmicutes :** (del latín firmus = fuerte y cutis = piel en referencia a su gruesa pared celular) o Endobacteria (referencia a la presencia de endosporas) son



un filo de bacterias, la mayoría de las cuales tienen una estructura celular Gram-positiva

- ❖ **Hipolipemiente:** cualquier sustancia farmacológicamente activa que tenga la propiedad de disminuir los niveles de lípidos en sangre.
- ❖ **Imbricada:** (Hoja, semilla o escama) superpuesta parcialmente a otra del mismo tipo.
- ❖ **Labranza:** operación agrícola consistente en trazar surcos más o menos profundos en la tierra con una herramienta de mano o con un arado.
- ❖ **Lanceoladas:** Se aplica a la hoja de una planta que tiene forma de punta de lanza.
- ❖ **Meristemo:** responsables del crecimiento vegetal.
- ❖ **Mucoviscidosis:** Enfermedad hereditaria autosómica recesiva caracterizada por la aparición de secreciones anormalmente espesas de las glándulas mucosas, lo que dificulta su propia excreción.
- ❖ **Refractómetro:**
Aparato para medir el índice de refracción de las sustancias transparentes.
- ❖ **Sésiles:**
se aplica al órgano u organismo insertado directamente a un sustrato por su base.
- ❖ **Urolitiasis:** formación de cálculos urinarios y trastornos asociados con su presencia.
- ❖ **USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
- ❖ **Vermífugo:** tiene la propiedad de matar o expulsar las lombrices intestinales.



FOTOS DE PROCEDIMIENTO DE PARTE EXPERIMENTAL

1.1 Corte de pulpa de piña.

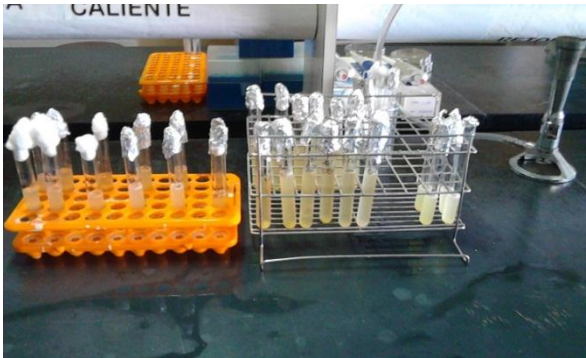




1.2 Adición de muestra, agua y contaminación con microorganismo respectivo.

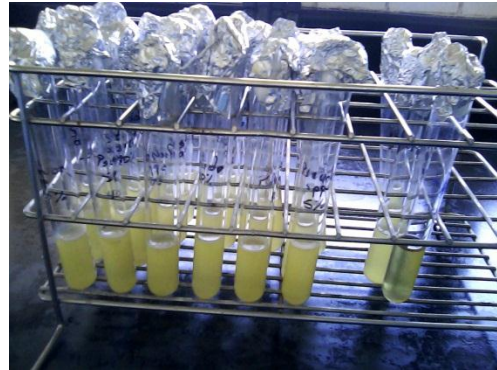
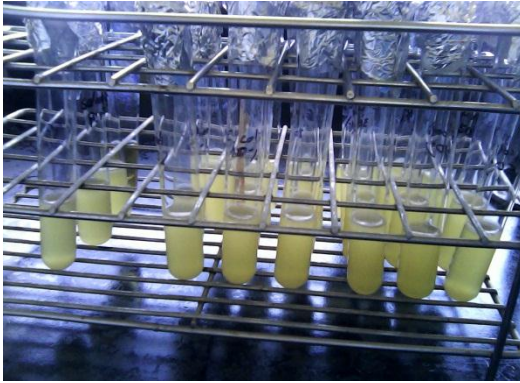


1.3 Resultados primer ensayo.

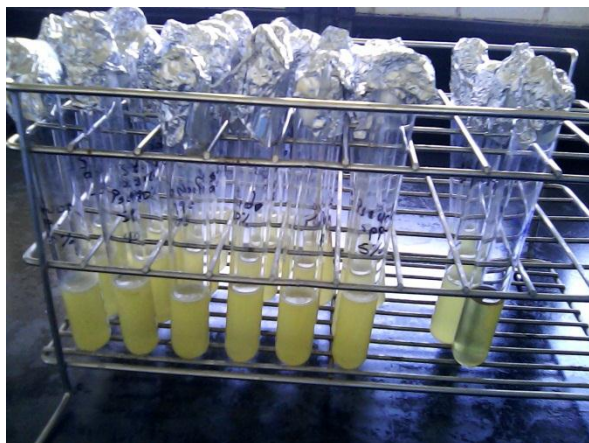




1.4 Resultados segundo ensayo.



1.5 Resultados tercer ensayo.





1.6 Resultados para *Pseudomona aeruginosa* tercer ensayo.



1.7 Comparación entre resultados de *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*



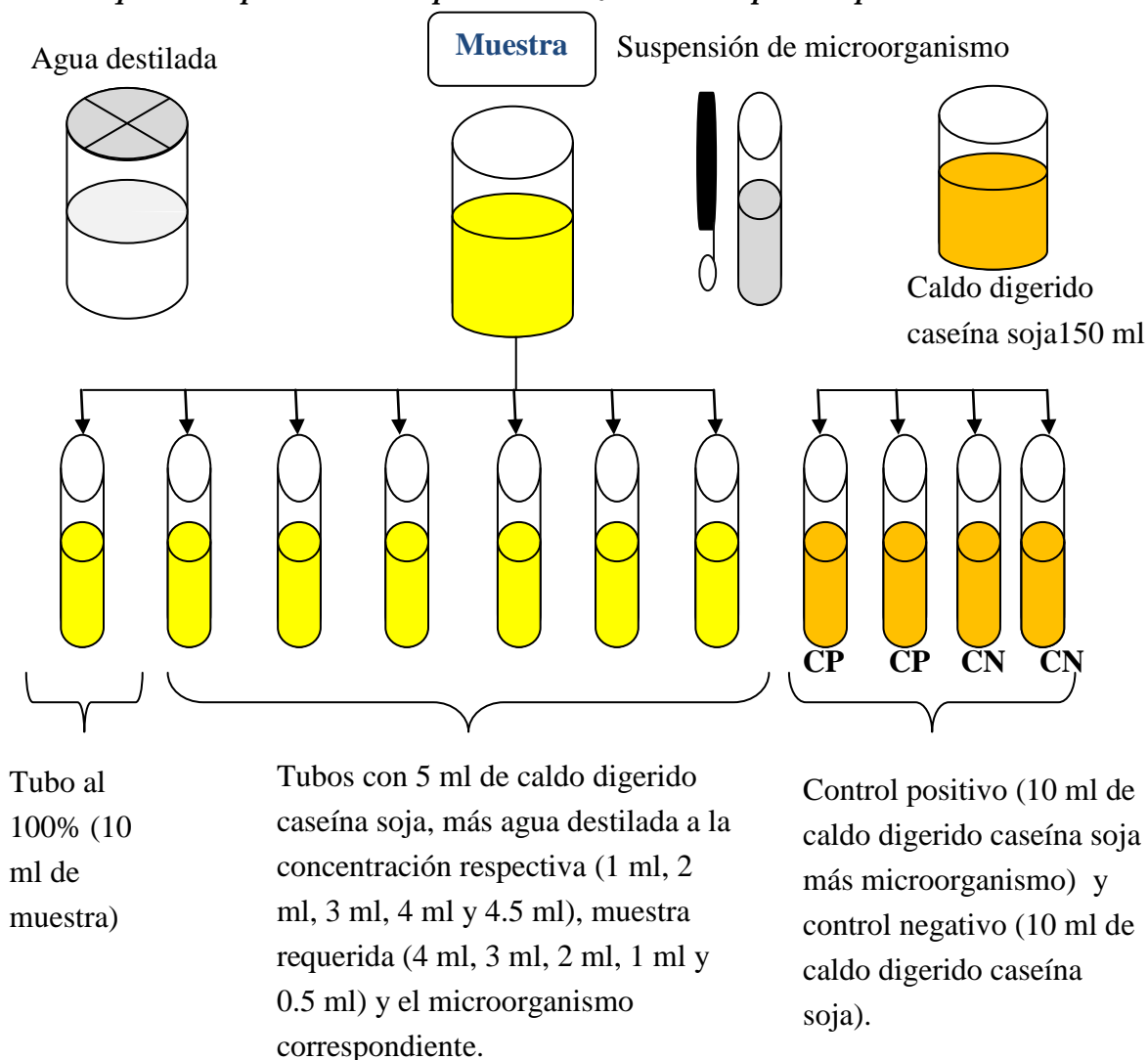


1.8 Crecimiento de *Cándida albicans*





1. Esquema de procedimiento para la realización de la parte experimental



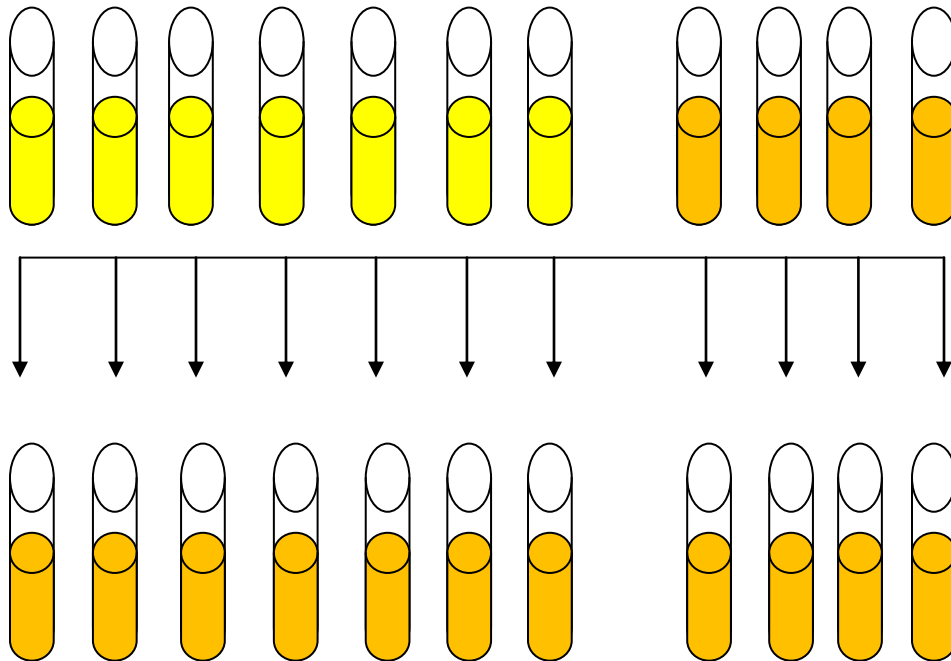
Microorganismo	<i>Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa, Escherichia coli, Salmonella spp.</i>						
Muestra de <i>Ananas comosus</i>	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5	Tubo 6	Tubo 7
Concentración	100%	50%	40%	30%	20%	10%	5 %
ml de jugo <i>Ananas comosus</i>	10 ml	5 ml	4 ml	3 ml	2 ml	1 ml	0.5 ml
Agua destilada			1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	4.5 ml
Caldo Digerido Caseína Soja	---	5ml	5ml	5ml	5ml	5ml	5ml

Incubar los tubos debidamente cerrados a una temperatura de 35-37⁰ C por 24 horas.



- **Sub-cultivo para la lectura de crecimiento microbiano.**

Primer cultivo

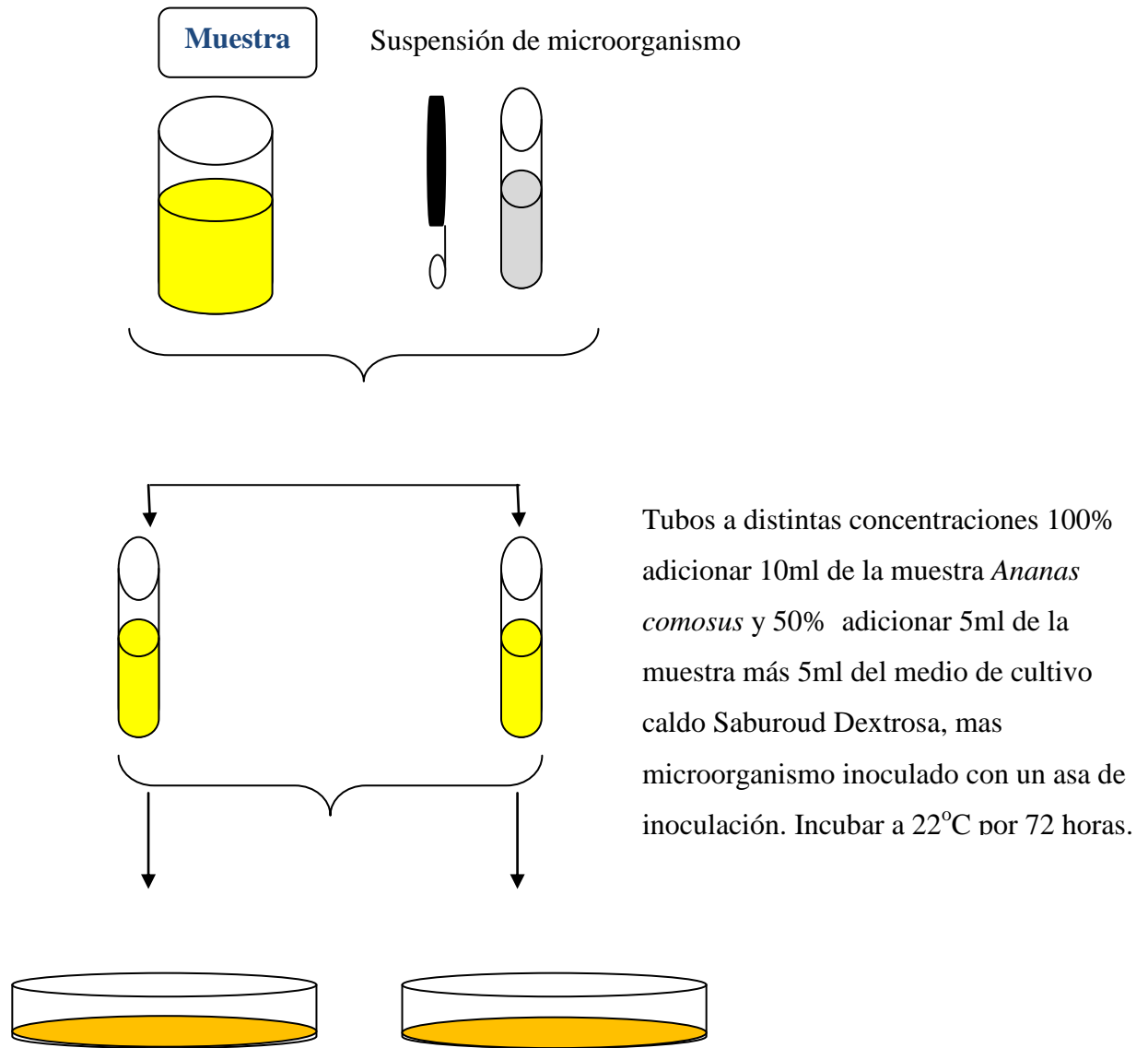


Sub-cultivo de bacterias. Con un asa se inoculación se inocula del primer cultivo al sub-cultivo que contiene 10 ml de caldo digerido Caseína Soja. Incubar los tubos debidamente cerrados a una temperatura de 35-37⁰ C por 24 horas. Evaluar e interpretar resultados.

NOTA: Este procedimiento se realiza con todas las bacterias (gram-positivas y gram-negativas).



2. Procedimiento para *Cándida albicans*.



Tubos a distintas concentraciones 100% adicionar 10ml de la muestra *Ananas comosus* y 50% adicionar 5ml de la muestra más 5ml del medio de cultivo caldo Saburoud Dextrosa, mas microorganismo inoculado con un asa de inoculación. Incubar a 22°C por 72 horas.

Realizar un sub-cultivo en placa del medio anterior, realizando estrías con un asa de inoculación en agar Saburoud dextrosa. Incubar las placas invertidas a una temperatura de 22-25°C por 72 horas.



Microorganismo	<i>Candida albicans.</i>	
Muestra de jugo de pulpa de <i>Ananas comosus</i>	Tubo 1	Tubo 2
Concentración	100%	50 %
Volumen de jugo	10 ml	5 ml
Agua destilada	----	----
Caldo Saburoud dextrosa	----	5ml