

RESUMEN

El agente de biocontrol (ABC) *Candida sake* CPA-1 ha demostrado ser efectivo frente al hongo patogénico *Botrytis cinerea*, el agente causante de la podredumbre gris en muchas frutas. El objetivo de esta Tesis fue el desarrollo de productos de biocontrol (PBC) basados en este ABC y agentes formadores de recubrimiento (AFRs), con una buena estabilidad y efectividad frente a la infección fúngica. Se obtuvieron diversas formulaciones de AFRs, basadas en biopolímeros (hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), almidón de maíz (AM), caseinato sódico (NaCas) y proteína de guisantes (PG)), combinados con tensoactivos (ácido oleico (AO), Span 80 (S80) y Tween 85 (T85)). Todas ellas se analizaron en su capacidad para mejorar la adherencia, supervivencia y eficacia de *C. sake* en uvas. Se estudió también la funcionalidad de estas formulaciones como recubrimientos con y sin la incorporación de células de la levadura. Asimismo, se obtuvieron formulados secos basados en AFRs de bajo coste (derivados de almidón) y *C. sake* por secado en lecho fluido y su estabilidad física y microbiológica fue estudiada en función de su contenido en humedad.

La aplicación de *C. sake* en combinación con AFRs permitió una mejora de la adherencia inicial de la levadura en la superficie de uvas y también una mayor supervivencia. Los recubrimientos basados en proteínas (NaCas y PG) con y sin tensoactivos mostraron los mejores resultados, sugiriendo que estas matrices son soportes más adecuados para el ABC. Los AFRs también mejoraron la efectividad del ABC en el control de la podredumbre gris en comparación con *C. sake* aplicada con agua. NaCas y PG, así como algunas de las formulaciones basadas en AM, dieron lugar a los valores más elevados de reducción de la incidencia y severidad de la infección.

Cuando se analizaron las principales propiedades de las dispersiones formadoras de recubrimiento y las películas, se pudo observar que el tipo de polímero, más que la presencia o tipo de tensoactivo, afectó considerablemente los valores obtenidos. La viabilidad de *C. sake* en las distintas matrices se vio muy afectada durante su almacenamiento a 25°C. Sin embargo, los recubrimientos a base de proteínas mostraron recuentos ligeramente superiores. El espesor estimado de los recubrimientos formados en las uvas fue muy bajo, por lo que éstos no supusieron un efecto barrera relevante para los intercambios de gases de la fruta, aunque fueron suficientes para mejorar la función de *C. sake* como ABC.

La estabilidad física de los diferentes PBCs basados en *C. sake* y derivados de almidón (almidón de patata, almidón de patata pregelatinizado y maltodextrinas) quedó asegurada a actividades de agua (a_w) por debajo de 0.75 a temperatura ambiente, ya que los PBCs se encontraban en estado vítreo. Sin embargo, la viabilidad de *C. sake* a 25°C durante el tiempo se vio altamente disminuida. Mientras valores de $a_w \geq 0.43$ causaron rápidas reducciones en la viabilidad del ABC en todas las formulaciones, valores de $a_w \leq 0.33$ preservaron mejor la viabilidad de la levadura. Esto es un factor clave ya que 0.33 es el valor de a_w de los productos recién obtenidos, por lo que su hidratación debe evitarse para mantener su efectividad en términos de viabilidad celular. No obstante, 20°C no fue considerada una temperatura de conservación adecuada ya que, incluso a valores bajos de a_w , se observó un marcado descenso en el número de células viables. Por su parte, el almacenamiento en frío a 5°C permitió un muy buen mantenimiento de células viables, incluso tras 6 meses de almacenamiento. El PBC basado en

maltodextrinas como soporte principal fue el formulado que mostró el mejor potencial para formular *C. sake* en términos de mantenimiento de la viabilidad celular y practicidad para su aplicación en campo, debido a su rápida solubilidad en agua.