

**EVALUACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE ALMIDÓN DE  
PAPA CON INCORPORACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE CASCARA DE NARANJA  
(*Citrus sinensis*) COMO AGENTE ANTIFUNGICO EN TOMATE CHONTO (*Solanum  
lycopersicum*)**

**ACOSTA PORTILLA ADRIANA LORENA**

**SALAZAR ROSERO LORENA ALEXANDRA**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**SAN JUAN DE PASTO**

**2018**

**EVALUACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE A BASE DE ALMIDÓN DE  
PAPA CON INCORPORACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE CASCARA DE NARANJA  
(*Citrus sinensis*) COMO AGENTE ANTIFUNGICO EN TOMATE CHONTO (*Solanum  
lycopersicum*)**

**ACOSTA PORTILLA ADRIANA LORENA**

**SALAZAR ROSERO LORENA ALEXANDRA**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero  
Agroindustrial**

**Asesor:**

**David Fernando López**

**Ingeniero Agroindustrial**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO**

**FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**SAN JUAN DE PASTO**

**2018**

### **NOTA DE RESPONSABILIDAD**

Las ideas y conclusiones aportadas en este Trabajo de Grado son Responsabilidad de los autores.

Artículo 1 del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Concejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de Aceptación:

---

---

---

---

---

---

---

Firma del Presidente del Jurado

---

Firma del Jurado

---

Firma del Jurado

San Juan de Pasto, Mayo de 2018

## **DEDICATORIA**

Primero que todo agradezco a Dios por bendecir mis decisiones, por su infinita bondad al permitirme lograr un paso más en mi vida.

A mis padres Miguel Ángel Acosta y Oliva Portilla quienes son mi apoyo incondicional y mi ejemplo que seguir.

A Angie Acosta y Fabián Acosta por ser parte importante en mi vida y por estar a mi lado siempre.

A mis amores Ángelo y Luciana, mi motivación para salir adelante y lograr todo lo que me proponga.

A mis profesores y asesor de tesis por compartir sus conocimientos y ser un apoyo profesional.

Y a mis amigos y compañeros por estar conmigo en este camino de aprendizaje.

¡Gracias a todos por acompañarme a lograr un sueño más!

**Adriana Lorena Acosta Portilla**

Dedico este logro a Dios por ser el motor de mi vida y la luz que guía mi camino, a mi padre Armando Salazar por su gran esfuerzo que me inspira a seguir adelante, por su sacrificio, por sus consejos y por su apoyo incondicional, a mi madre Teresa Rosero por su entrega total, por ser mi amiga y compañera, por sus valores, a mi hermano Andrés Salazar por su apoyo y por motivarme a ser un ejemplo a seguir.

A mis abuelos, familiares, amigos y personas especiales en mi vida que aportaron con un granito de arena a cumplir mi meta y que siempre tuvieron una palabra de apoyo y de aliento.

**Lorena Alexandra Salazar Rosero**

## AGRADECIMIENTOS

Ingeniero David López, por su importante asesoría y colaboración en la realización de este trabajo de investigación.

Ph.D Andrés Hurtado Benavides y Ph.D. William Albarracín, quienes a través de sus valiosos aportes contribuyeron en el desarrollo de la investigación

Grupo de investigación “Grupo de apoyo a la investigación y desarrollo agroindustrial – GAIDA” por el aporte en instalaciones y equipos para la realización de esta investigación.

Ingeniera Verónica Jarrin y Amparo Guevara por su amabilidad y apoyo.

Camilo Guerrero por su amabilidad, apoyo y asesoría en la realización de este trabajo de investigación.

Facultad de ingeniería Acuícola, por el aporte en instalaciones del laboratorio de microbiología para el desarrollo de esta investigación.

Ph.D. German Chaves, director de Laboratorios especializados, por su colaboración y acompañamiento en la realización de esta investigación.

Grupo de investigación en materiales funcionales y catálisis (GIMFC). Departamento de Química. Profesor Luis Alejandro Galeano, *Ph. D.* Laboratorio de catálisis (LC). Laboratorio de análisis microbiológico de aguas (LAMA).

A todos los profesores, compañeros y en general a cada una de las personas que de una u otra forma hicieron posible el desarrollo de este trabajo.

## RESUMEN

Se ha reportado que durante el manejo postcosecha de los productos vegetales se pueden estimar pérdidas hasta del 40% del total cosechado, en Colombia el tomate es la hortaliza de mayor importancia a nivel nacional, debido a su amplio consumo, área cosechada y valor económico. Por ello el uso de recubrimientos comestibles son una de las opciones agroindustriales que ha despertado un gran interés, más aún si se adicionan aditivos como extractos de aceites esenciales, que han mostrado una actividad fungicida contra patógenos postcosecha en un amplio intervalo de hongos. El objetivo de la presente investigación fue evaluar un recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) como agente antifúngico tomate chonto (*Solanum lycopersicum*). Se extrajo aceite esencial de cáscara de naranja A.E.C.N. (*C. sinensis*) usando el método de arrastre de vapor, se evaluó su efecto antifúngico a diferentes concentraciones (0,08 %, 0,2 %, 0,5 %, 0,8 % y 1 % v/v), sobre aislamiento de hongos presentes en el tomate chonto, posteriormente en el estudio de las propiedades antifúngicas del A.E.C.N., se determinó la mejor concentración, midiendo el porcentaje de inhibición en cada uno de los tratamientos.

Por otra parte, se desarrolló un recubrimiento comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N., se optimizó la formulación usando un diseño de experimentos factorial  $2^3$ , del tratamiento óptimo se formaron películas por método de casting y se caracterizaron mediante la medición de las siguientes propiedades: termo-gravimetría (TGA), propiedades mecánicas y textura de superficie. Por último, se aplicó el recubrimiento comestible para evaluarlo en el crecimiento fúngico sobre el tomate chonto (*S. lycopersicum*). Como resultados se obtuvieron los siguientes: porcentaje de rendimiento de extracción de A.E.C.N 0.18 %; a una concentración de 1 % inhibió en un 85.4 % el crecimiento de *Alternaria solani* en medio agar PDA. La película óptima presentó un porcentaje de elongación de 4,11 % y un

módulo de elasticidad de 431,11 MPa, resistencia a la tracción de  $6,68 \pm 0,56$  MPa. La aplicación del recubrimiento contribuyó a disminuir la pérdida de firmeza en 23%, además de evitar el crecimiento fúngico por 9 días. Se concluye que la aplicación de el recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. sobre tomate chonto (*S. lycopersicum*), ayudó a disminuir el crecimiento fúngico de *A. solani* y a mantener la firmeza de los frutos durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

**Palabras clave:** recubrimiento comestible, aceite esencial de cáscara de naranja, almidón, termogravimetría, *Solanum lycopersicum*



## ABSTRACT

It has been reported that during the post-harvest management of vegetable products, losses of up to 40% of the total harvested can be estimated. In Colombia, tomato is the most important vegetable in the country, due to its broad consumption, harvested area and economic value. Therefore, the use of edible coatings is one of the agroindustrial options that has aroused great interest, especially if additives such as extracts of essential oils are added, which have shown a fungicidal activity against postharvest pathogens in a wide range of fungi. The objective of the present investigation was to evaluate a coating based on potato starch with the incorporation of essential oil of orange peel (*Citrus sinensis*) as an antifungal agent tomato chonto (*Solanum lycopersicum*). Orange peel essential oil A.E.C.N. (*C. sinensis*) using the steam entrainment method, its antifungal effect was evaluated at different concentrations (0.08%, 0.2%, 0.5%, 0.8% and 1% v / v), on isolation of fungi present in tomato chonto, later in the study of the antifungal properties of the AECN, the best concentration was determined, measuring the percentage of inhibition in each of the treatments.

On the other hand, an edible coating based on potato starch was developed with the incorporation of AECN, the formulation was optimized using a design of factorial experiments 2<sup>3</sup>, of the optimal treatment films were formed by casting method and characterized by measuring The following properties: thermo-gravimetry (TGA), mechanical properties and surface texture. Finally, the edible coating was applied to evaluate it in the fungal growth on chonto tomato (*S. lycopersicum*). The following results were obtained: percentage of extraction yield of A.E.C.N 0.18%; at a concentration of 1% inhibited in 85.4% the growth of *Alternaria solani* on PDA agar medium. The optimum film showed an elongation percentage of 4.11% and a modulus of elasticity of 431.11 MPa, tensile strength of  $6.68 \pm 0.56$  MPa. The application of the coating helped to reduce the loss of firmness by 23%, in addition to avoiding fungal growth for 9 days. It

is concluded that the application of the coating based on potato starch with the incorporation of A.E.C.N. on tomato chonto (*S. lycopersicum*), helped to reduce the fungal growth of *A. solani* and to maintain the firmness of the fruits during storage at room temperature.

**Keywords:** edible coating, orange peel essential oil, starch, thermogravimetry, *Solanum lycopersicum*

**CONTENIDO**

	<b>Pág.</b>
Introducción .....	20
1. Planteamiento del problema y justificación .....	22
2. Objetivos .....	25
2.1 Objetivo general .....	25
2.2 Objetivos específicos.....	25
3. Marco Teórico .....	26
3.1 Fundamentos teóricos.....	26
3.1.1 Recubrimientos.....	26
3.1.2 Aceites esenciales.....	30
3.1.3 Tomate Chonto ( <i>Solanum lycopersicum</i> ).....	34
3.1.3.1 Enfermedades fúngicas en el tomate .....	36
3.2 Antecedentes .....	42
4. Metodología .....	52
4.1 Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico del aceite de cascara de naranja ( <i>Citrus sinensis</i> ) a diferentes concentraciones sobre tomate chonto. ....	52
4.1.1 Extracción de aceite de cáscara de naranja .....	52
4.1.2 Caracterización del A.E.C.N. ....	54
4.1.3 Aislamiento de hongos en tomate. ....	54
4.1.4 Selección de hongo.....	60
4.1.5 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N. ....	60

4.2 Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de almidón con la incorporación de A.E.C.N. ....	61
4.2.1 Caracterización del almidón nativo de papa. ....	61
4.2.2 Pruebas preliminares. ....	63
4.2.3 Formulación de recubrimiento y formación de películas.....	65
4.2.4 Diseño de experimentos. ....	66
4.2.5 Caracterización de la película optima .....	68
4.3 Evaluación del recubrimiento con la incorporación de A.E.C.N. sobre el crecimiento fúngico.....	70
4.3.1 Aplicación del recubrimiento .....	70
4.3.2 Evaluación del recubrimiento comestible sobre el tomate chonto ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) .....	70
4.3.3 Evaluación del crecimiento fúngico sobre el tomate chonto ( <i>Solanum lycopersicum</i> ).....	72
5. Resultados .....	73
5.1 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N. a diferentes concentraciones. ....	73
5.1.1 Extracción de A.E.C.N.....	73
5.1.2 Caracterización del A.E.C.N.....	73
5.1.3 Aislamiento de hongos en Tomate. ....	75
5.1.4 Selección de hongo.....	81
5.1.5 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N. ....	84
5.2 Desarrollar un recubrimiento comestible a base de almidón con la incorporación de A.E.C.N. ....	87
5.2.1 Caracterización de la base del recubrimiento a base de almidón de papa.....	87
5.2.2 Pruebas preliminares. ....	88

5.2.3 Formulación del recubrimiento comestible a base de almidón de papa y aceite esencial de cascara de naranja.....	90
5.2.4 Caracterización de la película óptima. ....	96
5.3 Evaluación del efecto del recubrimiento con la incorporación de A.E.C.N sobre el crecimiento fúngico.....	100
5.3.1 Evaluación de la firmeza del tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ) con aplicación del recubrimiento. ....	100
5.3.2 Evaluación del crecimiento fúngico sobre el tomate chonto ( <i>Solanum lycopersicum</i> ) .....	103
6. Conclusiones .....	107
7. Recomendaciones.....	109
Referencias Bibliográficas .....	110
ANEXOS.....	136

**LISTA DE TABLAS**

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Composición fisicoquímica aproximada de la cáscara de naranja. (DM: Materia seca).....	32
Tabla 2. Contexto taxonómico del género <i>Lycopersicum</i> .....	35
Tabla 3. Composición nutricional del tomate por 100 gramos de tomate fresco. ....	35
Tabla 4. Matriz experimental. ....	67
Tabla 5. Concentración relativa (%) e identificación por CG/EM de los principales componentes del A.E.C.N. ....	74
Tabla 6.A. Colonias identificadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ) y sus características macroscópicas.....	76
Tabla 6.B. CONTINUACIÓN. Colonias identificadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ) y sus características macroscópicas. ....	77
Tabla 7. Grupos de colonias identificadas en el aislamiento fúngico de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). ....	78
Tabla 8.A. Características microscópicas, hongos aislados de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). ....	79
Tablas 8.B. CONTINUACION. Características microscópicas, hongos aislados de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ).....	80
Tabla 9. Porcentaje de Inhibición del crecimiento micelial de <i>A. solani</i> en medio PDA con A.E.C.N .....	84
Tabla 10. Prueba de Múltiple Rangos para % Inhibición por Tratamientos .....	85

Tabla 11.	Capacidad de absorción de agua (g agua/g almidón), solubilidad en agua (g soluble/ g muestra) de almidón de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> ). .....	87
Tabla 12.	Análisis de varianza para resistencia a la tracción de películas a diferentes formulaciones. ....	91
Tabla 13.	Resistencia a la tracción de películas a diferentes formulaciones de recubrimiento a base de almidón de papa. ....	93
Tabla 14.	Porcentaje de elongación (%) y Modulo de Young (Mpa) de la película óptima. ....	96
Tabla 15.	Firmeza (N) de Tomate chonto con recubrimiento a base de almidón de papa para los días 0 y 12 de evaluación. ....	101
Tabla 16.	Seguimiento visual, crecimiento fúngico en frutos de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). ....	103

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. A), B) Enfermedad postcosecha causada por <i>Geotrichum candidum</i> .....	37
Figura 2. A), B) Enfermedad postcosecha causada por <i>Rhizopus stolonifer</i> .....	38
Figura 3. A), B) Enfermedad postcosecha causada por <i>Colletotrichum sp.</i> .....	39
Figura 4. Enfermedad postcosecha causada por <i>Botrytis cinerea</i> . ....	40
Figura 5. A), B) Enfermedad postcosecha causada por <i>Alternaria solani</i> . ....	41
Figura 6. Enfermedad postcosecha causada por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....	42
Figura 7. Gráfico de medias 95% de Fisher LSD para % Inhibición por Tratamientos.....	86
Figura 8. Diagrama de Pareto estandarizado para resistencia a la tracción, película a base de almidón de papa. ....	92
Figura 9 Gráfico de medias 95% de Fisher LSD para resistencia a la tracción a diferentes tratamientos de películas a base de almidón de papa. ....	94
Figura 10. Curva de TGA de la película comestible a base se almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N.....	99
Figura 11. Firmeza (N) de los frutos de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). Evaluación de 12 días. ....	101
Figura 12. Gráfico de medias 95% de Fisher LSD. Firmeza de frutos de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). Evaluación día 12. ....	102



## LISTA DE IMÁGENES

	<b>Pág.</b>
Imagen 1.	Acondicionamiento de cáscara de naranja ( <i>C. sinensis</i> ). ..... 52
Imagen 2.	Equipo de extracción por arrastre de vapor de agua. .... 53
Imagen 3.	Extracción por arrastre de vapor de A.E.C.N..... 54
Imagen 4.	A) Gentamicina sulfato. B) Agar PDA. C) Preparación solución agar PDA..... 55
Imagen 5.	A) Autoclave. B) Esterilización agar PDA. .... 55
Imagen 6.	Dispensación de agar PDA en cajas Petri. .... 56
Imagen 7.	Tomate chonto con enfermedades postcosecha. .... 56
Imagen 8.	Siembra epicarpio de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). ..... 57
Imagen 9.	Colonias formadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). ..... 58
Imagen 10.	A) Repique de colonias de hongos aislados de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ). B) Almacenamiento de las colonias ya repicadas en tubos de ensayo..... 58
Imagen 11.	Purificación del repique de colonias de hongos de tomate chonto en agar PDA. Colonia A, colonia B, colonia C, colonia D, colonia E, colonia F..... 59
Imagen 12.	Placas para visualización microscópica de las colonias formadas mediante técnica de cinta adhesiva. .... 59
Imagen 13.	Baño maría. .... 62
Imagen 14.	Centrifuga con muestras de almidón. .... 62
Imagen 15.	Gel forado por el almidón. .... 63
Imagen 16.	Secado del sobrenadante ..... 63

Imagen 17.	Pruebas preliminares de la formulación de recubrimientos. ....	64
Imagen 18.	Formación de películas de los recubrimientos de las pruebas preliminares. ....	65
Imagen 19.	Elaboración de recubrimiento .....	66
Imagen 20.	A) y B) Secado de películas. ....	66
Imagen 21.	Acondicionamiento de las películas comestibles de cada tratamiento.....	68
Imagen 22.	Medición de humedad de las películas comestibles .....	68
Imagen 23.	Anàlisis termogravimétrico de la película optima.....	69
Imagen 24.	Estereomicroscopio. ....	69
Imagen 25.	Aplicación del recubrimiento sobre tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ), por inmersión.....	70
Imagen 26.	Medición de firmeza a las muestras de tomate chonto ( <i>S. lycopersicum</i> ), (blanco, control, muestras con recubrimiento y A.E.C.N.) con texturòmetro. ...	71
Imagen 27.	Inoculación de las muestras de tomate ( <i>S. lycopersicum</i> ), (blanco, control, tratamiento), con hongo <i>A. solani</i> . ....	72
Imagen 28.	Aceite esencial de cáscara de naranja ( <i>C. sinensis</i> ). ....	73
Imagen 29.	A) Blanco, agar PDA. Crecimiento colonia de <i>Rhizopus stolonifer</i> en medio PDA sin A.E.C.N*. (B y D). Crecimiento colonia de <i>Geotrichum candidum</i> en medio PDA sin A.E.C.N. (C y E).....	82
Imagen 30.	A) Blanco, agar PDA. Crecimiento colonia de <i>Alternaria solani</i> en medio PDA sin A.E.C.N (B y D). Crecimiento colonia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en medio PDA sin A.E.C.N (C y E).....	82
Imagen 31.	A) Crecimiento colonia de <i>Geotrichum candidum</i> en medio PDA y A.E.C.N*. B) Crecimiento colonia de <i>Rhizopus stolonifer</i> en medio PDA A.E.C.N. C) Crecimiento colonia de <i>Alternaria solani</i> en medio PDA	

	A.E.C.N. D) Crecimiento colonia de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> en medio PDA A.E.C.N.....	83
Imagen 32.	A) y B) Formación de película antes de adicionar pectina. ....	90
Imagen 33.	A) y B) Formación de película después de adicionar pectina. ....	90
Imagen 34.	Observación en estereomicroscopio de la película comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N.....	100
Imagen 35.	Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto sin recubrimiento (BLANCO) durante 12 días. A) Día 0, B) Día 3, C) Día 6, D) Día 9, E) Día 12.....	104
Imagen 36.	Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto con recubrimiento sin A.E.C.N. (control) durante 12 días. F) Día 0, G) Día 3, H) Día 6, I) Día 9, J) Día 12.....	105
Imagen 37.	Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto con recubrimiento y A.E.C.N. (tratamiento) durante 12 días. K) Día 0, L) Día 3, M) Día 6, N) Día 9, O) Día 12 .....	106

## Introducción

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento (García-Ramos *et al.*, 2010). Por otra parte, una película comestible (PC) es una matriz preformada, delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo. Dichas soluciones formadoras de PC o RC pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Quintero *et al.*, 2010).

El almidón es un biopolímero que forma estructuras continuas que pueden ser cristalinas o amorfas, y estas actúan a manera de barrera frente a distintas sustancias que se desea evitar que interactúen con el alimento durante su almacenamiento y comercialización (Cruz *et al.*, 2013); excelente para modificar la textura y consistencia de los alimentos y su funcionalidad depende del peso molecular promedio de la amilosa y la amilopectina, así como de la organización molecular de estos glucanos dentro del gránulo, por lo que se usa como adhesivo, ligante, enturbiante, formador de películas, estabilizante de espumas, gelificante, humectante, estabilizante, texturizante y espesante (Achipiz *et al.*, 2013). Las películas a base de almidón tienen propiedades físicas como: son transparentes, no tienen olor ni sabor, resistentes a la transmisión de oxígeno, biodegradables y de bajo costo (Stagner *et al.*, 2012).

Además de esto, en la actualidad, varios autores han utilizado los aceites esenciales como aditivos en las formulaciones de sus recubrimientos. La incorporación de agentes antimicrobianos como es el caso de los aceites esenciales (anís, cardamo y tomillo) en películas, cubiertas o empaques, se ha probado en varios productos alimenticios como carne y productos de panadería, inhibiendo el desarrollo de hongos, bacterias y levaduras (Cagri *et al.*, 2004). En Colombia el tomate es la hortaliza de mayor importancia a nivel nacional, debido a su amplio consumo, área

cosechada y valor económico (Carmen y Lobo, 2010). La búsqueda de alternativas de conservación se ha asociado con la utilización de antimicrobianos de origen vegetal como los extractos y aceites esenciales, que garanticen frutos de mejor calidad y sin contaminantes químicos.

En este contexto, la investigación fue encaminada al aprovechamiento del almidón y subproductos de la naranja considerados desechos como la cáscara, para que sirvan como materias primas en la elaboración de recubrimientos comestibles que permitan prolongar la vida útil de los alimentos que se producen en la región tales como el tomate, permitiendo así obtener productos de mayor calidad y competitividad en el mercado local y nacional. De acuerdo con lo anterior, esta investigación tuvo como objetivo evaluar un recubrimiento comestible a base de almidón de papa con incorporación de A.E.C.N. como agente antifúngico tomate chonto (*S. lycopersicum*).

## 1. Planteamiento del problema y justificación

El problema del deterioro microbiano de los alimentos tiene implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo). Se calcula que más del 20% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos (Rodríguez, 2011).

Según DANE-ENA (2013), en Colombia durante el año 2013 se cultivaron 6.867 hectáreas, de las cuales se cosecharon 4.161 hectáreas que produjeron 175.706 toneladas de tomate de mesa, con rendimientos promedios de 42,5 toneladas por hectárea cada semestre. Se ha reportado que durante el manejo postcosecha de los productos vegetales se pueden estimar pérdidas hasta del 40% del total cosechado, estas varían entre productos, áreas de producción y época del año (Aular, 2006). De las principales razones que generan deterioro de los tomates y de diversos productos hortícolas es la incidencia de enfermedades causadas principalmente por hongos de diversos géneros, generalmente se desarrollan al tener varios días expuestos al medio sin ningún tratamiento de conservación, éstos no aparecen durante el crecimiento de las plantas, en algunos casos permanecen en estado latente hasta la maduración del producto hortícola y otros se adquieren durante la cosecha, el transporte y/o el manejo del producto (Ogden *et al.*, 2005; Beverly *et al.*, 2008), también se puede presentar por contaminación cruzada durante la manipulación y preparación del producto agrícola crudo (Bartz *et al.*, 2015).

Hoy en día la industria de alimentos utiliza en todo el mundo una gran cantidad de antimicrobianos sintéticos. Estos difieren según el país, ya que su uso está restringido por las leyes alimentarias de cada nación. El control del crecimiento microbiano es uno de los factores más importantes a considerar en la conservación de alimentos, por lo que la sustitución de los

agentes antimicrobianos sintéticos por sustancias naturales que no alteren las características sensoriales y nutricionales de los alimentos se hace cada vez más atractiva (Velázquez, 2010).

Muchos investigadores concuerdan en señalar que el interés en el desarrollo y uso de empaques, a base de biomateriales, para prolongar la vida anaquel y mejorar la calidad de los productos alimenticios, ha venido creciendo debido a: a) la necesidad de reducir y sustituir el empleo de plásticos y envases sintéticos, por materiales menos agresivos con el medio ambiente; b) el incremento en las expectativas del consumidor por una mayor variedad de productos frescos; c) la demanda por alimentos con mayor vida útil; d) la expansión de los canales de distribución (Méndez, 2005). Por tal razón, las películas o recubrimientos comestibles pueden resultar una forma innovadora y efectiva de proteger al alimento, reduciendo al mismo tiempo el uso de envases no recuperables (Soliva y Martin 2001).

Por otra parte, la agroindustrialización de la naranja se concentra principalmente en la producción de jugos; durante este proceso, se pierde entre el 23 y 40 % de cascara en peso de la fruta (Marulanda P., 2001) este se obtiene como desecho principal, generando un problema ambiental en la disposición de los mismos. Una parte de estos desechos de cáscaras son utilizados como alimento animal, sin embargo, las cáscaras de naranja tienen compuestos como los aceites esenciales y las pectinas que pueden ser aprovechados para generar un mayor valor agregado al proceso. El efecto antifúngico del aceite esencial extraído de la cascara de naranja aplicado en recubrimientos comestibles sobre frutas y hortalizas se ha estudiado poco, aunque se ha afirmado que es eficaz contra el crecimiento de algunos mohos de importancia en alimentos (Velázquez, 2010).

Una opción de conservación para el tomate susceptible al ataque de hongos podría ser la utilización de A.E.C.N., incorporado a un recubrimiento comestible a base de almidón de papa como inhibidor del crecimiento fúngico.

Pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de almidón de papa con incorporación de aceite esencial de cascara de naranja como agente antifúngico sobre el tomate chonto?



## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general

Evaluar un recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de aceite esencial de cascara de naranja (*C. sinensis*) como agente antifúngico sobre tomate chonto (*S. lycopersicum*).

### 2.2 Objetivos específicos

- Evaluar a nivel *in vitro* el efecto antifúngico del aceite esencial de cáscara de naranja (*C. sinensis*).
- Desarrollar un recubrimiento comestible a base de almidón con la incorporación de aceite esencial de cáscara de naranja (*C. sinensis*).
- Aplicar el recubrimiento comestible y evaluar el crecimiento fúngico sobre el tomate chonto (*S. lycopersicum*)

### 3. Marco Teórico

#### 3.1 Fundamentos teóricos

##### 3.1.1 Recubrimientos

###### Generalidades

Un recubrimiento comestible (RC) es una película que envuelve al alimento cumpliendo con algún tipo de función y que puede ser consumida como parte del mismo (Pastor *et al.*, 2005), cumple con las exigencias de los consumidores actuales: productos saludables, mínimamente procesados, sin agregado de agentes químicos, y de producción sustentable. Siendo por lo tanto una de las alternativas con más futuro en el campo del envasado y conservación de alimentos. (Parzanese, 2012). Los recubrimientos comestibles cumplen diferentes funciones:

- Evita ganancia o pérdida de humedad, que puede provocar una modificación de la textura, turgencia.
- Ralentiza cambios químicos que pueden afectar al color, aroma o valor nutricional del alimento.
- Actúa como barrera al intercambio de gases que puede influir en gran medida en la estabilidad de los alimentos sensibles a la oxidación de lípidos, vitaminas y pigmentos. • Mejorando la estabilidad microbiológica.
- Mejora la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas.

Una de las características de los recubrimientos comestibles, es la capacidad que presentan en cuanto a la liberación controlada de sustancias activas. Las películas comestibles tienen la capacidad de controlar las velocidades de liberación de manera específica y con ello ayudan a alcanzar la efectividad máxima de las funciones de las sustancias activas incorporadas (Han, 2003).

## **Propiedades específicas de los recubrimientos a base de lípidos, proteínas y polisacáridos aplicados en frutas y hortalizas**

El recubrimiento puede estar conformado por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos Quintero, (2010). El mecanismo por el cual los recubrimientos conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera física a los gases, produciendo una atmósfera modificada ya que reducen la disponibilidad de O<sub>2</sub> incrementan la concentración de CO<sub>2</sub> (González-Aguilar *et al.*, 2005).

*Recubrimientos a base de lípidos:* son muy eficientes para reducir la deshidratación de los productos debido a su baja polaridad presentan una escasa permeabilidad al vapor de agua (Kester y Fennema, 1986). La pérdida de humedad en frutas y vegetales frescos disminuye la firmeza y el peso de los productos afectando su calidad y como consecuencia ocurren pérdidas económicas durante su comercialización (Avena-Bustillos *et al.*, 1994). Estos recubrimientos presentan algunas limitaciones tales como, propiedades mecánicas pobres y en ocasiones mala apariencia (García *et al.*, 2000); es por eso que los lípidos son mezclados con otras sustancias como polisacáridos, ya que estas combinaciones proporcionan al recubrimiento mayor estabilidad (Martín-Belloso *et al.*, 2005).

*Recubrimientos a base de proteínas:* los recubrimientos hechos a base de proteínas presentan mejores propiedades de barrera a los gases, sin embargo, la resistencia que presenta al vapor de agua es menor debido a su naturaleza hidrofílica (Pérez-Gago y Krochta, 2002).

*Recubrimientos a base de polisacáridos:* los recubrimientos hechos a base de polisacáridos han sido los más utilizados para recubrir frutos, y esto es debido a sus propiedades mecánicas de adherencia y flexibilidad en la superficie de los productos hortofrutícolas (Ramos *et al.*, 2010).

Además, se pueden incorporar otros componentes que ayuden a mejorar las propiedades finales del film como plastificantes y/o faciliten su obtención como surfactantes y emulsionantes.

Otra gama de ingredientes de los RC de gran interés son los antioxidantes, antimicrobianos, y reafirmantes de la textura con el fin de mejorar las propiedades de las coberturas. Se ha demostrado que algunos aditivos actúan más efectivamente en alimentos cuando son aplicados formando parte del recubrimiento que cuando son aplicados en soluciones acuosas mediante dispersión o inmersión, ya que las coberturas pueden mantener los aditivos en la superficie del alimento durante más tiempo (Baldwin *et al.*, 1996).

### **Recubrimientos comestibles a base de almidones:**

Estructuralmente, el almidón consiste en dos polisacáridos químicamente distinguibles: la amilosa y la amilopectina. La amilosa es un polímero lineal de unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$  (1-4), en el cual algunos enlaces  $\alpha$  (1-6) pueden estar presentes. Esta molécula no es soluble en agua, pero puede formar micelas hidratadas por su capacidad para enlazar moléculas vecinas por puentes de hidrógeno y generar una estructura helicoidal que es capaz de desarrollar un color azul por la formación de un complejo con el yodo (Knutzon y Grove, 1994). Mientras que la amilopectina es un polímero ramificado de unidades de glucosa unidas en un 94-96% por enlaces  $\alpha$  (1-4) y en un 4-6% con uniones  $\alpha$  (1-6). Dichas ramificaciones se localizan aproximadamente a cada 15-25 unidades de glucosa. La amilopectina es parcialmente soluble en agua caliente y en presencia de yodo produce un color rojizo violeta (Guan y Hanna, 2004).

Almidones de diferentes fuentes como trigo, maíz, papa y yuca se han utilizado, obteniendo, con este último, películas con buenas propiedades de flexibilidad y permeabilidad al vapor de agua (Parra *et al.*, 2004).

El almidón es excelente para modificar la textura y consistencia de los alimentos y su funcionalidad depende del peso molecular promedio de la amilosa y la amilopectina (Montes *et al.*, 2008) así como de la organización molecular de estos glucanos dentro del gránulo (Acosta *et al.*, 2006) por lo que se usa como adhesivo, ligante, enturbiantes, formador de películas,

estabilizante de espumas, agente anti-envejecimiento de pan, gelificante, glaseante, humectante, estabilizante, texturizante y espesante (Garnica *et al.*, 2010).

En la papa los carbohidratos son el principal constituyente (85% en base seca) (Guízar *et al.*, 2008) y los gránulos de almidón contiene aproximadamente 24% de amilosa (Ceballos y De la cruz, 2001) además contiene aproximadamente 4,04% de cenizas, 10% de proteína, 0,39% de lípidos. Estos últimos forman complejos con la amilosa, lo cual puede ser favorable en la elaboración de recubrimientos (Guízar *et al.*, 2008).

### **Almidón de papa**

La papa es uno de los cultivos más importantes para alimentar a la población mundial. Al mismo tiempo, puede ser empleada para el proceso industrial y la producción de almidón. El almidón se produce en la mayoría de las plantas, pero sólo a partir de determinadas especies puede obtenerse industrialmente (Šimkova *et al.*, 2013). Las variedades de papas utilizadas para la obtención de almidón son comerciales, pero también es posible extraer almidón de variedades nativas, con lo que se incrementa un valor agregado a éstas. Entre ellas, *Solanum phureja* es una variedad de papa nativa, que crece a una altitud entre 3700 - 4450 msnm, generalmente cultivada y consumida por el mismo agricultor (Hanco *et al.*, 2008). El almidón en la papa constituye su principal fuente de almacenamiento de energía y su contenido varía según los cultivares y estado del crecimiento de la planta, y se encuentra en el rango de 66 a 80% en base seca (Liu *et al.*, 2007). El almidón de diferentes fuentes botánicas varía en su composición, morfología, estructura molecular tanto como su arreglo y contenido de amilosa y amilopectina (Hoover, 2010; Liu *et al.*, 2007). El almidón es muy utilizado en la industria alimentaria debido a sus propiedades tales como su baja temperatura de gelatinización y su baja tendencia a la retrogradación (Hoover, 2010). Las variaciones en las propiedades de los geles de almidón podrían ser causadas por diferentes factores, tales como el tamaño del gránulo de almidón (Zaidul *et al.*, 2007), contenido

de fósforo y de amilosa (Kaur *et al.*, 2007), el complejo amilosa lípido y la estructura de la amilopectina (Liu *et al.*, 2007).

### **Incorporación de aditivos en los recubrimientos**

Los recubrimientos se pueden utilizar como vehículo de aditivos, los cuales pueden proporcionar al producto vegetal funciones más específicas como una actividad antimicrobiana, para evitar o reducir el crecimiento de microorganismos en su superficie (Rodríguez *et al.*, 2005).

*Aplicación de aceites esenciales en recubrimientos comestibles:* En la actualidad, varios autores han utilizado los aceites esenciales como aditivos en las formulaciones de sus recubrimientos. La incorporación de agentes antimicrobianos como es el caso de los aceites esenciales (anís, cardamo y tomillo) en películas, cubiertas o empaques, se ha probado en varios productos alimenticios como carne y productos de panadería, inhibiendo el desarrollo de hongos, bacterias y levaduras (Cagri *et al.*, 2004).

### **Cera de abeja**

La cera de abeja es una cera comercial que ha sido ampliamente utilizada como aditivo de calidad en la fabricación de cosméticos, en industria farmacéutica y alimentaria. Debido a su alta hidrofobicidad y excelente resistencia a la humedad, la cera de abejas es un candidato favorable para la preparación de películas y recubrimientos comestible con la combinación de polisacáridos o proteínas (Zhang *et al.* 2014) se reportan estudios de aplicación de cera de abeja en recubrimientos sobre ciruelas (Navarro–Tarazaga *et al.* 2013), fresas (Velickova *et al.* 2013) y chontaduro (Tosne *et al.* 2014).

#### **3.1.2 Aceites esenciales**

En los últimos años ha habido un creciente interés en el uso de sustancias naturales, y algunas cuestiones relativas a la seguridad de los compuestos sintéticos han animado a estudios más detallados de los recursos vegetales. Los aceites esenciales, productos olorosos y volátiles del

metabolismo secundario de las plantas, tienen una amplia aplicación en la medicina popular, aroma y conservación de alimentos, así como en las industrias de fragancia (Kalemba y Kunicka, 2003). Se informan factores que influyen en la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales y los mecanismos de acción de los aceites esenciales en los microorganismos. Los aceites esenciales han mostrado una actividad fungicida contra patógenos postcosecha en un amplio intervalo de hongos (Daferera *et al.*, 2000).

### **Mecanismo de acción de los aceites esenciales**

En cuanto a su modo de acción, los componentes de los aceites esenciales afectan funciones metabólicas importantes en la célula microbiana, como la respiración o la producción de toxinas o ácidos; sin embargo, pueden presentar diferente especificidad en función de los sitios activos de la célula microbiana, de acuerdo a la composición de la misma (López-Malo *et al.*, 2005). Por otro lado, se ha demostrado en diversos estudios que los aceites esenciales pueden provocar deterioro importante en la pared celular de los microorganismos, daño en la membrana citoplasmática, daño a las proteínas esenciales de la membrana, filtración de los contenidos celulares, coagulación del citoplasma, agotamiento de las fuerzas motrices de los protones, deterioro en diversos sistemas enzimáticos y cambios en la funcionalidad del material genético de la célula (López-Malo, 1995; Burt, 2004; Luqman *et al.*, 2007; Ayala-Zavala *et al.*, 2008a; Gutiérrez *et al.*, 2008a).

**Aceite esencial de cáscara de naranja**

Tabla 1.

*Composición fisicoquímica aproximada de la cáscara de naranja. (DM: Materia seca).*

Parámetro	Valor
<b>Sólidos Solubles (°Brix)</b>	7,1 ± 1,2
<b>pH</b>	3,93 ± 0,03
<b>Total de acidez (g de ácido cítrico/100 mL)</b>	0,29 ± 0,03
<b>Índice de formol</b>	34 ± 2,4
<b>Humedad %</b>	85,9 ± 1,6
<b>Grasa % (DM)</b>	1,55 ± 0,17
<b>Ceniza % (DM)</b>	3,29 ± 0,19
<b>Proteína % (DM)</b>	6,16 ± 0,23
<b>Carbohidratos % (DM)</b>	89,0 ± 1,1
<b>Fibra soluble % (DM)</b>	
<b>Azúcares Neutrales</b>	3,8 ± 0,3
<b>Ácido urónico</b>	7,1 ± 0,9
<b>Lignina</b>	3,2 ± 0,4
<b>Pectina % (DM)</b>	17 ± 5

**Fuente:** Cerón y Cardona, (2010)

El A.E.C.N. es un antidepresivo, sedante, los aromas terapéuticos creen que este aroma ayuda a mejorar la comunicación y es muy efectivo en contra de la celulitis, porque ayuda a activar la circulación (Fowler, 1998). Se utiliza en la industria de fármacos y como cosméticos porque limpia y revive la piel opaca, ayudando la eliminación de excesos de fluidos y toxinas, también es usado por sus propiedades germicidas, antioxidantes y anticancerígenas en la producción de fármacos (Lawless, 1995).

El A.E.C.N. se encuentra principalmente en sacos de forma ovalada en el flavedo o en la porción anaranjada de la cáscara y actúa como una barrera tóxica natural para muchos microorganismos e insectos. La recuperación del aceite se efectúa generalmente por métodos mecánicos “presión en frío de la cáscara”, sin embargo, también se realiza el proceso de extracción del aceite por medio de hidrodestilación (HD), destilación con vapor (VD), hidrodestilación asistida por microondas (MWHD), extracción con solvente (SE) y extracción



con fluidos supercríticos (CO<sub>2</sub> (SFE)). La calidad del aceite depende de factores que influyen sobre la composición como las condiciones geobotánicas del medio (clima, altitud, tipo de suelo, cantidad de lluvias, etc.), edad de la planta y estado fenológico, método de cultivo (uso de fertilizantes, abono, pesticidas, otros químicos, etc.), época de recolección, modo de manejo y almacenamiento del material vegetal (fresco, seco, fermentado, etcétera.) y método de obtención del aceite (destilación, maceración, prensado, extracción con solventes, extracción con fluidos supercríticos, etc.) (Argyropoulou, 2007).

### **Extracción de A.E.C.N. por arrastre de vapor**

Se define como el proceso para obtener el aceite esencial de una planta aromática, mediante el uso del vapor saturado a presión atmosférica. El generador de vapor no forma parte del recipiente donde se almacena la materia prima, es externo y suministra un flujo constante de vapor. Su presión es superior a la atmosférica, pero el vapor efluente, que extrae al aceite esencial está a la presión atmosférica. La materia prima forma un lecho compacto y se desprecia el reflujó interno de agua debido a la condensación del vapor circundante. Para describir el proceso extracción se deben tomar en cuenta las siguientes consideraciones: la materia prima vegetal es cargada en una marmita, de manera que forme un lecho fijo compactado. Su estado puede ser molido, cortado, entero o la combinación de éstos. El vapor de agua es inyectado mediante un distribuidor interno, próximo a su base y con la presión suficiente. La generación del vapor puede ser local (hervidor), remota (caldera) o interna (base del recipiente). Conforme el vapor entra en contacto con el lecho, la materia prima se calienta y va liberando el aceite esencial contenido y éste, a su vez, debido a su alta volatilidad se va evaporando. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador. En el condensador, la mezcla es condensada y enfriada, hasta la temperatura ambiental. A la salida del condensador, se obtiene una emulsión líquida inestable, la cual, es separada en un decantador dinámico o florentino (Rodríguez *et al.*, 2012).

### **3.1.3 Tomate Chonto (*Solanum lycopersicum*)**

#### **Generalidades**

En Colombia el tomate es la hortaliza de mayor importancia a nivel nacional, debido a su amplio consumo, área cosechada y valor económico. (Carmen y Lobo, 2010).

Los tomates tipo chonto son de forma redonda a ovalada, levemente elongados u oblongos, con dos a cuatro lóculos, y tienen un peso promedio de 70 a 220 gramos. Se consumen en fresco y son utilizados en la preparación de guisos o pastas Jaramillo *et al.*, (2007)

#### **Origen**

El origen de la planta de tomate está muy bien definido, se dice que es originaria del Perú, Ecuador y México, encontrándose en América Central en forma silvestre, se introdujo por los españoles a Europa a principios del siglo XVI donde se utilizaba como planta de ornato y no fue hasta a partir de 1900 que se utilizó como alimento humano. (Montoya, 2000). En la actualidad, el tomate de mesa ocupa uno de los primeros lugares en la importancia económica y alimenticia, tanto en consumo como en comercialización dentro de las hortalizas, misma que ha tenido resultados favorables durante los últimos años.

#### **Información Taxonómica**

Se trata de una planta herbácea perenne, que es cultivada de forma anual y que se cultiva para el consumo humano de sus frutos.

**Tabla 2.****Contexto taxonómico del género *Lycopersicum*.**

Reino	<b>Vegetal</b>
Orden	Solanales
Familia	Solanaceaes
Género	<i>Lycopersicum</i>
Especie	Esculentum
Nombre científico	<i>Solanum Lycopersicum</i>
Nombre común	Tomate de mesa o de riñón

**Fuente:** (Valverde, 2017)

**Valores nutritivos**

El tomate es una rica fuente de vitaminas A, B1, B2, B6, C y E, y de minerales como fósforo, potasio, magnesio, manganeso, zinc, cobre, sodio, hierro y calcio. Tiene un importante valor nutricional ya que incluye proteínas, hidratos de carbono, fibra, ácido fólico, ácido tartárico, ácido succínico y ácido salicílico.

**Tabla 3.****Composición nutricional del tomate por 100 gramos de tomate fresco.**

Elemento	Cantidad
<b>Agua</b>	93,5%
<b>Proteína</b>	0,9 g
<b>Grasa</b>	0,1 g
<b>Calorías</b>	23
<b>Carbohidratos</b>	3,3 g
<b>Fibra</b>	0,8 g
<b>Fósforo</b>	19 mg
<b>Calcio</b>	7 mg
<b>Hierro</b>	0,7 mg
<b>Vitamina A</b>	1,100 UI
<b>Vitamina B1</b>	0,05 mg
<b>Vitamina B2</b>	0,02 mg
<b>Vitamina C</b>	20 mg
<b>Niacina</b>	0,6 mg

**Fuente:** Jaramillo *et al.*, (2007)

### 3.1.3.1 Enfermedades fúngicas en el tomate

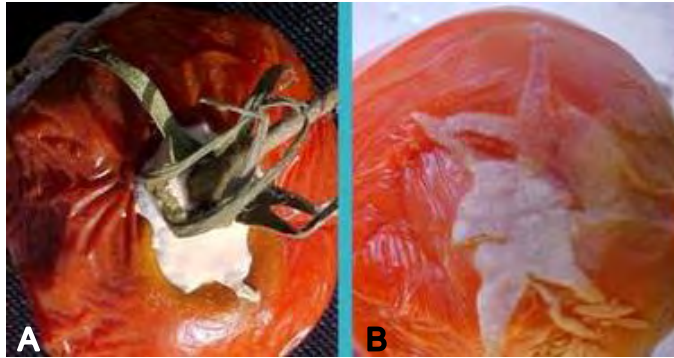
En tomate, los hongos producen estructuras especializadas, muy resistentes a los elementos desfavorables y perfectamente adaptadas para su conservación. Las más corrientes son las clamidosporas, esporas con pared gruesa, producidos por hongos tales como *Thielaviopsis basicola*, *Lycopersici* y *Fusarium oxysporum f.sp. radicleslyopersici*, *Pythium spp.* Los patógenos *Pythium*, como los *Phytophthora*, pueden conservarse también en forma de huevos (zoosporas) procedentes de su reproducción sexual. La presencia de ciertos hongos sobre y/o dentro de los tejidos vegetales afectados por: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotinia minor*, *Sclerotium rolfsii*, *Botrytis cinérea*, *Rhizoctonia solani* se caracterizan por esclerocios y masas micelánicas densas (Blancard, 2011).

#### **Podredumbre agria (*Geotrichum candidum*)**

Es una enfermedad típica de postcosecha, su aparición es bastante frecuente y produce grandes pérdidas. El agente causal es un habitante natural del suelo; la difusión del hongo se puede producir por insectos, lluvias y viento, y al ponerse en contacto con lesiones del fruto se desarrolla la podredumbre, la cual se manifiesta por una desintegración de los tejidos, de consistencia firme y luego húmeda. La epidermis se presenta arrugada y puede aparecer un micelio blanco-amarillento, como una espesa masa gelatinosa, que asemeja a queso "cottage" (Figura. 1) y olor característico a vinagre Su crecimiento sobre lesiones del fruto (Mahovic, *et al.*, 2002).

Macroscópicamente un cultivo de *Geotrichum candidum* en agar, se describe como colonias blancas a beige, aterciopeladas, con el tiempo pueden tomar un aspecto vellosa, radiado, plegado y húmedas.

Su Morfología microscópica se describe como hifas septadas, fragmentadas en artroconidias rectangulares de  $4 \times 10 \mu\text{m}$ ; dispuestas una tras otra, que con el tiempo redondean sus ángulos y semejan levaduras ovals Tangarife, V. (2011).



**Figura 1. A), B) Enfermedad postcosecha causada por *Geotrichum candidum***

Fuente: Tangarife, V. (2011)

#### **Podredumbre húmeda (*Rhizopus stolonifer*)**

Es tal vez la enfermedad más seria en pos cosecha, de difícil aparición en campo. El hongo penetra por heridas y ataca preferentemente frutos maduros. Las condiciones predisposición son: alta humedad relativa y temperaturas entre  $23$  y  $26^\circ \text{C}$ . Los síntomas en frutos son manchas pardas, los tejidos se ablandan y drenan líquido al romperse la piel, y aparece un olor característico a fermentación. Las esporas son extremadamente pequeñas y ligeras que pueden ser transportadas por las corrientes de aire para infestar nuevos frutos, pudiendo ser lejos de la fuente de contaminación. Bajo condiciones favorables, se ha observado que el *Rhizopus* puede crecer a cortas distancias sobre superficies secas, tales como palets y cajas de cartón corrugado, y puede sobrevivir por meses en residuos de frutos dejados en contenedores de recojo y del campo (Mahovic, *et al.*, 2002).

Sus características macroscópicas son, colonias algodonosas laxas, que cubre completamente la caja de Petri y logra empujar la tapa hacia arriba. Inicia de color blanco y se torna gris con puntos negros que corresponden a los esporangios.

Microscópicamente tiene hifas gruesas y aseptadas, abundantes rizoides prominentes de color café, de los que salen los esporangióforos largos, no ramificados, de color café, cada uno con una esporangia café de 100 a 200  $\mu\text{m}$  de diámetro, con esporangiosporas de 6 a 8  $\mu\text{m}$ , espiculadas. Dependiendo de la especie puede poseer estolones o puentes de comunicación entre los rizoides Tangarife, V. (2011).



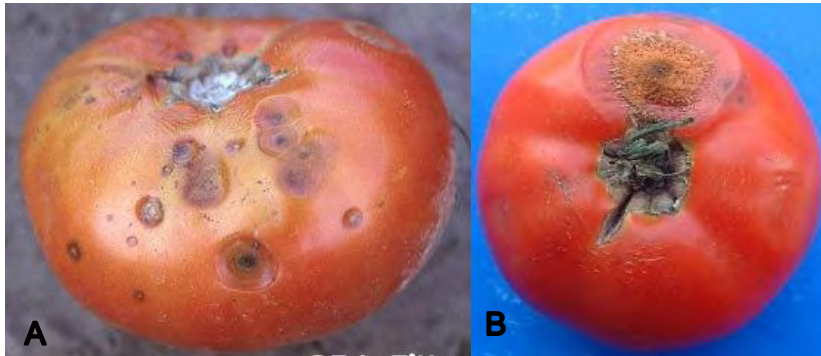
**Figura 2. A), B) Enfermedad postcosecha causada por *Rhizopus stolonifer*.**

**Fuente:** (Tangarife, V. 2011)

### **Antracnosis (*Colletotrichum sp.*)**

Los síntomas tempranos se manifiestan en frutos maduros en forma de manchas circulares acuosas hundidas. Las lesiones aumentan de tamaño, se vuelven más hundidas y se oscurece la sección central. Dicha zona contiene estructuras fungosas a partir de las cuales se liberan esporas de color salmón cuando el clima es húmedo. A medida que el hongo se extiende en el fruto, tiene lugar una pudrición semi blanda. Estas lesiones ocasionan pudrición en amplias áreas del fruto y organismos secundarios se trasladan a dichas áreas produciendo la pudrición total. El hongo

infecta tanto al fruto verde como al maduro y penetra en la cutícula del mismo. Cuando el fruto verde es infectado no se muestran los síntomas hasta su maduración. En frutos maduros la lesión se hace visible en 5 a 6 días.



**Figura 3. A), B) Enfermedad postcosecha causada por *Colletotrichum sp.***

**Fuente:** (Tangarife., V. 2011)

#### **Podredumbre gris (*Botrytis cinerea*)**

No es común encontrarla en el mercado, pero si aparece es más probable que se verifique con tiempo húmedo y frío. Las lesiones sobre el fruto emergen con más frecuencia en las áreas del hombro adyacentes a la cicatriz del pedúnculo y cáliz. Las áreas pueden tener un aspecto acuoso, virando las manchas del color verde al marrón. Ataca tanto los frutos maduros como verdes. La aparición del hongo de color grisáceo se produce en las lesiones que han agrietado, o se puede desarrollar lentamente sobre la superficie en el centro de las manchas más avanzadas.

Macroscópicamente *Botrytis cinerea* presenta un micelio de apariencia vellosa color blanco a gris.

Microscópicamente presenta conidias de forma de conidióforos, el cual forma en el ápice una vesícula con varios puntos conidiales. Estos conidios son grandes, y sus conidióforos pueden ser erectos, simples o ramificados. El micelio hialino etapas tiene un color oscuro, con septos y perforaciones centrales (Arias, J. y Jerez, A. 2008).



**Figura 4. Enfermedad postcosecha causada por *Botrytis cinerea*.**

**Fuente:** FAO

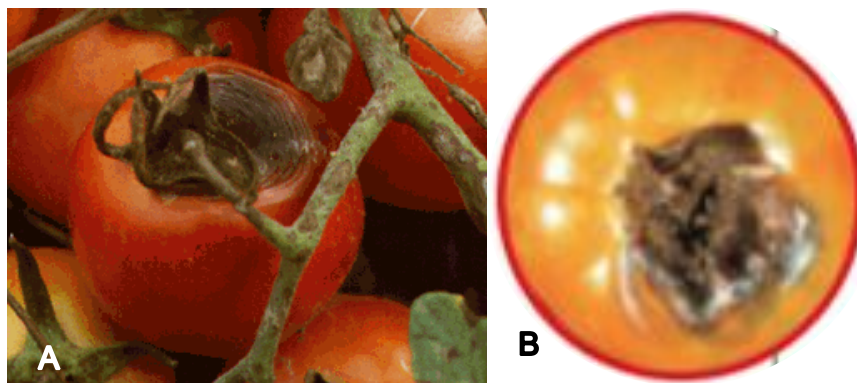
#### **Tizón temprano (*Alternaria solani*)**

El hongo es más activo a temperaturas suaves o templadas y tiempo lluvioso. Es una enfermedad que aparece en el campo y también en almacenamiento. La zona afectada se mantiene firme y seca y toma una coloración negruzca con la superficie algo húmeda. Sobre la lesión se desarrolla una eflorescencia gris oscura, constituida por el micelio y la fructificación del hongo.

Macroscópicamente *Alternaria solani* presenta en cultivo colonias de color verde oscuro, tornándose oscura o casi negras a medida que envejece, polvorosas por el desarrollo de un micelio aéreo, denso bien desarrollado, de borde irregular.

Microscópicamente se identifican conidios solitarios o encadenados, tienen forma de tabicación longitudinal transversal oblicua y presentan forma ovoide, con superficie lisa o rugosa y de coloración marrón claro a oscuro. Presenta hifas septadas de color café (Arias, J. y Jerez, A. 2008).





**Figura 5. A), B) Enfermedad postcosecha causada por *Alternaria solani*.**

**Fuente:** (Tangarife., V. 2011)

### **Moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum*.)**

Esta enfermedad se origina por mecanismos de infección, como el contacto de tejido vegetal con las estructuras de resistencia y reproducción (esclerocios y ascosporas) producidas por.

Las estructuras, principalmente esclerocios, pueden permanecer viables en el suelo durante varios años, originando diferentes patrones de distribución espacio- temporal, producto de la reincorporación de los esclerocios y restos de plantas enfermas por las prácticas culturales inadecuadas realizadas por los agricultores y de igual forma por procesos naturales. De esta forma el inoculo de *Sclerotinia* spp. puede ser distribuido entre lotes y permanecer latente dentro de un lote de cultivo, dificultando el manejo de la enfermedad (Mahovic, *et al.*, 2002).

*S. sclerotiorum* presenta esclerocios irregulares de 2 - 20 x 3 - 7. Los esclerocios se forman en posición terminal en las hifas y tienen ocho cromosomas haploides. Cada esclerocio puede germinar carpogénicamente, produciendo de uno a varios apotecios en forma de copa, usualmente los apotecios son de color blanco, amarillo o café.

Los signos del moho blanco cuando las condiciones ambientales son favorables, es la formación de abundante micelio algodonoso y subsecuentemente el ensanchamiento de hifas (en

algunas zonas de la masa micelial) al cabo de tres a siete días, donde se forman esclerocios (Tangarife, V. 2011).



**Figura 6. Enfermedad postcosecha causada por *Sclerotinia sclerotiorum*.**

**Fuente:** (Tangarife, V. 2011)

### 3.2 Antecedentes

Barco *et al.*, (2011) evaluaron el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de almidón modificado de yuca (*Manihot esculenta*) sobre el tomate (*Solanum lycopersicum*) larga vida bajo condiciones ambientales, emplearon un diseño completamente al azar para la valoración de los tratamientos, con tres réplicas y tres repeticiones en cada tratamiento. Usaron tomates seleccionados y cubiertos con solución de almidón de yuca, ácido cítrico, glicerina, extracto de ajo, aceite esencial de canela y sal, por inmersión, durante 22 días cada 2 días y a la misma hora. Evaluaron las variables de respuesta pérdida de peso, tasa de respiración, firmeza y grados Brix a 18°C y 77 % de humedad relativa. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza usando el software SPSS 11.5 y posteriormente se aplicó la prueba de Duncan para la comparación estadística de medias. Encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el resultado de las variables de respuesta. El recubrimiento con un 4% de almidón presento retraso en la maduración y mantuvo las condiciones de calidad del tomate por un periodo de 4 días y con un 4.64 % de pérdida de peso y firmeza entre 2.54 y 8.91 Newton hasta el día 22.

Galiotta et al., (2004) evaluaron la vida útil postcosecha de tomates (*Solanum lycopersicum*) recubiertos con una película de suero de leche y monoestearato de glicerilo acetilado se comparó con frutos mantenidos en iguales condiciones (15°C, 90 % H.R.) pero sin recubrir. Concluyeron que, durante las cuatro semanas de almacenamiento, los tomates recubiertos exhibieron menor pérdida de peso, menor desarrollo de color rojo y contenido de licopeno, menor pérdida de firmeza, y un cambio en la evolución de los ácidos málico y succínico. No se observaron diferencias en la evolución de los grados Brix, pH y acidez titulable durante el período de almacenamiento. Además, que los cambios observados en los frutos recubiertos concuerdan con un almacenamiento en atmósfera modificada conteniendo menor O<sub>2</sub> y mayor CO<sub>2</sub>. La vida útil postcosecha de los frutos recubiertos se extendió por 10 días en iguales condiciones de almacenamiento.

Achipiz, et al., (2013) desarrollaron una cobertura de almidón comestible de papa (*Solanum tuberosum*), aloe vera (*Aloe barbadensis*) y cera de carnauba (*Copernicia cerifera*) y lo evaluaron en guayaba (*Psidium guajava*) para prolongar la vida a temperatura ambiente. La aplicación se realizó mediante inmersión de fruta en cada uno de los tratamientos respectivos durante 30 segundos, y se secó durante 5 minutos a 35 °C. Las guayabas se almacenaron en condiciones de la ciudad de Popayán, Departamento de Cauca, Colombia (1737 metros sobre el nivel del mar, 19 °C y 77,75 % RH) en bandejas de acero inoxidable previamente lavadas y desinfectadas. Se desarrollaron 4 tratamientos: la muestra de control sin almidón y los recubrimientos con 2, 3 y 4 % de almidón, respectivamente. Evaluaron la pérdida de peso, la tasa de respiración, la firmeza, el contenido de vitamina C y el ácido predominante.

Mehyar y Swanson (2012) elaboraron recubrimiento comestible con almidones de distintas fuentes. Los autores probaron la adherencia del sorbato de potasio, que posee actividad antifúngica, a recubrimientos de goma aguar, almidón de chícharo y almidón de papa, aplicados a

manzanas y tomates frescos. Las frutas se almacenaron durante 25 días a 4°C. Los resultados indicaron que los recubrimientos elaborados con goma guar mantuvieron la mayor concentración de sorbato de potasio superficial al igual que los de almidón de chícharo, mostrando ambos la mejor acción antifúngica, a diferencia del elaborado con almidón de papa.

Ribeiro *et al.*, (2007) estudiaron la capacidad de recubrimientos a base de polisacáridos (almidón, carragenina y quitosano) para extender la vida de anaquel de frutos de fresa (*Fragaria ananasa* cv. Camarosa) y su posible aplicación industrial. La mejor humectabilidad se logró con combinaciones de 2.0 % de almidón y 2.0 % de sorbitol; 0.3 % de carragenina, 0.75 % de glicerol y 0.02 % de Tween 80; 1.0% de quitosano y 0.1 % de Tween 80 respectivamente. La permeabilidad al oxígeno en películas de carragenina representó aproximadamente el 40.0 % del valor obtenido con película de almidón. La adición de calcio a la solución formadora de la película a base de almidón produjo un incremento en el espesor del film, sin embargo, no se obtuvieron diferencias significativas en la permeabilidad al oxígeno entre las que poseían calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) en su formulación y las que se preformaron sin la adición de dicha sustancia. El efecto de los recubrimientos sobre las frutas fue caracterizado a través de la determinación de cambios de color mediante cuantificación de los parámetros CIELab  $L^*$   $a^*$  y  $b^*$ , firmeza, pérdida de peso, sólidos solubles y crecimiento microbiano durante 6 días. Al final no se encontraron diferencias significativas en el color, la mínima pérdida de firmeza fue obtenida en frutos recubiertos con carragenina adicionada con cloruro de calcio. La pérdida mínima de masa se obtuvo con recubrimientos comestibles basados en carragenina y quitosano adicionados con cloruro de calcio. La menor tasa de crecimiento microbiano se observó en fresas recubiertas con quitosano y cloruro de calcio. Por último, la aplicación a nivel industrial de RC de carragenina enriquecidos con  $\text{CaCl}_2$ , produjo una disminución en la pérdida de firmeza en el fruto en contraste con las frutas que no fueron adicionadas con el RC.

Cuatin y Lòpez., (2015).desarrollaron un recubrimiento a base de un concentrado de proteínas de suero lacteo y cera de abeja que se evaluo sobre las propiedades fisicoquimicas y organolepticas sobre la uchuva (*Physalis peruviana L.*), partieron de la extraccion de proteina de suero el cual se utilizo como base del recubrimiento, con 10 % de concentrado de proteina, y 15 % de cera de abeja lograron disminuir la perdida de peso de la fruta en un 35,49 %. El recubrimiento logro mantener las propiedades fisicoquimicas de la uchuva durante los 15 días de evaluacion. Con respecto a las testigo.

En mango, varios estudios han examinado el efecto de una cobertura comestible para fruta basada en la cera de carnauba o la cera de abejas (Feygenberg *et al.*, 2005; Dang *et al.*, 2008; Hoa y Ducamp, 2008.) Todos estos estudios muestran que las cubiertas de cera son eficientes en la reducción de pérdidas de agua durante el almacenamiento.

Santander y Aquino., (2013) estudiaron la efectividad y la residualidad de los extractos vegetales en la inhibición del crecimiento micelial, in vitro, del hongo *Alternaria solani*. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar, con siete tratamientos: testigo (agua) y extractos vegetales de ajo (*Allium sativum*); cebolla (*Allium cepa*); y vope (*Gleditsia amorphoides*); chirca (*Baccharis dracunculifolia*); Romero (*Rosmarinus officinalis*); Cola de caballo (*Equisetum arvense*) con cuatro concentraciones para cada uno de los extractos (25%; 50%; 75%; 100%) y cinco repeticiones para cada tratamiento. Discos de papel de filtro, fueron impregnados con los diferentes extractos vegetales y colocados en las placas de Petri, conteniendo medio de cultivo, que fueron previamente inoculadas con las estructuras reproductivas del patógeno. Las placas fueron incubadas a una temperatura de 28° C, por cuatro días. El extracto de Ajo, a partir de la concentración al 50%, controla eficientemente el crecimiento micelial, del hongo *Alternaria solani*. En las concentraciones de 75 % y 100 %, presentan un poder residual de siete días.

Duarte., *et al* (2013) determino la actividad antifúngica in vitro de diez aceites esenciales sobre *Alternaria solani* Sorauer, importante patógeno de las solanáceas. Se evaluó el efecto por contacto directo y por exposición a los vapores. Los bioensayos se realizaron según diseño completamente aleatorizado, se utilizó el método de discos de papel inoculados con los aceites, enfrentados a discos del fitopatógeno y se evaluó el crecimiento radial del hongo. Todos los aceites, excepto *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (naranja dulce), inhibieron el crecimiento micelial hasta los 7 días. A los 14 días se observó inhibición total en los tratamientos con los aceites de *Pimpinella anisum* L. (anís), *Ocimum basilicum* L. (albahaca blanca), *Ocimum basilicum* L. variedad genovese (albahaca genovesa) y *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís). Los metabolitos volátiles de los aceites no mostraron efecto fungicida; no obstante se observó inhibición del crecimiento micelial de *A. solani* en los tratamientos con los extractos de *Ruta chalepensis* L. (ruda) y *Piperauratum*. Los resultados abren nuevas perspectivas para el control de este patógeno.

Artemiza *et al.*, (2005) determinaron la concentración de alcaloides en semillas de *Lupinus exaltatus*, *L. rotundiflorus* y *L. montanus* (Fabacea). La extracción de alcaloides se realizó por cromatografía en columna y la cuantificación mediante un método gravimétrico. También se evaluó la actividad fungicida in vitro de los extractos ricos en alcaloides sobre *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria solani*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*. Los extractos fueron incluidos en medio de cultivo líquido papa-dextrosa a concentraciones de 2,500, 5,000, 7,500, 10,000 y 20,000 ppm. La actividad fungicida de los extractos se evaluó con base en la inhibición del crecimiento micelial de cada una de las especies. El contenido de alcaloides en *L. rotundiflorus*, *L. exaltatus* y *L. montanus* fue de 2.42, 1.93 y 1.84 % respectivamente. El extracto de *L. exaltatus* mostró la mayor actividad fungicida ( $p < 0.01$ ) contra los cuatro hongos y una inhibición de 92 % con 2,500 ppm para *S.rolfsii*. El extracto de *L. rotundiflorus* mostró actividad fungicida significativa a 2,500 y 7,500 ppm contra *R.solani* y *S.rolfsii*, respectivamente, mientras que con el

extracto de *L. montanus* sólo se observó actividad fungicida contra *S. rolf sii*. El extracto de *L. exaltatus* sólo mostró una inhibición significativa contra *F. oxysporum* (84%) a la concentración de 20,000 ppm

Álvarez., (2012) estudio la formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad postcosecha. Durante la etapa de desarrollo de la formulación se optimizó la retención de sustancias volátiles en la matriz de la película de recubrimiento, las sustancias retenidas mostraron una potente actividad fungistática frente *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum*, entre ellas se destacaron principalmente los componentes aromáticos: Carvacrol, Timol y p-Cimeno, los cuales aportaron una sinergia considerable a la bioactividad del componente mayor (Limoneno 74-93 %).

Según (Hesham., 2007) las frutas y hortalizas son frecuentemente cubiertas al sumergir o asperjar un variado número de cubiertas comestibles, con el objetivo de formar una membrana semipermeable en la superficie de los frutos para reducir la respiración y controlar la pérdida de humedad (Hesham., 2007). La búsqueda de alternativas de conservación se ha asociado con la utilización de antimicrobianos de origen vegetal como los extractos y aceites esenciales, que garanticen frutos de mejor calidad y sin contaminantes químicos.

El control de las enfermedades causadas por hongos postcosecha se ha basado principalmente en el uso de fungicidas sintéticos, con efectos nocivos para seres humanos y ambiente; debido a esto, se ha propuesto la utilización de otras alternativas solas o combinadas: aplicación de irradiaciones y el uso de antagonistas y compuestos naturales como los extractos y aceites esenciales, que han venido mostrando resultados prometedores. Al respecto, Barrera y García Barrera *et al.*, (2008), sostienen que existe la necesidad de reducir el uso de químicos sintéticos

en la agricultura e incrementar el uso de alternativas naturales, entre ellas la utilización de aceites esenciales para el control de fitopatógenos.

Debido a las capacidades que presentan las películas comestibles en relación con el aumento de calidad del producto, y a la liberación controlada de agentes antimicrobianos, se han desarrollado diversas investigaciones con base en la incorporación de aceites esenciales de plantas y hierbas a películas comestibles, para la conservación de los alimentos o la disminución del deterioro microbiano. (Hernández-Imagenueroa *et al.*, 2013).

El mecanismo de acción de los aceites esenciales no está claro, sin embargo, se les atribuye la destrucción de la membrana microbiana debido a sus constituyentes lipofílicos (Shelz Z, 2006). Sin embargo, estudios recientes indican otros efectos de estos aceites, como: cambios en la morfología del hongo, daños sobre estructuras reproductivas (conidias e hifas) y disminución de la producción de toxinas (Park., 2009).

Los compuestos orgánicos relacionados con las actividades insecticidas, repelentes, antibacteriales, antimicóticas, entre otras, están dentro de los grupos alcaloides, taninos y glicósidos (Adegoke y Odesola, 1996). Sin embargo, siendo más específicos los principales componentes engloban: citral (77,8 % aproximadamente), limoneno, trazas de eucaliptol, geraniol, 6-metil-5-hepten-1-eno, geranil acetato, canfeno (Gupta *et al.*, 2011).

De la naranja, no solamente se aprovechan los jugos alimenticios, sino que de la cáscara de la naranja se pueden obtener aceites que se utilizan como aromatizantes en diferentes industrias. Su aceite esencial es uno de los ingredientes básicos en las industrias de perfumería, alimentos, agronómica y farmacéutica (Díaz., 2002).

En los estudios realizados por Gómez, (2014), mencionan el poder antifúngico de los aceites esenciales de cítricos, que éstos se consideran grasas seguras, por lo que podrían utilizarse como aditivos antifúngicos naturales en los alimentos. Así mismo señala que los aceites esenciales de



limón, mandarina, pomelo y de naranja presentan actividad antifúngica contra el crecimiento de algunos mohos de importancia en alimentos como *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium notatum* y *Penicillium verrucosum*. Así mismo referente a la actividad antifúngica, realizaron pruebas antifúngicas trabajando en las concentraciones de 1 %, 2 %, 4%, 8 % y 16 %, posteriormente determinaron mediante la técnica de dilución en agar concentraciones inhibitorias entre 8 % y 16 %, utilizando el aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*) contra la cepa *Aspergillus flavus*.

Guédez et al., (2014) evaluaron la actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre los hongos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium indicum*, *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer* y *Aspergillus flavus*, en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) en un diseño completamente al azar. Los resultados mostraron que existe un efecto inhibitor del aceite esencial de naranja (AEN) en el crecimiento micelial de los hongos in vitro, superior al 80% a concentración de AE de 1%, y 100% de inhibición a concentraciones de 2,5 % y 5% de AE ( $p < 0,05$ ). Al ser utilizado como recubrimiento de los frutos, a concentraciones de 2,5 % y 5 %, disminuye la presencia de lesiones en los mismos, sin diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), con igual comportamiento en efectividad in vitro e in vivo. El AEN puede ser una alternativa factible, para el control natural y eficaz de hongos postcosecha, causantes de grandes pérdidas en frutas para exportación y consumo.

El contacto de vapor es una alternativa cuando los aceites esenciales (EO) y los microorganismos se colocan por separado en un ambiente sellado. El objetivo de este estudio fue comparar la eficacia antifúngica de EO de cáscara de naranja en concentraciones seleccionadas, aplicadas ya sea por exposición al vapor o adición directa en el crecimiento de *Aspergillus flavus*. El EO se obtuvo por destilación al vapor, se analizó mediante cromatografía GC-MS y se aplicó al agar papa-dextrosa inoculado con *A. flavus*, utilizando las técnicas de adición directa al agar o

generando vapores EO en recipientes herméticos. Para ambos métodos estudiados, el crecimiento de *A. flavus* disminuyó al aumentar la concentración de EO. Aunque el efecto de la adición directa de EO de cáscara de naranja fue más rápido, los vapores EO de cáscara de naranja fueron más efectivos, ya que se requerían concentraciones más bajas para lograr el mismo efecto antifúngico. (Velázquez *et al.*, 2013).

Viuda *et al.*, (2008) estudiaron el efecto de los aceites esenciales de limón (*Citrus limón L.*), mandarina (*Citrus reticulata L.*), pomelo (*Citrus paradisi L.*) y naranja (*Citrus sinensis L.*) sobre el crecimiento de mohos comúnmente asociados con el deterioro de los alimentos: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum* y *Penicillium verrucosum*, utilizando el método de dilución en agar. Todos los aceites mostraron actividad antifúngica contra todos los moldes. El aceite esencial de naranja fue el más eficaz contra *A. niger*, el aceite esencial de mandarina fue el más eficaz para reducir el crecimiento de *Aspergillus flavus*, mientras que el pomelo fue el mejor inhibidor de los moldes de *P. chrysogenum* y *P. verrucosum*. Concluyen que los aceites esenciales de cítricos podrían considerarse alternativas adecuadas a los aditivos químicos para su uso en la industria alimentaria.

Los aceites esenciales de diferentes partes de plantas son conocidos por su actividad antimicrobiana, pero los efectos antifúngicos del aceite esencial de *Citrus sinensis (L.)* sobre el crecimiento y la morfogénesis de *Aspergillus niger* no se han observado hasta el momento. El crecimiento micelial se inhibió a 2,5 y 3,0 µg / ml de aceite en caldo de patata dextrosa y medio agar, respectivamente. Los principales cambios observados bajo luz y microscopía electrónica de barrido después del tratamiento con aceite fueron la pérdida de citoplasma en hifas fúngicas y la gemación de la punta hifal. La pared de la hifa y su diámetro se volvieron notablemente más delgados, distorsionados y provocaron la disrupción de la pared celular. Las puntas de hifas aplanadas y vacías se bifurcaban en forma de brotes. Los estudios GC-MS del aceite revelaron la

presencia de 10 componentes químicos. Se ha encontrado que el limoneno es el componente principal (84.2%). (Sharma y Tripathi 2008).

## 4. Metodología

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones de la Universidad de Nariño sede Pasto (Planta piloto, Laboratorio de investigación en conservación y calidad de alimentos, Facultad de Ingeniería Agroindustrial y Laboratorio de microbiología, Facultad Ingeniería en Producción Acuícola a 2.488 m.s.n.m.)

### 4.1 Evaluación *in vitro* del efecto antifúngico del aceite de cascara de naranja (*Citrus sinensis*) a diferentes concentraciones sobre tomate chonto.

#### 4.1.1 Extracción de aceite de cáscara de naranja

- **Recolección de la cascara de naranja (*Citrus sinensis*)**

Se adquirió cáscara de naranja subproducto de la elaboración de jugos de naranja elaborados por vendedores ambulantes ubicados en la zona del parque infantil de la ciudad de San Juan de Pasto.

- **Acondicionamiento de la cáscara de naranja**

A la cáscara de naranja recolectada se le retiró el mesocarpio (pulpa) y se realizó un proceso de lavado y desinfección con hipoclorito de sodio a 50 ppm.



**Imagen 1. Acondicionamiento de cáscara de naranja (*C. sinensis*).**

**Fuente:** Esta investigación.

### Extracción de A.E.C.N.

La extracción de A.E.C.N. se realizó por el método de Arrastre de vapor en Planta Piloto de la Universidad de Nariño.



**Imagen 2. Equipo de extracción por arrastre de vapor de agua.**

**Fuente:** Esta investigación.

El equipo se alimentó con 9 kg de cáscara de naranja húmeda, se trabajó a una presión entre 0 y 1 psig, densidad del lecho de 0,11 kg/L; la mezcla vapor de agua y aceite esencial condensado fue recolectado en un decantador dinámico o florentino; tiempo de extracción 3 horas. Se determinó rendimiento de la extracción de aceite mediante la siguiente formula:

$$R = \frac{A}{M} * 100$$

Ecuación 1.

Dónde:

R: Rendimiento

A: Aceite obtenido en (g).

M= Muestra de cascara (g).



**Imagen 3. Extracción por arrastre de vapor de A.E.C.N.**

**Fuente:** Esta investigación.

#### **4.1.2 Caracterización del A.E.C.N.**

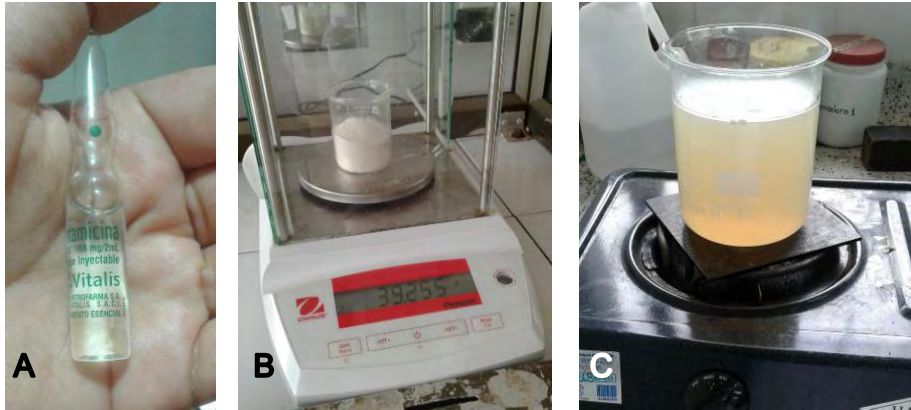
La identificación de la composición orgánica volátil del A.E.C.N. se realizó de acuerdo al método descrito por Cerón (2010) mediante la técnica analítica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), en el equipo Cromatógrafo de gases/espectrómetro de masa Shimadzu QP2010S, en columna Shimadzu SHRX15-MS, detector selectivo de masas, en modo de operación *full scan*. Interface a 280°C. Esta prueba se realizó en los Laboratorios Especializados de la Universidad de Nariño.

Se inyectó 1,0 µL del aceite esencial en diclorometano grado HPLC. La identificación de los compuestos se realizó mediante comparación de los espectros de masas utilizando la base de datos ADAMS 2004 y NIST.

#### **4.1.3 Aislamiento de hongos en tomate.**

El aislamiento de hongos que atacan el tomate (*S. lycopersicum.*), se realizó siguiendo la metodología propuesta por Sabando (2015), con algunas modificaciones.

- Preparación solución Agar: se preparó 39 g de PDA (Potato Dextrosa Agar), en 1 L de agua destilada, disolviendo poco a poco el PDA en el agua evitando la formación de grumos, se adiciono Gentamicina sulfato como antibiótico a una concentración de 0,32 mg/L, se diluyó durante varios minutos llevando el agar a ebullición para la formación del gel, se dejó enfriar por 5 minutos.



**Imagen 4. A) Gentamicina sulfato. B) Agar PDA. C) Preparación solución agar PDA.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Esterilización del PDA: el Agar se distribuyó en Erlenmeyer para una mejor manipulación y distribución, se esterilizo en autoclave a 121°C y 15 psi por 15 minutos.



**Imagen 5. A) Autoclave. B) Esterilización agar PDA.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Esterilización de la cámara de flujo laminar: la esterilización de la cámara de flujo laminar se realizó siguiendo el procedimiento establecido por el jefe y técnico del laboratorio de microbiología. Previo a la utilización de la cámara de flujo laminar se realizó una limpieza con hipoclorito de sodio al 2,5 % y después con alcohol comercial al 70 %.
- Dispensación de PDA en cajas Petri: se colocaron las cajas Petri esterilizadas en la cámara de flujo laminar, en cada una de ellas se dispenseo 20 mL de solución agar PDA, y se dejó solidificar por varios minutos.



**Imagen 6. Dispensación de agar PDA en cajas Petri.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Lavado del tomate: se tomó un tomate chonto con presencia de daños por ataque de hongos, se lavó 3 veces con agua destilada y se secó el tomate.

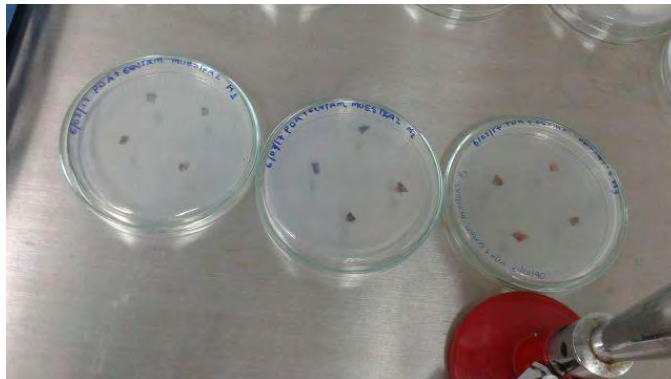




**Imagen 7. Tomate chonto con enfermedades postcosecha.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Retirado de epicarpio del tomate: se escogieron dos muestras de tomates afectados por alguna enfermedad causada por hongo para retirar su epicarpio con un bisturí, se realizaron cortes pequeños y se colocaron 4 cortes por cada caja Petri con la solución agar solidificada. El ensayo se realizó por triplicado de cada muestra de tomate.

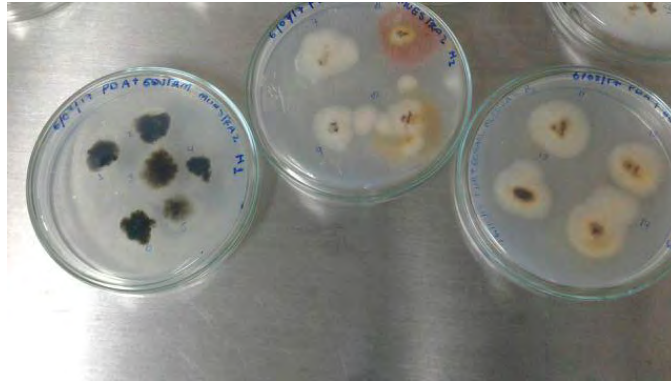


**Imagen 8. Siembra epicarpio de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

**Fuente:** Esta investigación.

- Incubación y desarrollo de los hongos: las cajas Petri con los cortes de tomate se incubaron a temperatura ambiente por 8 días.
- Identificación de los hongos: una vez obtenido el desarrollo de los hongos se realizó una observación macroscópica de color y textura (Levaduriforme, algodonoso, lanoso, micelio)

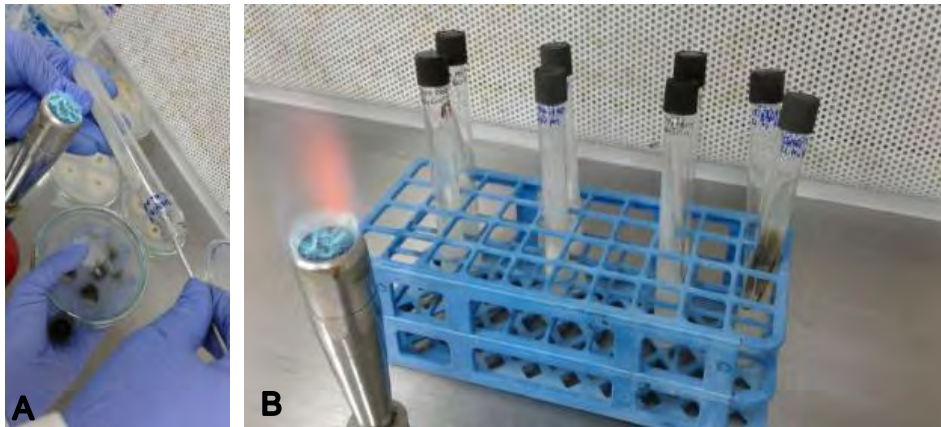
aéreo) de las colonias formadas, mediante claves de caracterización para realizar una separación e identificación de colonias de los diferentes hongos que se formaron.



**Imagen 9. Colonias formadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

**Fuente:** Esta investigación.

- Repique de los hongos: Cada una de las colonias encontradas se repicaron en tubos de ensayo con la solución agar PDA con la finalidad de tener un previo aislamiento y desarrollo, se incubaron a temperatura ambiente por 8 días. El ensayo se realizó por duplicado

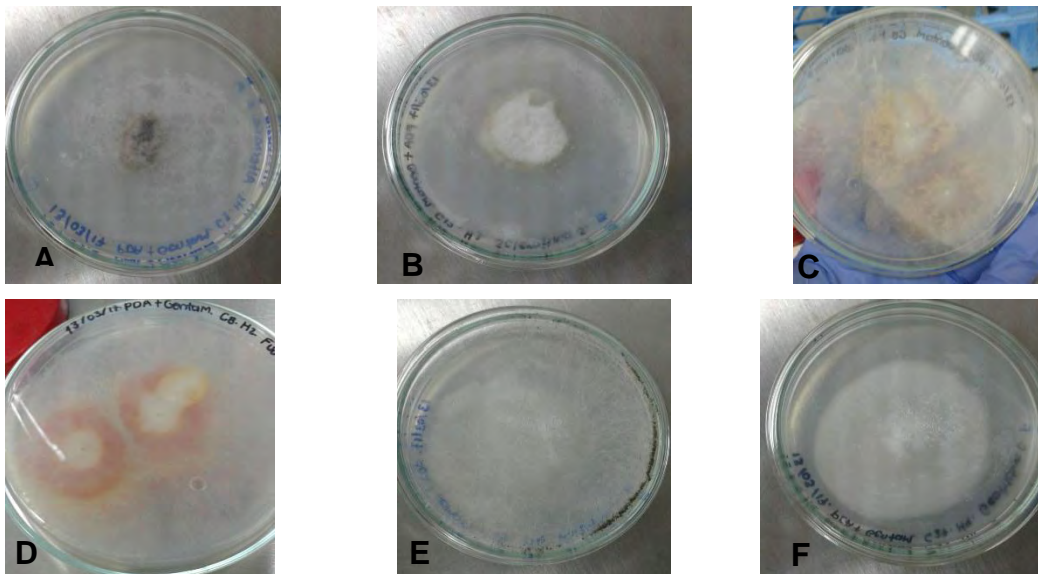


**Imagen 10. A) Repique de colonias de hongos aislados de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

**B) Almacenamiento de las colonias ya repicadas en tubos de ensayo.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Purificación: Cada uno de los repiques de las colonias identificadas se sembraron en cajas Petri con agar PDA para su posterior observación microscópica.

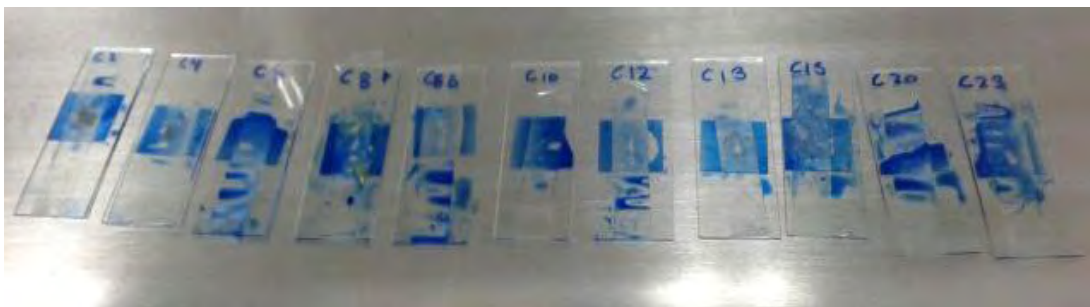


**Imagen 11. Purificación del repique de colonias de hongos de tomate chonto en agar PDA.**

**Colonia A, colonia B, colonia C, colonia D, colonia E, colonia F.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Observación microscópica: Cada una de las colonias se observaron en un microscopio, en porta objetos utilizando la técnica de cinta adhesiva, para observar las estructuras fúngicas. La caracterización microscópica se realizó en base a claves de caracterización.



**Imagen 12. Placas para visualización microscópica de las colonias formadas mediante técnica de cinta adhesiva.**

**Fuente:** Esta investigación.

- Almacenamiento del hongo: una vez identificado cada hongo, se tomó una muestra y se colocaron en cajas Petri con PDA y se almacenaron a temperatura ambiente.

#### **4.1.4 Selección de hongo**

A partir de los aislamientos identificados, se escogerá un solo género de hongo para lo cual se realizó una prueba de inhibición con A.E.C.N. Se siguió el siguiente procedimiento

- Preparó 3,9 g de PDA en 100 mL de agua destilada, se adicionó Gentamicina Sulfato en una concentración de 0,32 mg/L, se esterilizo en autoclave a 121°C, 15 psi por 15 minutos, se dejó enfriar por unos minutos y se incorporó A.E.C.N. a una concentración de 1 %, se realizó la dispensación del agar en las cajas Petri esterilizadas, 20 mL de solución agar en cada una.
- Siembra de cada hongo identificado en cada una de las cajas Petri con el A.E.C.N.
- Se incubo a temperatura ambiente por 8 días.
- Transcurrido los 8 días de incubación se evaluó de forma cualitativa el desarrollo o no de la colonia de cada hongo, comparándolo con las colonias formadas en medio de cultivo sin el agente inhibidor.

#### **4.1.5 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N.**

Para la evaluación de efecto antifúngico del A.E.C.N. se utilizaron las siguientes concentraciones: 0,08 %, 0,2 %, 0,5 %, 0,8 % y 1 % (v/v) de aceite esencial de cascara de naranja en medio de cultivo PDA y Gentamicina 0,32 mg/L. Se colocaron 20 mL de solución agar y cantidades determinadas de A.E.C.N., según cada tratamiento en cada caja Petri de 90 mm de diámetro en su base y se dejó solidificar. La siembra se realizó con un diámetro determinado de colonia, se colocó un disco de 7 mm de diámetro del micelio del hongo en el centro de cada caja Petri. Como control se utilizó medio de cultivo PDA con Gentamicina sin aceite esencial.

Las mediciones del diámetro de crecimiento de las colonias se realizaron a los 10 días de incubación a temperatura ambiente y permitieron obtener los porcentajes de inhibición de cada tratamiento (Guédez, *et al.*, 2014)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\varnothing T - \varnothing Tt}{\varnothing T}$$

Ecuación 2.

Donde

%I: Porcentaje de inhibición.

$\varnothing T$ : Diámetro testigo en medio de cultivo PDA.

$\varnothing Tt$ : Diámetro tratamiento (Concentración de A.E.C.N. en medio PDA).

## 4.2 Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de almidón con la incorporación de A.E.C.N.

### 4.2.1 Caracterización del almidón nativo de papa.

#### Índice de solubilidad y absorción de agua:

Se determinó el índice de absorción de agua (I.A.A.) y el índice de solubilidad en agua (I.S.A.) del almidón de papa.

Se utilizó el método modificado de Martínez, *et al.*, (2015). Se pesaron 2,5 g (b.s.) de muestra, y se mezclaron con 50 g de agua destilada y se agito durante 30 minutos hasta llegar a una temperatura de 70°C, se tomaron tres alícuotas de 10 g se centrifugaron (Centrífuga Dinámica Velocity serie 6626018) a 3000 rpm por 15 min. Luego, se separó el sobrenadante para cuantificar el porcentaje de solubles y de gel formado. El sobrenadante se dejó secar a 90 °C por 4 h. Los valores se calcularon de acuerdo con las siguientes formulas:

$$IAA = \frac{PG (g)}{PM (g)}$$

Ecuación. 3

IAA: Índice de absorción de agua

PM: Peso de la muestra (g).

PG: Peso del gel (g)

$$ISA = \frac{PS (g) \times VS (mL) \times 10}{PM (g)}$$

Ecuación. 4

Dónde:

ISA: Índice de solubilidad en agua

VS: Volumen del sobrenadante (mL).

PS: Peso del soluble (g).

PM: Peso de la muestra (g).



**Imagen 13. Baño maría.**

**Fuente:** esta investigación.



**Imagen 14. Centrifuga con muestras de almidón.**

**Fuente:** esta investigación.



**Imagen 15. Gel forado por el almidón.**

**Fuente:** esta investigación.



**Imagen 16. Secado del sobrenadante**

**Fuente:** esta investigación.

#### **4.2.2 Pruebas preliminares.**

**Determinación de la concentración de almidón de papa:** las concentraciones que se estudiaron fueron de 4% y 6% (p/v), estos valores se establecieron según lo reportado por algunos autores como: Aguilar, M., (2005); Saavedra *et al.*, (2010); Quintero *et al.*, (2010); Miramont (2012); Achipiz *et al.*, (2013); Cortes *et al.*, (2014).

**Determinación de la concentración de cera de abeja:** Cera de abeja blanca grado alimentario Numero E901 según la lista de aditivos alimentarios permitidos actualmente en la unión europea. Las concentraciones que se determinaron fueron 0.5% y 1% (p/v), se tuvieron



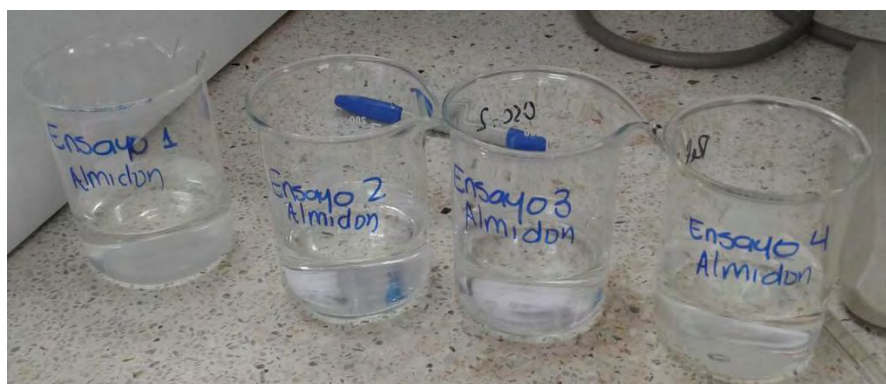
presente los reportes de cera de abeja en recubrimientos de varios autores: Miranda *et al.*, (2003); Velickova *et al.*, (2013); Fagundes *et al.*, (2014); Tosne *et al.*, (2014).

**Determinación de la concentración de plastificante:** en este caso se decidieron usar las concentraciones de 3% y 5% (p/v) de glicerina, esta ha sido reportada como plastificante en diferentes concentraciones de recubrimientos (Miranda *et al.*, 2003; Gounga *et al.*, 2007; Valle-Guadarrama *et al.*, 2008; Osès *et al.*, 2009; Ramos *et al.*, 2013).

**Determinación de la concentración de emulsificante:** la concentración de Tween 80 que se utilizó fue en relación 1:1 en base a la concentración de cera de abeja.

**Determinación de la concentración de aceite esencial en el recubrimiento:** La concentración de A.E.C.N. se determinó previamente en la evaluación del efecto antifúngico del mismo.

- El almidón se gelatinizó a una temperatura de 75°C con agitación constante al igual que la cera de abeja; luego de tener la mezcla homogénea se agregó la cantidad de A.E.C.N. a una concentración de 1%.(v/v)



**Imagen 17. Pruebas preliminares de la formulación de recubrimientos.**

**Fuente:** esta investigación.

- **Formación de películas:** De cada una de las formulaciones de recubrimiento se formaron películas por el método casting, en cajas Petri se depositaron 20 mL de cada recubrimiento y



se dejaron secar por 3 horas a 65°C en una incubadora convección forzada (serie 1315910 NUI 331011). Se evaluó la formación de película en las cajas.



**Imagen 18. Formación de películas de los recubrimientos de las pruebas preliminares.**

**Fuente:** esta investigación.

#### **4.2.3 Formulación de recubrimiento y formación de películas**

De acuerdo con las pruebas preliminares la elaboración del recubrimiento se utilizó una concentración de Tween 80 en relación 1:1 en base a la concentración de cera de abeja, pectina 2% (p/v) y A.E.C.N. La formulación se dividió en tres partes

- Emulsificación de la cera de abeja: se calienta la cera de abeja a 75°C en una plancha de calentamiento y agitación digital (IKACMAGHS7) hasta fundir, se agregó Tween 80 hasta formar emulsión.
- Gelificación de la pectina: Se disolvió la pectina en agua caliente, se homogenizó en un agitador digital a 1400 rpm, por 5 minutos.
- Gelificación del almidón de papa: se disolvió almidón de papa en agua se calentó hasta 75°C durante 7 minutos con agitación constante.

Las partes del recubrimiento se unieron en el siguiente orden, la cera de abeja se agregó a la pectina y se agito por 2 minutos, esto se añadió al almidón, por último, se adiciono el A.E.C.N. y se llevó a agitación durante 4 minutos.

Formación de películas: Las películas se formaron por método se casting en cajas Petri de 150 mm de diámetro, se agregaron 30 ml de recubrimiento y se secaron a 65°C en una incubadora convección forzada digital (serie 1315910 NUI 331011) por 3 horas.



**Imagen 19. Elaboración de recubrimiento**

**Fuente:** esta investigación.



**Imagen 20. A) y B) Secado de películas.**

**Fuente:** esta investigación.

#### **4.2.4 Diseño de experimentos.**

Para mejorar la formulación del recubrimiento se utilizó un diseño de experimentos factorial  $2^3$ , los factores de estudio fueron almidón de papa (4% y 6%), cera de abeja (0,5% y 1%) y glicerina (3% y 5%) para ocho tratamientos con tres repeticiones. Como variable de respuesta se evaluó la Resistencia a la tracción (RT) de la película formada a partir del recubrimiento; en la

tabla 4 se indican los valores codificados como +1 y -1 para los niveles de cada tratamiento. Se analizó el diseño utilizando análisis de varianza ANOVA al 95% de confiabilidad y comparación de medias con una prueba de LSD de Fisher. Las pruebas se realizaron con el software Statgraphics Centurion XVI.II.

**Tabla 4.**

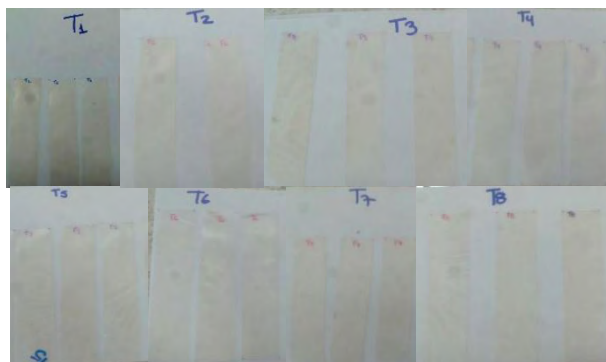
**Matriz experimental.**

Tratamiento	Almidón de papa	Cera de abeja	Glicerina
<b>T1</b>	-1	+1	-1
<b>T2</b>	+1	+1	-1
<b>T3</b>	-1	-1	-1
<b>T4</b>	+1	1	-1
<b>T5</b>	-1	+1	+1
<b>T6</b>	+1	+1	+1
<b>T7</b>	-1	-1	+1
<b>T8</b>	+1	1	+1

**Fuente:** esta investigación.

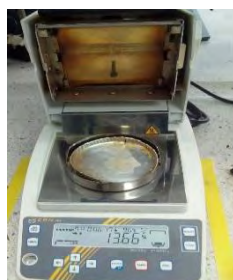
**Preparación de las muestras para análisis.**

Para la evaluación de la RT de las películas se cortan en láminas de 90 mm de largo por 20 mm de ancho y se midió su espesor con un micrómetro mitutoyo code 7326S. Las muestras se colocaron en un desecador para estandarizar la humedad. La humedad se calculó al momento de realizar la prueba de tensión.



**Imagen 21. Acondicionamiento de las películas comestibles de cada tratamiento.**

**Fuente:** esta investigación.



**Imagen 22. Medición de humedad de las películas comestibles a base de almidón**

**Fuente:** esta investigación.

#### **4.2.5 Caracterización de la película óptima**

El tratamiento óptimo que presentó mayor RT caracterizó mediante la medición de las siguientes propiedades:

**Caracterización mecánica:** La caracterización mecánica se realizó teniendo en cuenta las propiedades del porcentaje de elongación y módulo de Young. Para la evaluación se utilizó un Texturómetro (Lloyd LS-1) acoplado al software NEXYGEN PLUS 3.0, utilizando una celda de carga de 1 KN con mordazas de agarre para películas específicamente, el procedimiento se realizó de acuerdo con la norma ASTM D882 – 10, con una precarga tensión de 0,1 N, velocidad

de precarga 10 mm/min, velocidad de extensión 10 mm/min y una separación inicial de agarre de 50 mm.

**Análisis termo gravimétrico (TGA):** El análisis se llevó a cabo en un TA Instruments Thermal Analysis TGA Standard SDT Q600 V20.9 Build 20, empleando una rampa desde 19,5°C hasta 250 °C a una velocidad de calentamiento de 5°C/min con una modulación de 1°/min en atmósfera inerte con inyección de N<sub>2</sub> a una velocidad de 100mL/min, peso de la muestra 6,1030 mg (Sanchez *et al.*, 2015)



**Imagen 23. Análisis termogravimétrico de la película óptima**

**Fuente:** esta investigación.

**Textura de superficie:** Se realizó observación de las películas a través del estereomicroscopio ZEISS (NUI DISCOVERY V8), a un acercamiento de 8x.



**Imagen 24. Estereomicroscopio.**

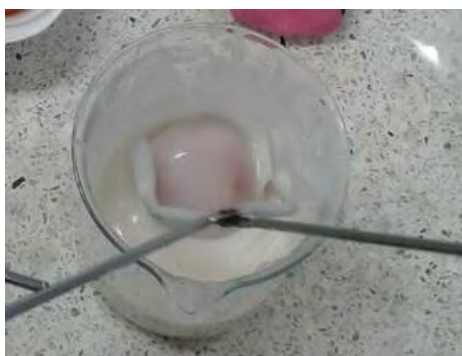
**Fuente:** esta investigación.

### 4.3 Evaluación del recubrimiento con la incorporación de A.E.C.N. sobre el crecimiento fúngico.

#### 4.3.1 Aplicación del recubrimiento

**Tratamiento previo:** Se manejaron muestras de tomate chonto (*S. lycopersicum*) de tamaño y color uniforme, libres de daños físicos e infecciones fúngicas. Los frutos se lavaron con agua y se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 30 ppm.

**Recubrimiento:** Se utilizaron muestras blanco sin aplicar recubrimiento, muestras control con recubrimiento sin la incorporación de A.E.C.N. y muestras con el recubrimiento óptimo, cada tratamiento se realizó por triplicado. La aplicación del recubrimiento fue por inmersión durante 3 minutos para que este se adhiriera a la superficie, los frutos se dejaron secar a temperatura ambiente y se mantuvieron en envases plásticos.



**Imagen 25. Aplicación del recubrimiento sobre tomate chonto (*S. lycopersicum*), por inmersión**

**Fuente:** esta investigación.

#### 4.3.2 Evaluación del recubrimiento comestible sobre el tomate chonto (*Solanum lycopersicum*)

**Firmeza:** Se midió firmeza de cada una de las muestras, blanco, control y muestras con el recubrimiento óptimo por triplicado en un Texturómetro LLOYD LS1, la lectura de los datos se

realizó mediante el software Nexygen Plus 3.0 con los parámetros de test de tensión y compresión, con una carga inicial de 0,01 N con límite de desplazamiento de 5 mm y velocidad de 21 mm/min, con la aguja cilíndrica de 5 mm de diámetro, la medición se realizó de manera transversal a la cicatriz peduncular del fruto. En la ecuación 06 se muestra el porcentaje de pérdida de firmeza.

$$\%PF = \frac{FF - FI}{FF}$$

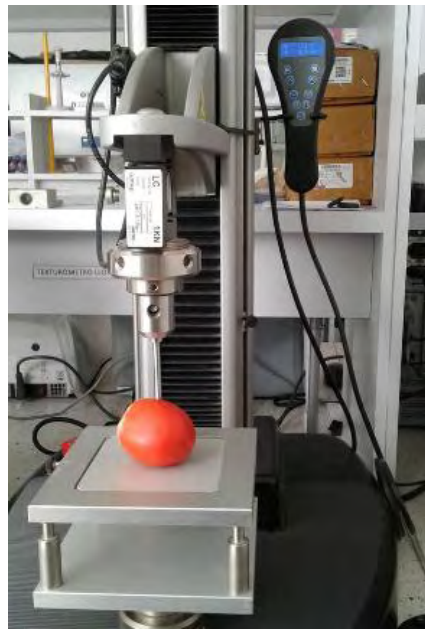
Ecuación 06

Donde:

%PF: porcentaje de pérdida de firmeza.

FF: Firmeza final.

FI: Firmeza inicial.



**Imagen 26. Medición de firmeza a las muestras de tomate chonto (*S. lycopersicum*), (blanco, control, muestras con recubrimiento y A.E.C.N.) con texturómetro.**

**Fuente:** esta investigación.

### 4.3.3 Evaluación del crecimiento fúngico sobre el tomate chonto (*Solanum lycopersicum*)

Para la evaluación del recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. (*C. sinensis*) sobre tomate chonto (*S. lycopersicum*), se evaluaron 3 tratamientos:

- Blanco: Sin de recubrimiento.
- Control: Recubrimiento sin A.E.C.N.
- Tratamiento: recubrimiento con A.E.C.N.

**Inoculación:** Las muestras fueron inoculadas en zonas específicas mediante pinchazo con el hongo *A. solani* previamente aislado.



**Imagen 27. Inoculación de las muestras de tomate (*S. lycopersicum*), (blanco, control, tratamiento), con hongo *A. solani*.**

**Fuente:** esta investigación.

**CRECIMIENTO FÚNGICO:** Se realizó un seguimiento visual del crecimiento de *A. solani* en los frutos de tomate chonto de cada uno de los tres tratamientos, se inspeccionó los frutos cada tres días por 12 días en almacenamiento a temperatura ambiente.

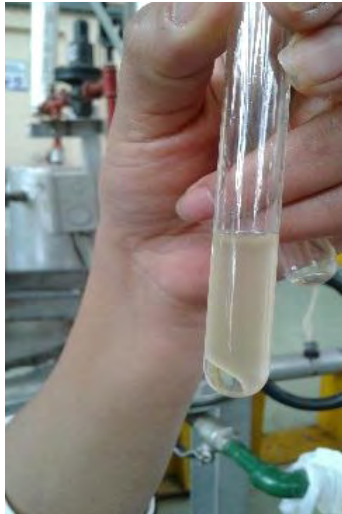


## 5. Resultados

### 5.1 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N. a diferentes concentraciones.

#### 5.1.1 Extracción de A.E.C.N.

De la extracción por arrastre de vapor de A.E.C.N., se obtuvo 15,8 g de aceite color amarillento para un rendimiento de 0,18% (p/p). El tiempo de extracción fue de 3 horas.



**Imagen 28.** Aceite esencial de cáscara de naranja (*C. sinensis*).

**Fuente:** esta investigación.

Velázquez., (2010), obtuvo un rendimiento aproximado de 0,5% (p/p) de A.E.C.N. tras un proceso de extracción por arrastre de vapor, este rendimiento puede deberse a condiciones como: el acondicionamiento de la materia prima (húmeda o seca), así como la variedad y grado de madurez de la fruta, el equipo y método de extracción utilizado para su obtención.

#### 5.1.2 Caracterización del A.E.C.N.

La composición orgánica volátil del A.E.C.N. se presenta en la tabla 5.

**Tabla 5.**

**Concentración relativa (%) e identificación por CG/EM de los principales componentes del A.E.C.N.**

N°	Identificación Tentativa	Porcentaje Relativo
1	(-)- Alfa Pineno	0,56
2	Sabineno	0,59
3	Beta Myrceno	2,51
4	Octanal (CAS)	2,97
5	Delta 3-Careno	0,06
6	(+)-2-Careno	0,08
7	l-Limonene	83,58
8	3,7- dimetil1,3,7-Octatrieno	0,10
9	Gamma Terpinene	0,17
10	1-Octanol	0,68
11	Alfa Terpinoleno	0,10
12	L-Linalol	3,16
13	Oxido de trans limoneno	0,06
14	3,7-Dimetil-6-Octenal,	0,09
15	4-Terpinenol	0,15
16	(S)-Alfa-Alfa-4Trimetil-3-Ciclohexeno-1-metanol	2,11
17	Beta-Citronellol	0,10
18	Z-Citral	0,26
19	Citral	0,48
20	3-Ciclohexeno-1-metanol, .alfa.,.alfa.,4-trimetil-, acetate	0,29
21	Geranyl acetato	0,07
22	Dodecanal (CAS)	0,08
23	trans-Caryofilleno	0,06
24	Aromadendreno	0,22
25	Alloaromadendreno (CAS)	0,06
26	Valenceno (CAS)	0,38
27	1,1,4,7-TETRAMETILDECAHIDRO-1HCICLOPROPA[E]AZULEN-4-OL	0,12
28	Globulol	0,61
29	1H-Cicloprop[e]azulen-4-ol, decahidro-1,1,4,7-tetrametil-[1aR-(1a.alfa.,4.beta.,4a.beta.,7.alfa.,7a.beta.,7b.alfa.)]-	0,18
30	Rosifoliol	0,11

**Fuente:** esta investigación.

El análisis cromatográfico del A.E.C.N. permitió observar los componentes presentes y su abundancia relativa, indicando como mayor componente los monoterpenos, es decir unidades

terpénicas de 10 carbonos (C-10) tales como I-Limoneno, Beta Myrceno, Alfa Pineno, alfa terpinoleno, que contribuyen al 86,75 % del total del aceite.

En la tabla 5, también se muestran otros compuestos como sesquiterpenos no oxigenados como el Valenceno, aldehídos entre los que se destacan el Z- citral, citral, Octanal (CAS) y Dodecanal (CAS), y alcoholes como son el L-Linalol, 4-Terpineno.

Los resultados concuerdan con lo reportado por Caccioni *et al.*, (1998) quien indica que el A.E.C.N. presenta un alto contenido de monoterpenos cuyo componente mayoritario es el limoneno (90%-96%), y otros monoterpenos oxigenados como linalol (1%-2%) y cineol (1%) que se encuentran en menor proporción.

Velázquez., (2010), identifico 7 compuestos predominantes el limoneno, presente en un 96,62%, dentro de los otros compuestos se encuentran citral – Z 0,15%, y citral –E 0,18, alfa pineno 0,47%, beta pineno 0,53%, beta Mirceno 1,72%.

Es probable que la diferencia entre los porcentajes de composición se deba a la variedad y madurez de la naranja a partir de la cual se extrajo el aceite, las condiciones del medio en que se desarrolló y la época del año, además del método de extracción

### **5.1.3 Aislamiento de hongos en Tomate.**

En el aislamiento de los hongos que producen enfermedades postcosecha en el tomate chonto (*S. lycopersicum*) se obtuvieron 30 colonias identificables macroscópicamente como se muestra en la tabla 6a y 6b.

Las características macroscópicas que se tuvieron en cuenta para la identificación fueron: color de la colonia por el anverso y reverso y la textura que estas desarrollaron en el medio de cultivo PDA.

Tabla 6.A.

*Colonias identificadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto (S. lycopersicum) y sus características macroscópicas.*

COLONIAS	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS		TEXTURA
	ANVERSO	REVERSO	
1	Gris	Gris oscuro	Lanoso
2	Gris con tonalidades verdosas, con borde blanco	Gris oscuro	Lanoso
3	Gris	Gris oscuro	Lanoso
4	Gris	Gris oscuro	Lanoso
5	Gris con tonalidades verdosas, con borde blanco	Gris oscuro	Lanoso
6	Gris con tonalidades verdosas, con borde blanco	Gris oscuro	Lanoso
7	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
8	Rosado con micelio aéreo anaranjado	Centro naranja	Lanoso con micelio aéreo
9	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
10	Naranja con micelio aéreo blanco	Centro blanco con bordes naranja	Lanoso con micelio aéreo
11	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
12	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
13	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
14	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
15	Blanco con tonalidades rosadas	Blanco	Algodonoso con micelio aéreo
16	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
17	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme

**Tabla 6.B.**

**CONTINUACIÓN. Colonias identificadas en el aislamiento de hongos en tomate chonto (*S. lycopersicum*) y sus características macroscópicas.**

COLONIAS	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS		TEXTURA
	ANVERSO	REVERSO	
18	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
19	Blanco con tonalidades rosadas	Blanco	Algodonoso con micelio aéreo
20	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
21	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
22	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
23	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
24	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
25	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
26	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
27	Blanco con tonalidades rosadas	Blanco	Algodonoso con micelio aéreo
28	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
29	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme
30	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme

**Fuente:** esta investigación.

Las colonias fueron agrupadas en 6 tipos de colonias uniformes por sus características macroscópicas, como se muestra en la tabla 7; posteriormente se realizó una observación microscópica.

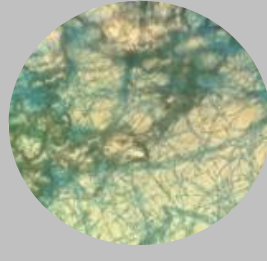
**Tabla 7.****Grupos de colonias identificadas en el aislamiento fúngico de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

COLONIA	OBSERVACION MACROSCOPICA		
	COLOR		TEXTURA
	ANVERSO	REVERSO	
<b>A</b>	Gris con tonalidades verdosas, con borde blanco	Gris oscuro	Lanoso
<b>B</b>	Beige en el centro y alrededor anaranjado	Anaranjado con bordes blancos	Algodonoso
<b>C</b>	Rosado con micelio aéreo anaranjado	Centro naranja	Lanoso con micelio aéreo
<b>D</b>	Naranja con micelio aéreo blanco	Centro blanco con bordes naranja	Lanoso con micelio aéreo
<b>E</b>	Blanco con tonalidades rosadas	Blanco	Algodonoso con micelio aéreo
<b>F</b>	Blanco	Blanco con tonalidades beige pálido	Levaduriforme

**Fuente:** esta investigación.

En la tabla 8a y 8b se muestra un resumen de las características microscópicas de los microorganismos encontrados y sus imágenes.

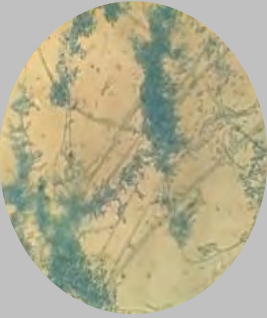
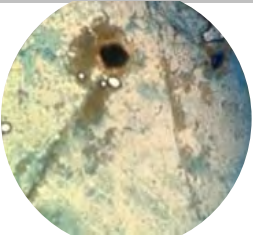
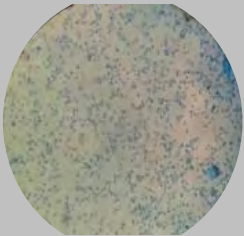
**Tabla 8.A.****Características microscópicas, hongos aislados de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

COL ONI A	MICROORG ANISMO IDENTIFIC ADO	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS	IMAGEN MICROSCOPICA
<b>A</b>	<i>Alternaria solani</i>	Conidios solitarios o encadenados, tienen forma de tabicación longitudinal transversal oblicua y presentan forma ovoide, con superficie lisa o rugosa y de coloración marrón claro a oscuro. Presenta hifas septadas de color café	
<b>B</b>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Esclerocios irregulares de color blanco, amarillo o café.	
<b>C</b>	No identificada	Hifas no septadas	

**Fuente:** esta investigación.

**Tablas 8.B.**

**CONTINUACION. Características microscópicas, hongos aislados de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

COLONIA	MICROORGANISMO IDENTIFICADO	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	IMAGEN MICROSCÓPICA
D	No identificada	Hifas no septadas	
E	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Hifas gruesas y aceptadas, abundantes rizoides prominentes de color café, esporangios cafés con esporangiosporas espiculadas.	
F	<i>Geotrichum candidum</i>	Hifas septadas, fragmentadas en artroconidias dispuestas una tras otra, se asemejan a levaduras ovaes	

**Fuente:** esta investigación.

Mediante claves de caracterización microscópicas se identificaron los siguientes microorganismos fúngicos presentes en el tomate chonto (*S. lycopersicum*):

- *Alternaria solani* (colonia A),
- *Sclerotinia sclerotiorum* (colonia B),
- *Rhizopus stolonifer* (colonia E),
- *Geotrichum candidum* (colonia F)



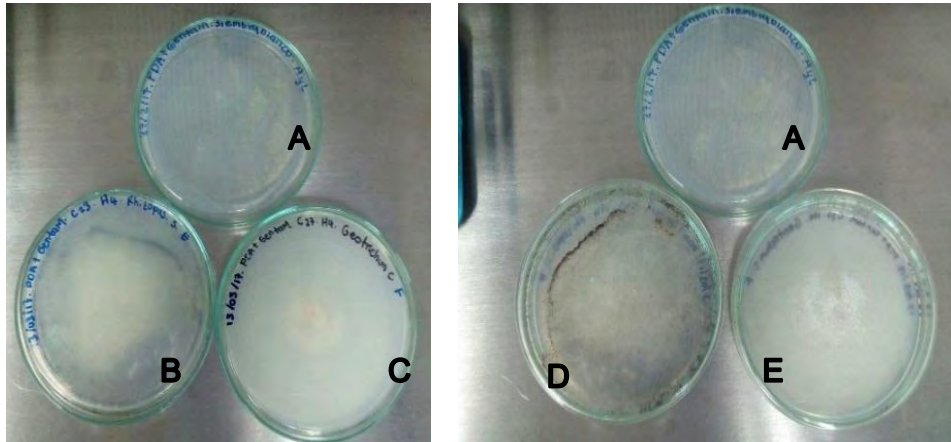
- Las colonias C y, D no fueron identificadas, su estructura microscópica no fue definida.

(Trigos *et al.*, 2008) determinaron la presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria, obtuvieron aislamientos de *Alternaria alternata* en aguacate, coliflor, durazno, manzana, pimiento, plátano; *A. solani* en jitomate y tomate; *Fusarium oxisporum* en carambolo, mandarina melón, papa, papaya, pepino; *Rhizopus stolonifer* en cebolla, jitomate, guayaba, pera, plátano, tomate. *Alternaria solani* produce sustancias bioactivas como fitotoxinas, pigmentos y micotoxinas. Sabando, (2015) aisló *Fusarium sp.* Y *Alternaria sp.* Del fruto de tomate chonto (*S. lycopersicum*), en medio agar PDA.

La identificación se realizó según claves de caracterización macroscópica y microscópica, las colonias aisladas corresponden a hongos que producen enfermedades en el tomate. Esto con el fin de comprobar que la investigación no se realizara en base a microorganismos diferentes como bacterias o levaduras. La determinación se realizó en base a las características del micelio, color de la colonia, forma de los conidióforos y forma, tamaño y color de los conidios (Sabando, 2015).

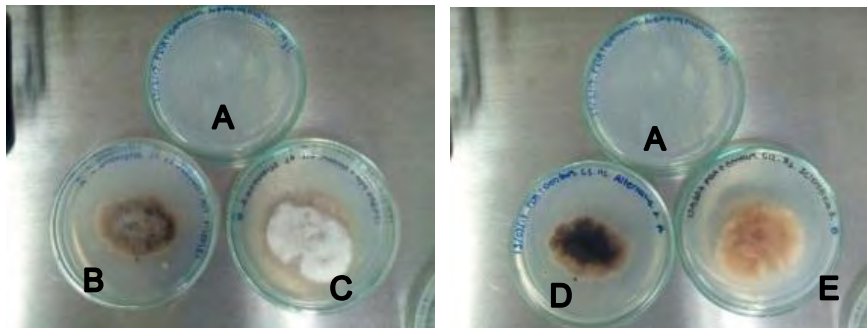
#### **5.1.4 Selección de hongo**

Para seleccionar el hongo a trabajar se realizó una prueba de inhibición en agar PDA con una concentración de A.E.C.N. DE 1% según (Álzate *et al.*, 2009). El A.E.C.N. inhibió el crecimiento de los hongos *Alternaria solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*; los hongos *Rhizopus stolonifer* y *Geotrichum candidum* presentaron crecimiento de colonia, pero en menor proporción que las colonias desarrolladas en agar PDA sin A.E.C.N.



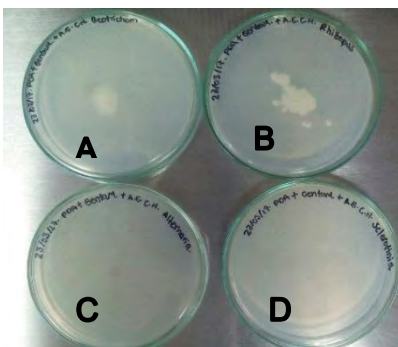
**Imagen 29.** A) Blanco, agar PDA. Crecimiento colonia de *Rhizopus stolonifer* en medio PDA sin A.E.C.N\*. (B y D). Crecimiento colonia de *Geotrichum candidum* en medio PDA sin A.E.C.N. (C y E).

Fuente: esta investigación.



**Imagen 30.** A) Blanco, agar PDA. Crecimiento colonia de *Alternaria solani* en medio PDA sin A.E.C.N (B y D). Crecimiento colonia de *Sclerotinia sclerotiorum* en medio PDA sin A.E.C.N (C y E).

Fuente: esta investigación.



**Imagen 31.** A) Crecimiento colonia de *Geotrichum candidum* en medio PDA y A.E.C.N\*. B) Crecimiento colonia de *Rhizopus stolonifer* en medio PDA A.E.C.N. C) Crecimiento colonia de *Alternaria solani* en medio PDA A.E.C.N. D) Crecimiento colonia de *Sclerotinia sclerotiorum* en medio PDA A.E.C.N.

**Fuente:** esta investigación.

En la imagen 29 y 30 se observa el desarrollo de las colonias de *A. solani*., *S. sclerotiorum*, *R. stolonifer* y *G. candidum*, en medio agar PDA sin A.E.C.N., las cuales son comparadas con la formación de las colonias de estos hongos en medio agar PDA con adición de A.E.C.N. en una concentración de 1 %.

En la imagen 31 se observa la inhibición del crecimiento de las colonias de *Alternaria solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, en medio agar PDA y A.E.C.N. al 1%. En el caso de *Geotrichum candidum* y *Rhizopus stolonifer*, se observa crecimiento de las colonias, pero no se desarrollaron estructuras características de estas como son el desarrollo de micelio.

Los géneros *Alternaria*, *Botrytis*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phoma*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor*, son conocidos como los principales causantes de las alteraciones más frecuentes en frutas y hortalizas, especialmente las referidas al aspecto físico, valor nutricional, características organolépticas y dificultad de conservación, así como de las alergias e intoxicaciones en los consumidores, debido a que producen estructuras especializadas que se depositan sobre el producto, penetran, invaden y eventualmente colonizan masivamente el tejido

para causar daño y posteriormente segregar sustancias, como consecuencia de su metabolismo secundario (Fitenborg *et al.*, 1996).

Para la evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N. a diferentes concentraciones, se seleccionó un microorganismo en específico, *A. solani* puesto que presenta mayor influencia sobre daños postcosecha sobre tomate

### 5.1.5 Evaluación del efecto antifúngico del A.E.C.N.

En la tabla 9 se muestra el porcentaje de inhibición en el crecimiento micelial de *A. solani* a los 10 días de incubación en medio de cultivo PDA con A.E.C.N. a diferentes concentraciones.

**Tabla 9.**

**Porcentaje de Inhibición del crecimiento micelial de *A. solani* en medio PDA con A.E.C.N**

TRATAMIENTO	A	B	C	D	E
REPLICAS	(0,08%)	(0,2%)	(0,5%)	(0,8%)	(1%)
	(v/v)	(v/v)	(v/v)	(v/v)	(v/v)
<b>1</b>	45,8	43,8	62,5	70	83,8
<b>2</b>	32	37,1	47,3	54	88
<b>3</b>	30,4	39	56,5	60,8	84,8
<b>Promedio</b>	36,07	39,97	55,43	61,6	85,53
<b>Desviación estándar</b>	8,47	3,45	7,66	8,03	2,19
<b>Coefficiente de variación</b>	23,48	8,64	13,81	13,04	2,57

**Fuente:** esta investigación.

La concentración de aceite esencial al 1% inhibió el crecimiento micelial del hongo *A. solani* en un 85.4 % presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) con respecto al resto de tratamientos. El micelio del hongo se inhibió entre 36,1% y 39,9% cuando se utilizaron las concentraciones de 0,08% y 0,2% del aceite esencial ( $p < 0,05$ ), presentando diferencia significativa respecto a los

tratamientos C, D Y E (0,5%, 0,8%, 1%). Las concentraciones de aceite esencial 0,5% y 0,8% inhibieron el crecimiento micelial del hongo entre 55,4 y 61,6%, presentando diferencia significativa ( $p < 0,05$ ), a los tratamientos A, B Y E (0,08%, 0,2%, 1%). Se realizó una prueba de análisis de varianza que muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos.

En la tabla 10 se muestra los tratamientos entre los cuales existen diferencias significativas.

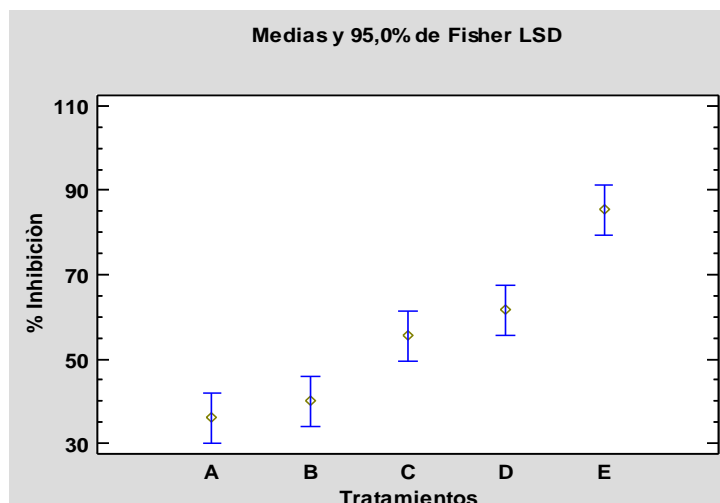
**Tabla 10.**

***Prueba de Múltiple Rangos para % Inhibición por Tratamientos***

Tratamientos	Casos	Media	Grupos Homogéneos
A	3	36,0	a
B	3	39,9	a
C	3	55,4	b
D	3	61,6	b
E	3	85,3	c

**Fuente:** esta investigación.

(Guédez *et al.*, 2014) encontraron que el A.E.C.N. tiene un efecto inhibitor en el crecimiento micelial de hongos in vitro, superior al 80% a concentración de A.E.C.N. de 1%. Esto se debe a la eficiencia antifúngica de los monoterpenos componentes mayoritarios en el A.E.C.N. (tabla 5), entre ellos el limoneno (Adinee *et al.*, 2008; Caccioni *et al.*, 1998). Así mismo (Marei *et al.*, 2012) informaron que tres monoterpenos (timol, (S)-limoneno y 1,8-cineol) tienen propiedades antifúngicas efectivas, al inhibir el crecimiento micelial de hongos. Sin embargo, French, (1985) señala que los diversos componentes que conforman el aceite deben actuar de manera sinérgica para inhibir el crecimiento de los microorganismos.



**Figura 7. Gráfico de medias 95% de Fisher LSD para % Inhibición por Tratamientos**

**Fuente:** esta investigación.

El mecanismo de acción de los aceites esenciales no está claro, sin embargo, se les atribuye la destrucción de la membrana microbiana debido a sus constituyentes lipofílicos (Shelz Z., 2006). Sin embargo, estudios recientes indican otros efectos de estos aceites, como: cambios en la morfología del hongo, daños sobre estructuras reproductivas (conidias e hifas) y disminución de la producción de toxinas (Park., 2009).

La importancia de los aceites esenciales radica en que son biodegradables y efectivos para el control de enfermedades en condiciones de campo y almacenamiento, reduciendo las aplicaciones de fungicidas químicos sintéticos, garantizando la seguridad alimentaria en países en desarrollo. El A.E.C.N puede ser una alternativa factible, para el control natural y eficaz de hongos postcosecha, causantes de grandes pérdidas en frutas para exportación y consumo.

## 5.2 Desarrollar un recubrimiento comestible a base de almidón con la incorporación de A.E.C.N.

### 5.2.1 Caracterización de la base del recubrimiento a base de almidón de papa.

#### Índice de solubilidad y absorción de agua.

Los índices de solubilidad y absorción de agua se pueden utilizar como un indicativo del grado de modificación de los almidones por tratamientos termomecánicos. El índice de solubilidad del almidón es la capacidad de reaccionar con agua y disolverse en ella, igualmente indica el grado de asociación existente (enlace intragranular) entre los polímeros del almidón-amilosa/amilopectina (Araujo et al., 2004).

#### Tabla 11.

*Capacidad de absorción de agua (g agua/g almidón), solubilidad en agua (g soluble/ g muestra) de almidón de papa (Solanum tuberosum).*

Almidón de papa	IAA (g agua/g almidón)	ISA (g soluble/ g muestra).
<b>M1</b>	7,98	1,71
<b>M2</b>	7,18	1,45
<b>M3</b>	7,12	1,74
<b>Promedio</b>	7,43	1,63
<b>Desviación estándar</b>	0,48	0,16
<b>Coefficiente de variación</b>	6,49	9,87

**Fuente:** esta investigación.

El ISA a 70°C fue de 1,6 (g soluble/ g muestra) y el IAA fue de 7,4 (g agua/g almidón), es decir que a una temperatura de 70°C el almidón de papa absorbe 7,4 veces más agua con base a su peso inicial.

Los valores obtenidos de IAA, ISA son similares a los reportados por (Garnica *et al.* 2010) con valores promedio para los almidones de papa nativa (*Solanum tuberosum*) de 11,2 g gel/ g muestra, 2,42 g soluble/ g muestra.

Por otra parte la FAO (1999) indica que una baja solubilidad, alta absorción de agua, son indicativos de buena calidad en los almidones, por ende, el almidón evaluado puede ser catalogado como tal, los valores de referencia para el índice de absorción de agua en el almidón de yuca varía entre 0,82 y 15,52 g gel/g muestra, el índice de solubilidad en agua entre 0,27-12,32 g solubles /g muestra datos comparables con los valores máximos de IAA, ISA obtenidos en este trabajo de investigación: 7,989 g de gel/ g de muestra, 1,743 g soluble/ g muestra.

### **5.2.2 Pruebas preliminares.**

**Evaluación de los componentes utilizados en la formulación preliminar del recubrimiento:** se estudiaron diferentes formulaciones en las que se varía el contenido de estos en dos niveles como se explica a continuación.

**Determinación de la cantidad de almidón de papa:** De acuerdo con las concentraciones estudiadas se determinó que valores superiores a 6% se dificultaban para el manejo, porque se formaban grumos o no se disolvían completamente presentándose precipitaciones de sólidos; en cuanto a concentraciones inferiores a 4% no eran valores significativos en comparación a la base acuosa.

**Determinación de la concentración de cera de abeja:** Se utilizó un compuesto de carácter lipídico en la formulación del recubrimiento, la cera mejora las propiedades mecánicas del recubrimiento según lo reportado por (Bourtoom., 2009). El uso de cera de abeja por encima del



15 % genera una capa rígida, de color opaco, no apto para la industria alimentaria por su presentación, se complica la aplicación, presenta una estructura quebradiza y afecta las características organolépticas, por el contrario, valores inferiores al 1% no generan una consistencia adecuada, razón por la cual se dificulta la aplicación y funcionalidad en el recubrimiento.

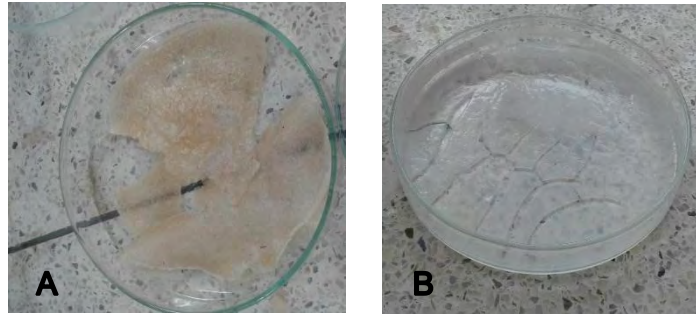
**Determinación de la concentración de plastificante:** Los plastificantes debilitan las fuerzas intermoleculares entre las cadenas poliméricas adyacentes, proporcionando a la película una mayor flexibilidad, y por lo tanto una mayor adaptabilidad al alimento y una menor fragilidad (Otin 2011).

**Determinación de la concentración de emulsificante:** la concentración de Tween 80 que se utilizó fue en relación 1/1 en base a la concentración de cera de abeja. El exceso afecta la calidad sensorial del recubrimiento dándole un sabor amargo característico del emulsificante, y concentraciones muy bajas generan separación de fases. (Cuatin y Lòpez 2015).

**Otros aditivos:** además de los anteriores materiales se estudió el uso de pectina, esta permite una mejor estructura de formación de película (ver imagen 33), debido a que sin la pectina se obtenía un buen recubrimiento, pero al momento de formar película para poder realizar la respectiva caracterización no se lograba el resultado requerido (ver imagen 32).

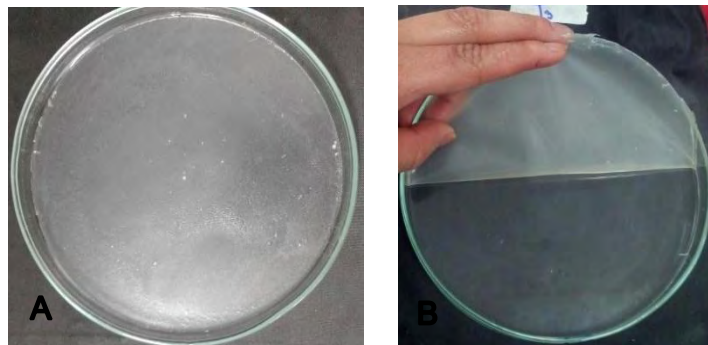
Sothornvit y Pitak (2007), encontraron que las películas de almidón y pectina tienen un alto módulo de elasticidad. Según Aguilar, M., (2005), las películas elaboradas a partir de almidón son flexibles, y presentan buenas barreras al oxígeno, sin embargo, sus propiedades de barrera contra la humedad no son tan buenas, y sus propiedades mecánicas son generalmente inferiores a las de películas sintéticas. Así mismo (Tharanathan., 2003) explica que la estructura ramificada de la amilopectina generalmente conlleva a películas con pobres propiedades mecánicas, es decir, la fuerza de tensión y de elongación son bajas. La pectina está formada por macromoléculas que

son polisacáridos altamente hidrofílicos que pueden absorber agua cien y hasta quinientas veces su propio peso (Camejo *et al.*, 1996), esto permitió equilibrar la dificultad que presenta el almidón al formar barrera contra la humedad.



**Imagen 32. A) y B) Formación de película antes de adicionar pectina.**

**Fuente:** Esta investigación



**Imagen 33. A) y B) Formación de película después de adicionar pectina.**

**Fuente:** Esta investigación

### **5.2.3 Formulación del recubrimiento comestible a base de almidón de papa y aceite esencial de cascara de naranja.**

En base a las pruebas preliminares, se evaluaron 8 diferentes formulaciones en base a la resistencia a la tracción, esta propiedad es la máxima tensión que puede aplicarse al film antes de provocar su ruptura. Es muy importante que el recubrimiento comestible tenga unas buenas

propiedades mecánicas que permitan mantener la integridad de la película durante el manejo, embalaje y transporte.

Los factores que se tuvieron en cuenta en la variable de respuesta fueron almidón de papa, cera de abeja y glicerina; en la tabla 12 se muestra la incidencia de los factores.

**Tabla 12.**

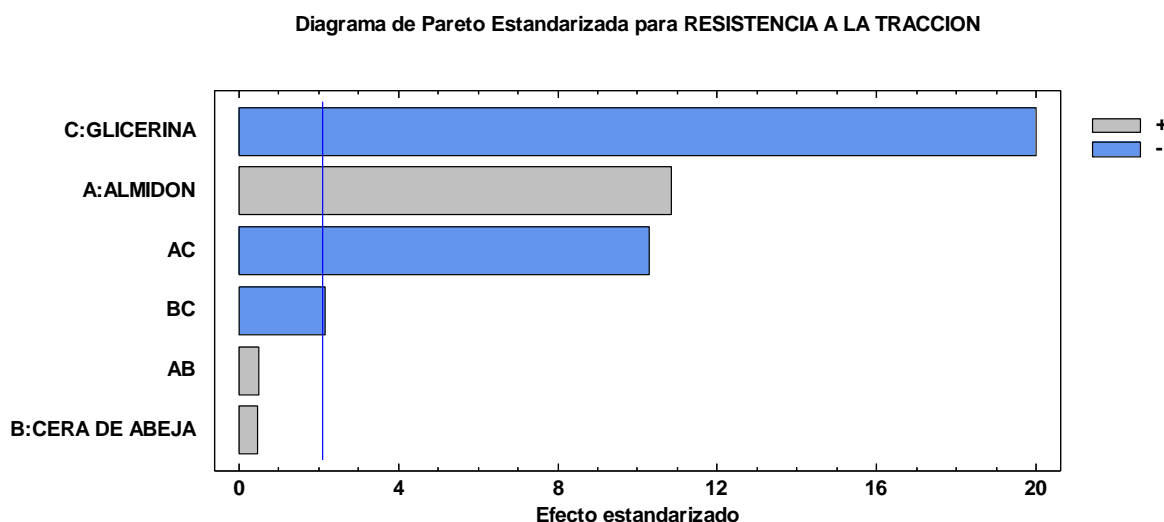
**Análisis de varianza para resistencia a la tracción de películas a diferentes formulaciones.**

Fuente	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:ALMIDON	20,98	20,98	117,7	0,0000
B:CERA DE ABEJA	0,043	0,041	0,23	0,6365
C:GLICERINA	71,24	71,24	399,4	0,0000
AB	0,046	0,046	0,26	0,6154
AC	18,84	18,84	105,6	0,0000
BC	0,840	0,840	4,71	0,0444
Error total	3,032	0,178		
Total (corr.)	115,0			
<b>R-cuadrada</b>	<b>97,36%</b>			

Fuente: esta investigación

La concentración de cera de abeja no presenta un efecto significativo por si sola (p-valor= 0,6365), la interacción de los componentes almidón-cera tampoco muestra un efecto significativo sobre la variable (p-valor=0,6154), mientras que la concentración de glicerina, almidón y la interacción glicerina-almidón si generan un efecto significativo sobre la resistencia a la tracción (p-valor=0,0000); la interacción cera de abeja-glicerina también ejerce un efecto significativo sobre la resistencia a la tracción (0,0444).

La figura 8 demuestra que la cera de abeja (B), como componente individual dentro de la formulación no presenta un efecto significativo sobre la variable de respuesta, al igual que la interacción almidón cera, el componente almidón de papa presenta un efecto significativo directamente proporcional a la RT, las interacciones almidón glicerina (AC) y cera de abeja glicerina (BC), tienen un efecto inversamente proporcional sobre este parámetro, así como también la glicerina como componente individual siendo este el de mayor importancia.



**Figura 8. Diagrama de Pareto estandarizado para resistencia a la tracción, película a base de almidón de papa.**

**Fuente:** Esta investigación

Las interacciones entre el material formador de la película con otras sustancias como agua, plastificantes, lípidos y otros aditivos dispersos en la matriz, influyen notablemente en su comportamiento mecánico (Anker, 1996). Aguliar (2005) reportan que a concentraciones menores de 0,3% de glicerol la resistencia a la ruptura tendió a disminuir, esto provocado por el aumento en la rigidez de las películas. De igual manera, la resistencia se redujo a concentraciones de glicerol mayor que 0,4%, a concentraciones extremas de glicerol (0,64%), las películas se tornan pegajosas y de difícil manejo.

La glicerina al ser una molécula hidrofílica de tamaño relativamente pequeña puede ser fácilmente introducida y formar puentes de hidrogeno, no solo entre cadenas proteicas, sino también entre complejos proteína- almidón (Gontard *et al.*, 1993; Arvanitoyannis *et al.*, 1997). De esta manera, al existir interacciones indirectas se reduce la proximidad o cercanía entre los biopolímeros, lo que facilita el movimiento y flexibilidad de los mismos.

La tabla 13 muestra los resultados de la resistencia a la tracción (MPa) y las diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento 4 presento la mayor RT con  $6,68 \pm 0,56$  MPa y la menor resistencia a la tracción fue del tratamiento 8 con una RT de  $0,52 \pm 0,04$  Mpa.

**Tabla 13.**

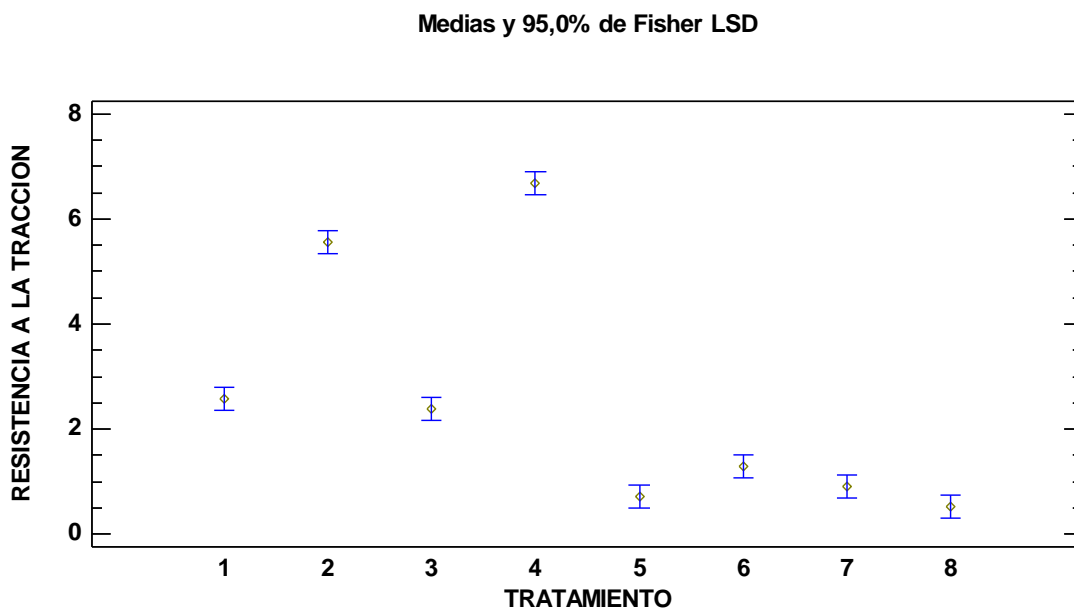
**Resistencia a la tracción de películas a diferentes formulaciones de recubrimiento a base de almidón de papa.**

Tratamiento	Almidón de papa	Cera de abeja	Glicerina	Resistencia a la tracción (Mpa) (n=3)
1	4	0,5	3	$2,58 \pm 0,12^c$
2	6	0,5	3	$5,56 \pm 0,42^d$
3	4	1	3	$2,37 \pm 0,12^c$
4	6	1	3	$6,68 \pm 0,56^e$
5	4	0,5	5	$0,70 \pm 0,01^a$
6	6	0,5	5	$1,29 \pm 0,10^b$
7	4	1	5	$0,90 \pm 0,06^{ab}$
8	6	1	5	$0,51 \pm 0,04^a$
<b>Valor - p</b>			0,000	

**Fuente:** esta investigación.

Valor – p 0,000 No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el espesor y humedad de las películas, el espesor promedio fue de  $0,136 \pm 0,001$  mm (Anexo 1) y humedad de  $13,5 \pm 0,16$  % (Anexo 2) base húmeda.

El P-valor menor que 0,05%, indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre cada tratamiento. El tratamiento 4 formado por el 6% de almidón de papa, 3% de glicerina y 1% de cera de abeja presenta el mayor valor de RT 6,68 MPa, esto se debe a la baja concentración de glicerina y alta concentración de almidón. Los plastificantes tienen la capacidad de enlazar moléculas de agua a la estructura polimérica y reducen de esta forma la interacción entre sus cadenas y generan de tal forma un espacio intra e intermolecular denominado volumen libre, lo que provoca una mayor movilidad de las cadenas disminuyendo la RT de las películas.



**Figura 9 Gráfico de medias 95% de Fisher LSD para resistencia a la tracción a diferentes tratamientos de películas a base de almidón de papa.**

**Fuente:** Esta investigación

En la figura 9 se observa las diferencias significativas entre tratamientos, el tratamiento 4 presenta diferencias significativas respecto a todos los tratamientos, los tratamientos 5, 2 y 4

obtuvieron una RT de 5,56 MPa y 6,68 MPa, presentando una diferencia significativa ( $p < 0,05\%$ ) con respecto al resto de tratamientos. Las películas de los tratamientos 5 y 8 presentaron valores de RT de 0,70 MPa, y 0,51 MPa ( $p < 0,05$ ) presentada diferencia respecto a los demás tratamientos. Los tratamientos 3, y 1, (2,37MPa, 2,58MPa) presentan diferencias significativas en relación con los demás tratamientos. El tratamiento 7 (0,90Ma) presenta diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) con respecto a los tratamientos 1, 2, 3 y 4., el tratamiento 6 (1,29 MPa) presenta diferencias significativas respecto a los tratamientos 2, 4, 1,3, 5 y 8.

(Medina y Salas 2007) reportan que los gránulos de almidón de papa son más esféricos y regulares, pudiendo indicar que puede formar estructuras moleculares más estables, esta condición puede reflejarse en una mayor fuerza de ruptura en las películas. Los mismos autores indican que el almidón de papa tiene gránulos de mayor tamaño, por lo cual pueden llegar a tener más capacidad de absorción de agua y su estructura permite la mejor incorporación de moléculas de plastificante y agua en la formación de las películas. (Sanchez *et al.*, 2015) reportan que a bajas concentraciones de glicerol la fuerza de tensión de las películas es mayor, este comportamiento ya ha sido reportado por varios autores, el incremento de la concentración de plastificante reduce las fuerzas intermoleculares con lo que se aumenta la flexibilidad y se reduce la resistencia de los materiales

La efectividad del recubrimiento cuando se aplica a frutas y hortalizas depende de unas adecuadas propiedades mecánicas. Los recubrimientos deben ser resistentes a la rotura y la abrasión (para reforzar la estructura del alimento y facilitar su manipulación), para adaptarse a posibles deformaciones del producto sin romperse. Por esta razón, la resistencia mecánica debe ser determinada; el tratamiento 4 presento mayor resistencia a la tracción con una formulación: almidón 6%, glicerina 3% (p/v), cera de abeja 1% (p/v), A.E.C.N. 1% (p/v), pectina 2% (p/v) y Tween 80 1% (p/v).

### 5.2.4 Caracterización de la película óptima.

La caracterización de la película comestible a base de almidón de papa consiste en conocer sus propiedades mecánicas y ópticas que reflejan el estado de la película y su capacidad de mantenerse al momento de ser aplicada sobre el tomate chonto. La mejor formulación fue almidón de papa 6%, glicerina 3%, pectina 2%, cera de abeja 1%, tween 80 1%.

#### Propiedades mecánicas de la película óptima.

Las propiedades mecánicas reflejan la capacidad de las películas para mantener la integridad del producto empacado y la resistencia del material. La caracterización mecánica de la película a base de almidón de papa consistió en realizar una prueba de ensayo a tensión, para medir su Módulo de Young y Porcentaje de Elongación, en la tabla 14 se muestran los respectivos resultados.

**Tabla 14.**

**Porcentaje de elongación (%) y Modulo de Young (Mpa) de la película óptima.**

PROPIEDAD/ REPLICA	Porcentaje DE ELONGACION %	MODULO DE YOUNG MPa
1	4,05	431,1
2	4,08	431,0
3	4,21	431,1
<b>PROMEDIO</b>	4,11	431,1
<b>DESVICION ESTANDAR</b>	0,08	0,05
<b>COEFICIENTE DE VARIACION</b>	1,99	0,01

**Fuente:** Esta investigación



### **Porcentaje de elongación**

El porcentaje de elongación es el cambio de tamaño o forma de la película referido a su tamaño o forma original (adimensional, m/m). El porcentaje de elongación aumenta a medida que la concentración de glicerina aumenta. La película comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. tuvo un porcentaje de elongación de  $4,11 \pm 0,08$  %.

El resultado es menor a los reportados por Rodríguez *et al.*, (2006), quienes encontraron un porcentaje de elongación para películas de almidón de papa de  $12,1 \pm 1,1$  %; no obstante, la formulación de la película es diferente a lo expuesto en la presente investigación.

Varios autores (Gontard *et al.*, 1993; Yang y Paulson 2000; Tapia – Blacido *et al.*, 2005) reportaron incrementos en los valores de deformación para películas comestibles, con aumentos en las concentraciones de glicerol. El aumento en la capacidad de deformación de la película, antes de su ruptura, con incrementos en la concentración del plastificante puede explicarse porque al disminuir las interacciones intermoleculares se favorece la movilidad de las macromoléculas. Además, el incremento en la concentración de plastificante eleva el contenido de humedad de la película, a causa de su gran higroscopicidad, lo cual también contribuye a la reducción de las fuerzas entre macromoléculas adyacentes (Sobral *et al.*, 2001). (Tabla 14).

### **Módulo de Young.**

El módulo de Young o módulo de elasticidad es un parámetro que caracteriza el comportamiento de un material elástico, según la dirección en la que se aplica una fuerza; relaciona el esfuerzo con la deformación unitaria que experimenta la película al ser sometida a cargas externas. El módulo de Young aumenta a medida que disminuye la concentración de plastificante. La película comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. tuvo un módulo de elasticidad de  $431,11 \pm 0,05$  Mpa (Tabla 14).

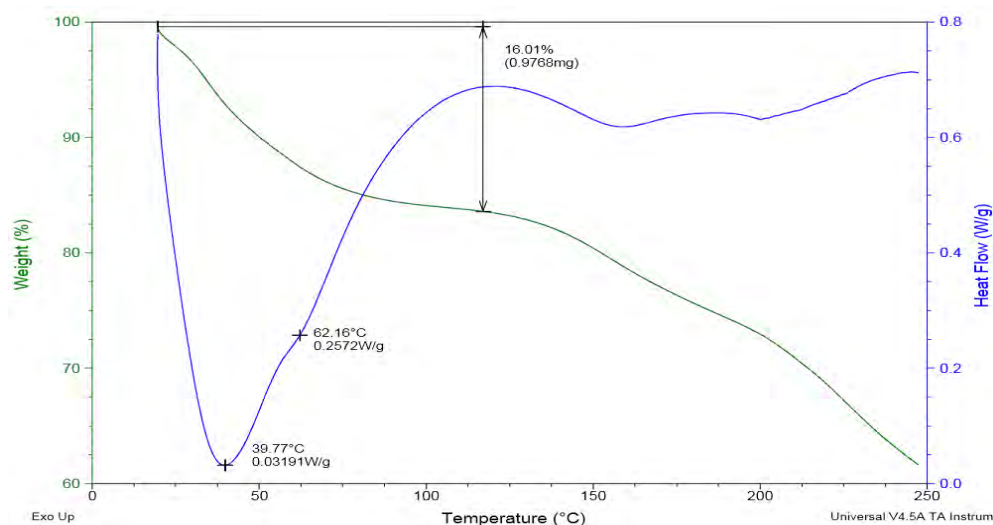
López *et al.*, (2017), reportan un valor de módulo de elasticidad de 3,3 MPa para películas a base de almidón de papa, este valor es menor al reportado por la presente investigación.

### **Análisis termogravimétrico TGA**

El análisis termogravimétrico determina los cambios de peso de la película con el incremento de la temperatura. El TGA permite conocer la resistencia de la película con la determinación de la variación de peso del material (pérdida o ganancia) en función de la temperatura y el tiempo mientras la muestra es sometida a un incremento controlado de la temperatura (Espitia *et al.*, 2014).

El análisis de TGA en las películas define las condiciones de temperatura a la cual el material comienza a descomponerse; se puede deducir que es la temperatura hasta la cual el recubrimiento comestible aplicado en el fruto mantiene sus propiedades (ópticas, mecánicas, microestructurales, actividad antimicrobiana y antioxidante) durante el almacenamiento.

En la Figura 10 se muestra la curva de pérdida de peso en función del incremento de la temperatura. En nuestro caso se presenta aproximadamente a los 40°C donde la muestra presenta un 16% de pérdida de peso del porcentaje total de la muestra, coincide con Sánchez *et al.*, (2015), reporta cinco zonas de pérdida de peso de una película a base de extracto péctico de bagazo de limón con la incorporación de aceite esencial de limón. La primera zona se encuentra por debajo de los 60°C, con una pérdida de peso de casi el 10%, esto posiblemente puede deberse a pérdida de humedad, así como a la evaporación del aceite esencial incorporado a la película debido a la alta volatilidad de los compuestos presentes en los aceites esenciales, La glicerina logra disminuir la cohesión entre las macromoléculas de la película, dando lugar a la formación de una estructura térmicamente menos resistente.



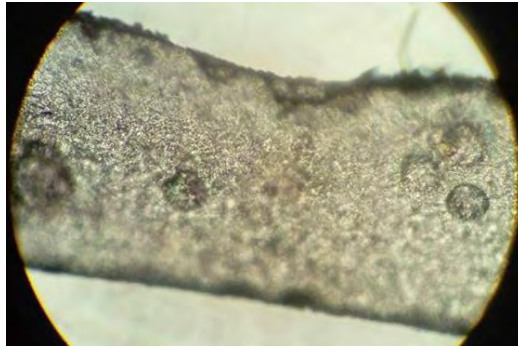
**Figura 10. Curva de TGA de la película comestible a base se almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N.**

**Fuente:** Esta investigación

Fernández (2015) reporta la temperatura de máxima velocidad de degradación de las películas almidón de patata, lactoferrina, lisozima y glicerol, presentando dos etapas: La primera etapa de pérdida de peso, hasta 100°C, corresponde a la pérdida de la humedad presente en las películas y dio lugar a una pérdida de masa en torno al 6%, coherentemente con los valores de humedad de equilibrio de la película. La segunda etapa corresponde a la degradación de los componentes de la película que se inicia entre 265 y 283 °C, dependiendo de la composición de la película.

### **Caracterización óptica de la película.**

La morfología de la superficie y de la sección transversal de la película seleccionada fue examinada mediante estereomicroscopio, en la imagen 35 se observa que la superficie de la película es rugosa y heterogénea, además el espesor no es constante y existe variabilidad, también es posible ver poros posiblemente de aire, esto pudo deberse a técnica de preparación de la película. (Sánchez, 2014).



**Imagen 34. Observación en estereomicroscopio de la película comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N.**

**Fuente:** Esta investigación

### **5.3 Evaluación del efecto del recubrimiento con la incorporación de A.E.C.N sobre el crecimiento fúngico.**

#### **5.3.1 Evaluación de la firmeza del tomate chonto (*S. lycopersicum*) con aplicación del recubrimiento.**

La firmeza es una propiedad mecánica que indica la fuerza necesaria para una determinada deformación o resistencia a la penetración, la firmeza es un indicador de calidad muy importante para el consumo y preparación de productos hortofrutícolas.

Se realizó la aplicación del recubrimiento a base de almidón de papa 6%, cera de abeja 1%, glicerina 3%, tween 80 1% y pectina 2%, por el método de inmersión durante 3 minutos. Durante el almacenamiento se observó una disminución en la firmeza del fruto, esto puede estar relacionado con la deshidratación, cuya piel inicialmente era lisa y suave y posteriormente se tornó rugosa. En la tabla 18 se muestran los valores de firmeza para los diferentes tratamientos, Blanco son los frutos evaluados sin la aplicación de recubrimiento, Control frutos de tomate con la aplicación de recubrimiento sin la adición de A.E.C.N. y el tratamiento son los frutos de tomate con recubrimiento con la adición de A.E.C.N. Los frutos de tomate que fueron recubiertos con recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de aceite tuvieron menor

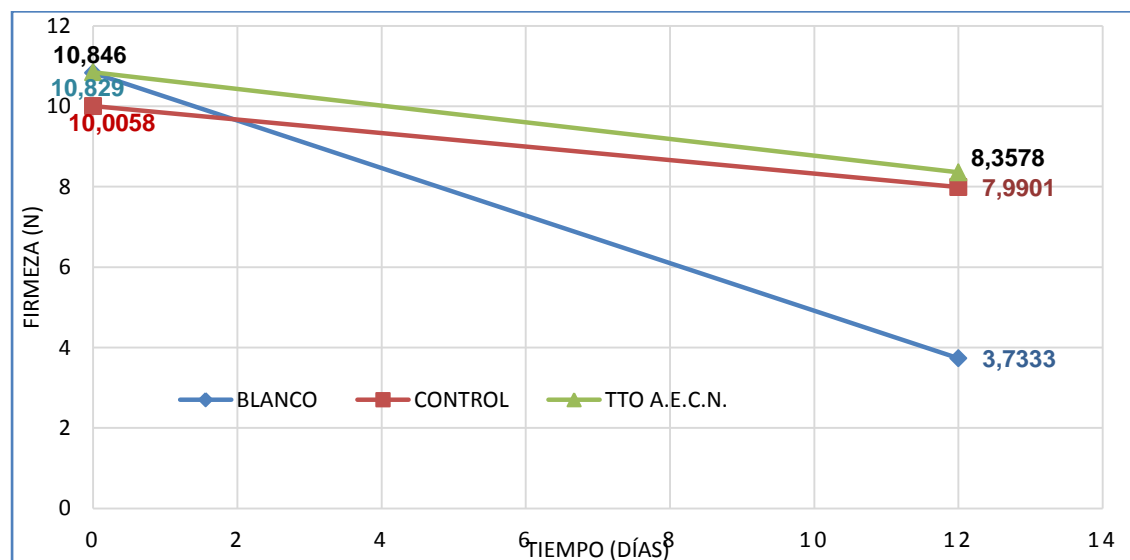
perdida de firmeza en comparación al blanco y control, los frutos a los cuales no se les aplicó recubrimiento tuvieron mayor pérdida de firmeza

**Tabla 15.**

**Firmeza (N) de Tomate chonto con recubrimiento a base de almidón de papa para los días 0 y 12 de evaluación.**

FIRMEZA (N) n=3	DIA 0	DIA 12
<b>TRATAMIENTO</b>		
<b>BLANCO</b>	10,8 ± 0,98	3,73 ± 0,44
<b>CONTROL</b>	10,0 ± 0,28	7,99 ± 0,07
<b>TRATAMIENTO</b>	10,8 ± 0,31	8,35 ± 0,15

**Fuente:** Esta investigación.



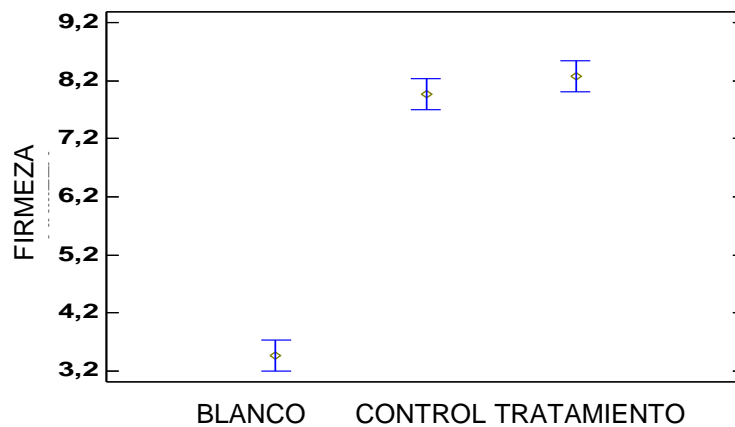
**Figura 11. Firmeza (N) de los frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*). Evaluación de 12 días.**

**Fuente:** Esta investigación

De acuerdo con la figura 11, la firmeza desciende de 10,829 N hasta 3,733 N, es decir un 65,5% de pérdida de firmeza en el blanco; para el control de 10,005 N a 7,990 N (28,2% de

perdida de firmeza ) y de 1,846 N a 8,857 N (23% de pérdida de firmeza) para el tratamiento con A.E.C.N.

El análisis de varianza indica que hubo diferencias significativas en la firmeza del fruto de tomate entre el blanco y los otros tratamientos (control y tratamiento); el control y el tratamiento no presentaron diferencias significativas ( $P>0,05$ ), por lo tanto, la aplicación del recubrimiento ayudó a mantener la textura del fruto de tomate. (Figura 12).



**Figura 12. Gráfico de medias 95% de Fisher LSD. Firmeza de frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*). Evaluación día 12.**

**Fuente:** Esta investigación

La firmeza es el parámetro más usado para establecer el grado de madurez de un fruto, es un indicativo sobre su vida útil potencial y un factor importante de calidad; el debilitamiento de la estructura del fruto puede generar mayor susceptibilidad al daño mecánico y al ataque de patógenos (Di Santo et al., 2009), factores que reducen la calidad y la limitación de la comercialización para el consumo en fresco de los productos (Pablo et al., 2010).

### 5.3.2 Evaluación del crecimiento fúngico sobre el tomate chonto (*Solanum lycopersicum*)

En la tabla 16 se muestra el seguimiento visual realizado a las muestras de tomate chonto (*S. lycopersicum*) con la inoculación del hongo fitopatógeno *A. solani*. a los 0 y 12 días de evaluación.

**Tabla 16.**

**Seguimiento visual, crecimiento fúngico en frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*).**

Día	Sin Recubrimiento (BLANCO)	Recubrimiento Sin Aceite (CONTROL)	Recubrimiento Con Aceite (TRATAMIENTO)
0	Fruto de tomate sin presencia de hongos	Fruto de tomate sin presencia de hongos	Fruto de tomate sin presencia de hongos
3	Fruto de tomate sin presencia de hongos	Fruto de tomate sin presencia de hongos	Fruto de tomate sin presencia de hongos
6	Frutos con presencia de manchas que indican crecimiento de hongo	Fruto de tomate sin presencia de hongos	Fruto de tomate sin presencia de hongos
9	Presencia de manchas y lesiones en la piel del fruto que indican crecimiento de hongo	Frutos con presencia de manchas que indican crecimiento de hongo	Fruto de tomate sin presencia de hongos
12	Crecimiento micelial del hongo y se presentó crecimiento de otro tipo de hongo.	Crecimiento micelial del hongo y se presentó crecimiento de otro tipo de hongo.	Frutos con presencia de manchas que indican crecimiento de hongo

**Fuente:** Esta investigación.

En los frutos de tomate sin recubrimiento (blanco), se presentó un mayor crecimiento fúngico, este se empieza a desarrollar desde el día 6, en el último día de observación el fruto tuvo una contaminación por otro hongo, esto se debe a que en el ambiente se encuentran microorganismos que pueden afectar la calidad microbiológica de frutas y hortalizas, esta misma contaminación la presentaron las muestras de tomate control (recubrimiento sin A.E.C.N.) a los 12 días de evaluación, estos también presentaron crecimiento fúngico, sin embargo este se evidenció en menor proporción en relación al blanco, los recubrimientos comestibles se utilizan para evitar el intercambio de gases lo cual puede evitar el desarrollo de microorganismos.

Los frutos de tomate a los cuales se les aplicó el recubrimiento con A.E.C.N. no presentaron desarrollo de microorganismos durante 9 días, al día 12 de evaluación se observó una pequeña mancha de coloración marrón; lo que indica que hubo crecimiento fúngico; el A.E.C.N. a una concentración de 1% inhibe el crecimiento de *Alternaria solani* en un 85,4% in vitro.

En la imagen 35 se muestra el seguimiento realizado a los frutos de tomate sin recubrimiento (blanco), durante 12 días.

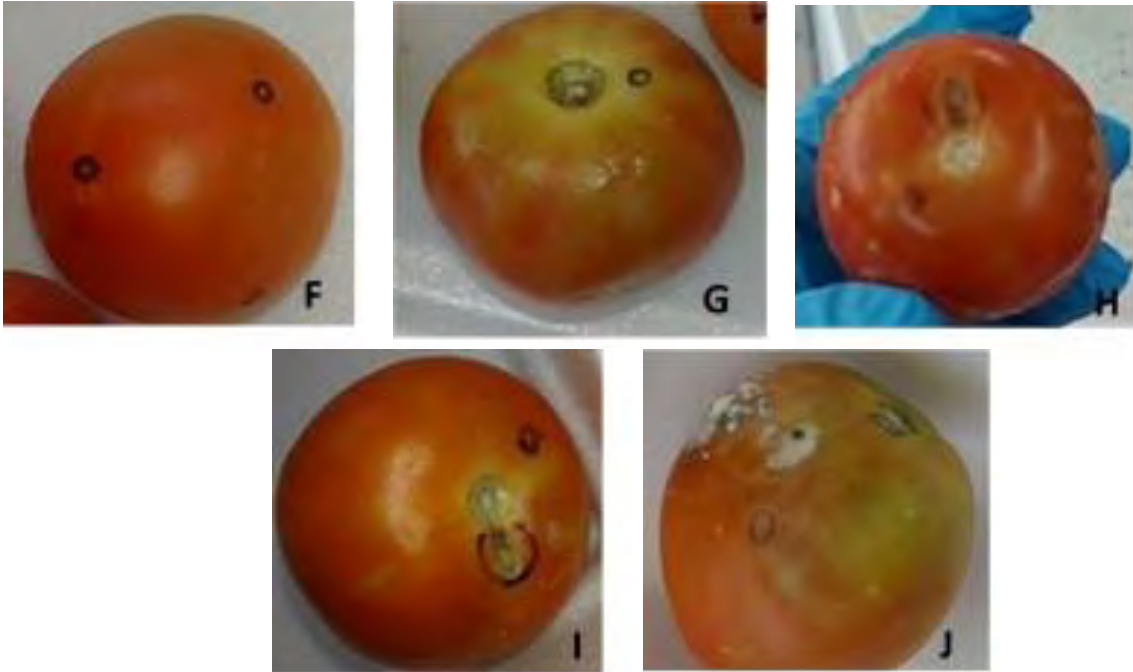


**Imagen 35. Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto sin recubrimiento (BLANCO) durante 12 días. A) Día 0, B) Día 3, C) Día 6, D) Día 9, E) Día 12.**

**Fuente:** Esta investigación.

En la imagen 36 se muestra el seguimiento realizado a los frutos de tomate con recubrimiento sin A.E.C.N. (control) durante 12 días.

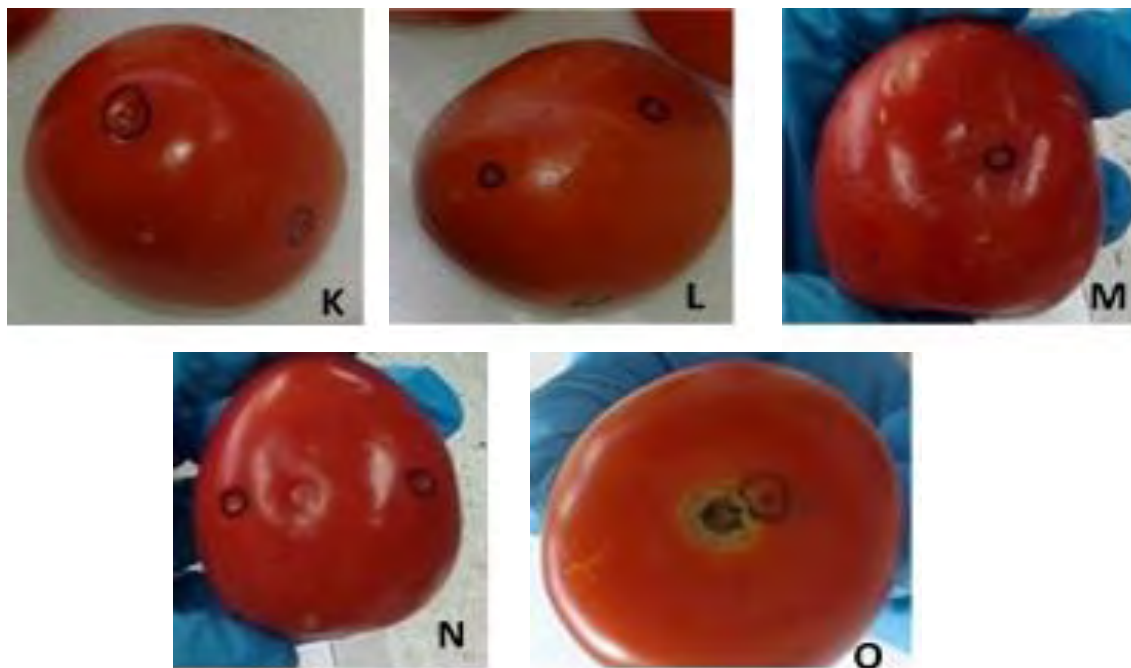




**Imagen 36. Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto con recubrimiento sin A.E.C.N. (control) durante 12 días. F) Día 0, G) Día 3, H) Día 6, I) Día 9, J) Día 12**

**Fuente:** Esta investigación.

En la imagen 37 se muestra el seguimiento realizado a los frutos de tomate con recubrimiento y A.E.C.N. (tratamiento) durante 12 días.



**Imagen 37. Seguimiento visual del crecimiento fúngico de frutos de tomate chonto con recubrimiento y A.E.C.N. (tratamiento) durante 12 días. K) Día 0, L) Día 3, M) Día 6, N) Día 9, O) Día 12**

**Fuente:** Esta investigación.

Ramos *et al.*, (2010) afirma que al formular recubrimientos comestibles adicionando a las formulaciones productos como los aceites esenciales, se evita el desarrollo de microorganismos, se prolonga la vida de anaquel de los productos agrícolas, y se mantienen las propiedades sensoriales de éstos. Lo cual coincide con nuestros resultados. Además, Achipiz *et al.*, (2013), estudiaron recubrimiento de almidón de papa sobre alimentos y concluyen que incrementa la vida útil 10 días, además de disminuir la pérdida de calidad.

## 6. Conclusiones

La aplicación del recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. sobre tomate chonto (*S. lycopersicum*), ayudo a disminuir el crecimiento fúngico de *A. solani* y a mantener la firmeza de los frutos durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

El rendimiento de la extracción de A.E.C.N. por el método de arrastre de vapor fue de 0,18% (p/p).

El principal constituyente del aceite esencial de cascara de naranja (*C. sinensis*) fue el limoneno con una concentración relativa de 83,58%

Si identificaron 4 tipos de microorganismos como posibles hongos fitopatógenos en frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*): *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizopus stolonifer* y *Geotrichum candidum*.

El A.E.C.N. a una concentración de 1% inhibió en un 85.4% el crecimiento de *A. solani* en medio agar PDA.

El almidón de papa presenta una baja solubilidad y alta absorción de agua; presento un I.A.A. de 7,43 g de agua/g de almidón y un I.S.A. de 1,63 g soluble/g de almidón. El I.A.A. y el I.S.A son un indicativo del grado de modificación de los almidones por tratamientos termomecánicos.

Las concentraciones de almidón y glicerina tuvieron influencia significativa sobre las propiedades mecánicas de las películas. El mayor valor de resistencia a la tracción de la película (6,68 MPa) se obtuvo con la formulación 6% de almidón de papa, 3% de glicerina y 1% de cera de abeja.

La película óptima presentó un porcentaje de elongación de 4,11% y un módulo de elasticidad de 431,11 MPa. Con una formulación de almidón de papa 6%, glicerina 3%, cera de abeja 1%, pectina 2% y tween 80 1%. A concentraciones bajas de glicerina y altas de almidón de papa, la capacidad de deformación es baja y el módulo de elasticidad es alto.

La película comestible a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. presentó una temperatura de modificación de la estructura alrededor de los 40°C y una pérdida de masa de 16% de acuerdo con el análisis termogravimétrico.

La película óptima presentó una morfología de la sección transversal rugosa y heterogénea, esta no presentó un espesor constante y se observaron la formación de posibles poros de aire.

La aplicación de recubrimiento con la incorporación de A.E.C.N. sobre los frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*) contribuyó a disminuir la pérdida de firmeza en un 23% durante 12 días de almacenamiento a temperatura ambiente.

El recubrimiento a base de almidón de papa con la incorporación de A.E.C.N. retardo el crecimiento fúngico hasta 9 días de almacenamiento en comparación con frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*) sin recubrimiento y frutos con recubrimiento sin aceite esencial a condiciones ambientales.

El uso de películas a base de almidón de papa con la incorporación de aceite esencial de cascara de naranja (*C. sinensis*) puede representar una excelente propuesta en el recubrimiento de frutos de tomate chonto (*S. lycopersicum*) para evitar el crecimiento fúngico.

## **7. Recomendaciones**

Evaluar características sensoriales que permitan determinar la incidencia de las formulaciones propuestas de los recubrimientos en la aceptabilidad de estas aplicadas a los alimentos.

Estudiar el efecto de la concentración de aceite esencial sobre las propiedades mecánicas y termo gravimétricas de las películas a base de almidón de papa.

Estudiar el efecto de la incorporación de pectina a los recubrimientos a base de almidón de papa en las propiedades mecánicas, de textura y de análisis termogravimétrico.

Evaluar la capacidad antifúngica del A.E.C.N. con otros microorganismos, que ataquen a otros frutos.

### Referencias Bibliográficas

ALZATE N., A., López V., K., Marín H., A. y Murillo A., W. Evaluación preliminar de la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, myrtaceae) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis*, rutaceae) sobre algunos hongos filamentosos. *Revista Tumbaga* (2009).

ANGELETTI, P., Castagnasso, H., Miceli, E., Terminiello, L., Concellon, A., Chaves, A., Ariel R. Vicente. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties, *Biología y Tecnología de Postcosecha* 2010. Volumen 58, Número 2, p 98-103.

ARIAS, J., Jerez, A. Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica i microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá. Tesis pregrado. Pontificia Universidad JAVERIANA. 2008. Bogotá D.C. Colombia.

ARAÚJO de, V.; Rincón C.; Padilla, A. M. Caracterización del almidón de *Dioscorea bulbifera* L. (2004). *Revista Scielo* 54(2):241 - 245.

ACHIPIZ, S., Castillo, A., Mosquera, S., Hoyos, J., Navia, D. Efecto de recubrimiento a base de almidón sobre la maduración de la guayaba (*psidium guajava*). Popayán, Cauca. Universidad del Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Edición Especial No. 2* (92 – 100. 2013.

ACOSTA, H., Villada, H. y Ramirez, J. Envejecimiento de almidones termoplásticos agrios de yuca y nativos de papa por Microscopía de Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial Edición Especial 2006 No. 2 (92 - 100) Fuerza Atómica. Información Tecnológica, 17 (3), 71-78.

ADEGOKE, G. O., Odesola, B. A.. Storage of maize and cowpea and inhibition of microbial agents of biodeterioration using powder and essential oil of lemongrass (*Cymbopogon citratus*). Int. Biodeter. Biodegr. 1996. 1, 81-84.

ADETUNJI, C., Fawole, O., Arowora, K., Nwaubani, S., Ajayi, E., Oloke, J. Effects of edible coatings from aloe vera gel on quality and postharvest physiology of *Ananas comosus* (L.) fruit during ambient storage. *Global Journal Of Science Frontier Research Bio-Tech Y Genetics*, 12 (5). 2012. 39-43.

ADDINE, J., Piri, K. y Karami, O. Essential Oil Component in Flower of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). *American Journal of Biochemistry and Biotechnhology*. 2008. 4(3): 277.

AGUILAR MENDEZ, M. A. (JUNIO de 2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. *eliculas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate*. mexico, d.f., mexico: centro de investigacion en ciencia aplicada y tecnologia avanzada. instituto politecnico nacional

ANDERSON, R. *et al.* Gelatinization of corn grifts by roll and extrusion cooking. En: Cereal Science Today. 1969. vol. 14, 4-12,

ANKER, M. "Edible and biodegradable films and coatings for food packaging". Publication Sik Rapport, Londres. 1.996

ARGYROPOULOU, Catherine, Dimitra Daferera, Petros A. Tarantilis, Costas Fasseas and Moschos Polissiou. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages, *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007. ISSN 0305–1978, 35(12), 831-837.

ARTEMIZA, B., Zamora, J., Calleros, G. y Romero, R. Actividad Biológica in vitro de Extractos de *Lupinus spp.* Sobre Hongos Fitopatógenos Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. *Revista mexicana de fitopatología*. México. 2005.

AULAR, J. Consideraciones sobre el manejo postcosecha de frutas en Venezuela. In Salamanca, G., *Anales del seminario horotofruticola colombiano y I congreso iberoamericano sobre sistemas de procesado*. 2006. Ibague-Tolima: 59-62.

AVENA- Bustillos, R. J., Krochta, J.M., Salveit, M.E., Rojas-Villegas, R.J., and Saucedo-Perez, J.A. Optimization of edible coating formulations on zucchini to reduce water loss. En: *Journal Food Engineering*. 1994. 21, 197-214.



AYALA-Zavala, J. F., Gonzales, G. A., y del Toro, L. Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. *Journal of Food Science*. 2009. 74(7): R84-R91.

BALDWIN, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O., Hagenmaier, R.D. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. En: *Postharvest Biology Technology*. 1996. Vol.9(2), pp.151-163.

BARCO, P., Burbano, A, Mosquera, S. Villada, H., Navia, D. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. Ingeniera Agroindustrial, Universidad del Cauca, Popayán, Colombia. *Revista Lasallista de Investigación - Vol. 8 No. 2*. 2011.

BARRERA L, García L. Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). *Revista Científica UDO Agrícola*. 2008. 8, 33-41.

BARTZ, J. A., Hyun-Gyun , Y., Mahovic, M. J., Warren, B. R., Sreedharan, A., & Schneider, K. R. Internalization of *Salmonella enterica* by tomato fruit. En: *sciencedirect*. 2015. 141–150.

BEVERLYA, R. L., Janes, M.E., Prinyawiwatkula, W., and No, H. K. Edible chitosan films on ready-to-eat roast beef for the control of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*. 2008. 25:534–537.

- BLANCARD, D. Enfermedades del Tomate. España: Mundi Prensa. 2011.
- BLANCO TIRADO, E. E. Stashenko, M. Y. Combariza and J. R. Martinez. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, ISSN 0021-9673, 697(1-2), 501-513 (1995). Referenciado en 69, 70, 73
- BOURTOOM, T. Edible protein films: properties enhancement. *International Food Research Journal*, 2009. No. 16 Pág. 1-9.
- BRAVIN, B., Peressini, D., and Sensidoni, A. Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *EN: Journal of Food Engineering*. 2006. 76, 280-290.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2004. 94, 223-253.
- CACCIONI RL, Guizzardi M, Biondi DM, Renda A, Giuseppe R. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *Int J Food Microbiol*. 1998; 43. 73-9.
- CAGRI, A., Ustunol, Z., and Ryser, E. Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*. 2004. 67:833–848.

CAMEJO, C., Ferrer, A., Ferrer, B., Peña, J., Cedeño, M. Extracción y caracterización de pectina en limones injertados de la región Zuliana. Maracaibo, Venezuela. Universidad de Zulia. Rev. Fac. Agron. (LUZ).13: 641-645. 1996.

CAMPOLO, O., Valeria, F., Malacrino, A., Laudani, F., Carpinteri, G., Fabroni S., Rapisarda, P., Palmer, V. Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhyzopertha dominica*(Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population. Dipartimento di AGRARIA, University of Reggio Calabria, Reggio Calabria, Italy. Volume 61, November 2014, Pages 361-369.

CARMEN, C., y Loba, A. Estudio de viabilidad para crear una unidad de producción y comercialización de tomate bajo invernadero con fertirrigación en el municipio de palmira, valle del cauca (tesis de especialización). Corporación Universitaria Minuto de Dios. 2010. Santiago de Cali, Colombia.

CEBALLOS, H. y De La Cruz, G. Taxonomía y morfología de la yuca. Proyecto de mejoramiento de yuca. Palmira (Valle): Universidad Nacional de Colombia, 2001, 16-32.

CERÓN I, Cardona C. Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cascara de naranja. Ingeniería y Ciencia, ISSN 17949165. 2010. Vol 7, número 13, 65 – 86.

CHILLO, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L., & Del Nobile, M. A. (2008). Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. Journal of Food Engineering, 88(2), 159–168. doi:10.1016/j.jfoodeng.2008.02.002

CHIUMARELLI, M., Ferrari, C., Sarantópoulos C., y Hubinger M. Fresh Cut ‘Tommy Atkins’ Mango Pre-treated with Citric Acid and Coated with Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Starch or Sodium Alginate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2011. 12, (3); 381– 387.

CHIUMARELLI, M., y Hubinger M. Stability, Solubility, Mechanical and Barrier Properties of Cassava Starch – Carnauba Wax Edible Coatings to Preserve Fresh-cut Apples. *Food Hydrocolloids*. 2012. 28, (1); 59–67.

CONNER, D. E. Naturally occurring compounds. In P. Davidson & A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in foods*, New York: Marcel Dekker, Inc. 1993. 441–468.

CORTÉS, F., Fernández, A., Mosquera, S., Velasco, R. Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca. Popayán, Colombia. Universidad del Cauca. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* Vol. 12 No. 1 (88-97). 2014.

COSECHA y Manejo postcosecha [En Línea] <<http://www.fao.org/3/a-a1374s/a1374s07.pdf>> [Consulta 6-03-2016].

CUATIN, L., Lòpez, D. evaluación de un recubrimiento comestible a base d eproteinas de suero y cera de abeja sobre la calidad fisicoquímica y organoléptica de uchuva (*Physalis peruviana L.*). Pasto, Nariño. Universidad de Nariño. 2015.

CRUZ, R., Martínez Y., López, A. Biopolímeros y su integración con polímeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y ambiental. Universidad de las Américas Puebla. San Andrés, Cholula, Puebla. México. 2013.

DAFERERA, D., Ziogas, B., and Polissiou, M. GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000. 48:2576-2581.

DANE. Boletín mensual insumos y factores asociados a la producción agropecuaria. Diciembre 2014. Vol 30.

DANG, K.; Singh, Z.; Swinny, E. Edible coatings influence fruit ripening, quality and aroma biosynthesis in mango fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008. 56(4), 1361-1370.

DÍAZ J A. Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto Alexander Von Humboldt-Biocomercio Sostenible. 2002. Bogotá

Di Santo, C., Pagano, E y Sozzi. G. Differential expression of  $\alpha$ -l-arabinofuranosidase and  $\alpha$ -larabinofuranosidase/ $\beta$ -d-xylosidase genes during peach growth and ripening. *Plant Physiol. Biochem* 2009. 47, 562-569. Doi: 10.1016/j.plaphy.2009.02.007

DUARTE, Yanisia et al. In vitro effect of essential oils on *Alternaria solani* Sorauer. Rev. Protección Veg. [online]. 2013, vol.28, n.1 [citado 2017-05-04], pp. 54-59 . Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522013000100007&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100007&lng=es&nrm=iso). ISSN 1010-2752.

EISSA-HESHAM A. Effect of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut mushroom. J Food Quality. 2007; 30:623- 45.

ESCOBAR, D., SALA, A., SILVERA, C., HARSIPÉ, R.. Películas biodegradables y comestibles desarrolladas en base a aislado de proteínas de suero lácteo : estudio de dos métodos de elaboración y del uso de sorbato de potasio como conservador.

INNOTEC, Norteamérica, 0, may. 2011. Disponible en: <http://ojs.latu.org.uy/index.php/INNOTEC/article/view/51/42>. Fecha de acceso: 16 nov. 2016.

ESPITIA, P. J. P., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. D. J., Soares, N. D. F. F., & McHugh, T. Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties-a review. Food Hydrocolloids, 35, 287– 296. 2014.

FAGUNDES, C., Paloub, L., Monteiro, A., Perez-Gago, M. Effect of antifungal hydroxypropyl methycellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. Postharvest Biology and Technology. No. 92. Pag. 1-8. 2014.

FAO, O. de las N. U. para la A. y la A. (1999). Análisis físicoquímico del almidón (Vol. 140).

FERNÁNDEZ, Ángela Fernández. Efecto de la incorporación de lactoferrina y/o lisozima sobre las propiedades de películas comestibles de almidón de patata. Universidad Politecnica de Valencia 2015

FEYGENBERG, O.; Hershkovitz, V.; Ben-arie, R.; Jacob, S.; Pesis, E.; Nikitenko, T. Postharvest use of organic coating for maintaining bioorganic avocado and mango quality. *Acta Horticulturae*. 2005. 682(3), 507-512.

FERHAT, M., Meklati, B., Smadja, J., and Chemat, F., An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel, *Journal of CHROMATOGRAPHY A*, ISSN 0021-9673, 11(12), 121- 126 (2006). Referenciado en 67, 69, 81

FILTENBORG, O, J. C. Frisvad, U. Thrane. Moulds in food spoilage. *Internacional Journal of Food Microbiology* 33:85-102.1996

FOWLER, Joseph F. Occupational dermatology, *Current Problems in Dermatology*, ISSN 1040-0486. 1998. 10(6), 211-244.

FRENCH, R.C. The bio-regulatory action of flavor compounds on fungal spores and other propagules. *Ann. Rev. Phytopatol.*1985. 23:173.

GALIETTA, G., Harte, F., Molinari D., Capdevielle, R., Diano, W. Aumento de la vida útil postcosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche. Unidad de Tecnología de Alimentos. Facultad de Agronomía – Universidad de la República Oriental del Uruguay. Rev. Iber. Tecnología Postcosecha Vol. 6(2):117-123. 2004.

GARCÍA, M., Martino, M., and Zaritzky, N. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. Journal of Food Science. 2000. 65, 941-947.

GARNICA, A. M., Romero, A. R., Cerón, M. D. S., & Prieto Contreras, L. Características funcionales de almidones nativos extraídos de clones promisorios de papa (*Solanum tuberosum* l. subespecie andigena ) para la industria de alimentos. *Revista Alimentos Hoy*, 19(21), 3–15. 2010. Disponible en: <http://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/1/10>

GÓMEZ, E. Recubrimientos Para Frutas y Hortalizas.” In V Curso Internacional Tecnología Postcosecha y Procesamiento Mínimo, 2011. 32, Cartagena, España.

GONTARD, N.; Guilbert, S. and Cuq, J. L. (1992). Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. Journal of Food Science, 57, 190-195, 199.

GÓMEZ, K. actividad antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja (*Citrus aurantium* l.) frente al hongo *Fusarium semitectum*. Universidad Nacional De San Cristóbal De



Huamanga Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia Escuela de Formación Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Ayauchó, Perú. 2014.

GOUNGA, M., Xu, S.-Y. y Wang, Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation. *Journal of Food Engineering*. Vol. 83. Pag. 521-530. 2007.

GUAN, J.; Hanna, A. M. Extruding foams from corn starch acetate and native corn starch. *Biomacromolecules*. 2004. vol. 5, p. 2329-2339.

GUÉDEZ, C., Cañizalez, L., Avendaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivares, R., Méndez, Y., Sánchez L. Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya* L.). 2014. *Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología* vol.34 no.2 Caracas.

GUÍZAR, A., Montañez, J. y García, L. Parcial caracterización de nuevos almidones obtenidos del tubérculo de camote del cerro (*Dioscorea* spp). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 9 (1), 2008. 81-88.

GUPTA, A., Sharma, S., Naik, S. N. Biopesticidal value of selected essential oils against pathogenic fungus, termites, and nematodes. *Int. Biodeter. Biodegr.* Article in press. 2001. 1-5.

GUTIERREZ, G., Barry-Ryan, C., y Bourke, R. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*. 2008a. 124:91-97.

HANCCO, J.; Blas, R.; Quispe, M.; Ugás, R. Pampacorral – Catálogo de sus papas nativas. 2008. Universidad Nacional Agraria La Molina y Asociación Nacional de Productores Ecológicos. 100 pp.

HAN, J. H. Antimicrobial food packaging. En: *Novel Food Packaging Techniques*. Reino Unido. Editor. R. Ahvenainen. Woodhead Publishing Ltd. 2003. pp 50-70

HERNÁNDEZ J,. Caracterización fisicoquímica y microbiológica del tomate y evaluación de la efectividad de tratamientos de pre-ensado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente. Universidad de Córdoba. 2013. Córdoba, Venezuela.

HERNÁNDEZ, F. R. H., Palou, G. E., López, M. A. Utilización de películas comestibles y ciclodextrinas para la liberación controlada de aceites esenciales como agentes antimicrobianos en vegetales. Universidad de las Américas Puebla. 2013. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810, México.

HERNÁNDEZ P., Burbano A., Mosquera S. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. *REVISTA LASALLISTA DE INVESTIGACIÓN*. 2011. Vol. 8 No. 2

HOA, T.; Ducamp, M. N. Effects of different coatings on biochemical changes of “cat Hoa loc” mangoes in storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2008. 48(1):150-152.

HOOVER, R. The Impact of heat-moisture treatment on molecular structures and properties of starches isolated from different botanical sources. 2010. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 50: 835-847.

JARAMILLO, J., Rodríguez, V. P., Guzmán, M., Zapata, M., y Rengifo, T. Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas en la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas. Recuperado de: <http://www.fao.org/docrep/010/a1374s/a1374s00.htm>. 2007.

KALEMBA, D., & Kunicka, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Ingentaconnect*. 2003. 813-829

KAPLAN, D. L., Mayer, J. M., Ball, D., McCassie, J., Allen, A. L., & In, S. P. (1993). Biodegradable polymers and packaging. In E. Thomas (Ed.), (pp. 1–42). Lancaster, PA: Technomic Publishing Company

KAUR, L.; Singh, J.; McCarthy, O.; Singh, H. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches. 2007a. *Journal of Food Engineering* 82: 383-394.

KESTER, J.J., Fennema, O.R. Edible films and coatings: A review. En: *Food Technology*. 1986. Vol 40(12). pp.47-59.

KNUTZON, C. A.; Grove, M. J. Rapid method for estimation of amylose in maize starches. *Cereal Chemistry*, 1994. v. 71, n. 5, p. 469.

LAWLESS, Julia. *The Illustrated Encyclopedia Of Essential Oils*, ISBN 1-85-230- 721-8. Element Books, London, 1995.

Liu, Q.; Tarn, R.; Lynch, D.; Skjodt, N. Physicochemical properties of dry matter and starch from potatoes grown in Canada. 2007. *Food Chemistry* 105: 897-907.

LÓPEZ-Enriquez, D. F., Cerón-Cárdenas, A., Osorio-Mora, O., Checa-Coralb, O. E., & Villada-Castillo, H. S. Evaluación de propiedades mecánicas de películas biodegradables a base de almidón de papa, almidón de yuca y proteína de suero de leche. *Investigación y desarrollo en ciencia y tecnología de alimentos*. Vol. 2 (2017) 582-587

LÓPEZ-Malo, A. Efecto de diversos factores sobre la capacidad antimicrobiana de vainilla. Tesis de maestría, Universidad de las Américas. 1995, Puebla, México.

LÓPEZ-Malo, A. Palou, E., Alzamora, S. Naturally occurring compounds-plant source, en: *Antimicrobials in Food*. Tercera edición. 2005. EE.UU. Editores. P. Michael Dvaidson, John N. Sofos y A. L. Branen. Editorial Taylor y Fracos Group.

LÓPEZ, O. V., García, M. A., & Zaritzky, N. E. (2008). Film forming capacity of chemically modified corn starches. *Carbohydrate Polymers*, 73(4), 573-581. doi:10.1016/j.carbpol.2007.12.023

LUQMAN, S., Dwivedi, G., Darokar, M., Kaira, A. y Khanuja, S. Potential of Rosemary oil to be used in drug-resistant infections. *Alternative therapies*. 2007. 13 (5): 54-59.

MAHOVIC, M., Sargent, S., Bartz J., Lon E. Identificación y control postcosecha de las enfermedades del tomate en la florida. 2002. Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas, Universidad de Florida.

MANUAL TÉCNICO: Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) En la Producción de Tomate Bajo Condiciones Protegidas”. Colombia, convenio FAO-mana – Corpoica del centro de investigación “La Selva”, proyecto TCP/COL/3101. 2007. p. 56

MAREI G, Rasoul MA, Abdelgaleil SA. Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pestic Biochem Physiol*. 2012; 103:56-61.

MARINA M., Comminuted de naranja variedad Valencia base para bebidas refrescantes, Manizales, Universidad Nacional de Colombia, (2001). Referenciado en 69.

MARTIN-BELLOSO, O., Soliva-Fortuny, R., and Baldwin, A. Conservación mediante recubrimientos comestibles. In: *Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados*. González-Aguilar, G; Gardea, A.; Cuamea-Navarro, F. Editores. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo A.C. 2005. Hermosillo, Sonora, México p. 558.

MARTÍNEZ, P., Málaga, A., Betalleluz, I., Ibarz, A., & Velezmoro, C. Functional characterization on native starch of Peruvian native potatoes (*Solanum phureja*). *Scientia Agropecuaria*, 6(4), 291–301. 2015

MEDINA, J y Salas J. 2007. Caracterización morfológica del granulo de almidón nativo: Apariencia, forma, tamaño y su distribución. Revista de ingeniería. Universidad de los Andes. Pág. 56 – 62.

MENDEZ, M., Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. 2005. Instituto Politécnico Nacional. México D.F.

MEHYAR, Al-qadiri, Swanson, B. edible coatings and retention of potassium sorbate on apples, tomatoes and cucumbers to improve antifungal activity during refrigerated storage. *Journal of food processing and preservation*, 38, 1745-4549. 2012.

MIRAMONT, S., Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. UTN.BA escuela de posgrado. Ciudad autónoma de Buenos Aires. 2012.

MIRANDA. P., Cárdenas. G., López. D., y Lara. A. Comportamiento de películas de quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate. *Revista de la sociedad química de México*. Vol. 47. No. 4 Pág. 331-336. 2003.

MONTES, E., Salcedo, J., Zapata, J., Carmona, J. y Paternina, S. Evaluación de las propiedades modificadas por vía enzimática del almidón de ñame (d. trifida) usando amilasa (terminal® 120 I, tipo I). *Revista Vitae*, 15 (1), 2008, p 51-60.

MONTOYA, G. Efecto de tensiones de humedad del suelo en tomate (*Lycopersicum esculentum* M.), variedad tequila, bajo condiciones de riego por goteo, con y sin acolchado plástico en suelos arcillosos compactados en el valle de yaqui. 2000.

NAVARRO-TARAZAGA. M. A. Massa. M. Pérez- Gago. Effect of beeswax content on hydroxypropyl methylcellulose-based edible film properties and postharvest quality of coated plums (Cv. Angeleno). (2011). *Food Sci Technol Res*, 44(10), 2328 – 2334.

NUSSINOVITCH, A. (2012). 13 biopolymer films and composite coatings. In *Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: Properties, processing and applications*, Ebnesajjad, S. (Ed.), MA, USA, (pp. 295–327).

OGDEN, I., Rosa, E., Wyss, G., and Brandt, K. Seguridad y contaminación. Información destinada al consumidor para el control, de la calidad y la seguridad en las cadenas de producción orgánica. Research Institute of Organic Agriculture FiBL and University of Newcastle. 2005. Australia. 4 p.

OSÈS, J., Fernandez, I., Mendoza, M., y Matè, J. Stability of the mechanical properties of edible films base don whey protein isolate during storage at different relative humidity. *Food Hydrocolloids*. Vol. 23. Pág. 125-131. 2009.

OTÍN, J., Estudio de la difusión del carvacrol y el eugenol desde películas de proteína de suero lácteo a diferentes simulantes alimentarios. Trabajo Fin De master En Tecnologías Y Calidad En Las Industrias Agroalimentarias. Pamplona. Universidad Pública de Navarra. Departamento de tecnología de alimentos. Pág. 62. 2011.

PASTOR, C.; Sánchez, L.; Marcilla, A.; Chiralt, A.; Cháfer, M.; González, CH. Quality and safety of table grapes coated with hydroxypropyl-methylcellulose edible coatings containing própolis extract. *Postharvest Biology and Technology*. 2001. 60(1):64-70.

PASTOR, C., Vargas, M., González-Martínez, C. Recubrimientos comestibles: Aplicación a frutas y hortalizas. En: *Alimentación, Equipos y Tecnología*. 2005. Vol.197, pp.130-135.

PARK MJ, Gwaka KS, Yang KW, Kim EB, Jeung JW, Chang IG *et al.* Effect of citral, eugenol, nerolidol and  $\alpha$ -terpineol on the ultrastructural changes of *Trichophyton mentagrophytes*. *Fitoterapia*. 2009; 80:290-6.

PARRA D. F., Tadini C.C., Ponce P., Lugão A.B. Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films . *Carbohydrate Polymers*. 2004. 58 , 475 – 481, 13. Cho S., Rhee C., Mechanical properties and water vapor perm.

PARZANESE, Magali. "Películas Y Recubrimientos Comestibles." *Tecnologías Para La Industria Alimentaria* 7 (n.d.): 1-11. Print.



PÉREZ M., and Krochta, J. Drying temperature effect on water vapour permeability and mechanical properties of whey protein-lipid emulsion films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002. 49:2308-2312.

PASCHOALICK, T. M., Garcia, F. T., Sobral, P. D. A., & Habitante, A. M. Q. B. (2003). Characterization of some functional properties of edible films based on muscle proteins of Nile tilapia. *Food Hydrocolloids*, 17(4), 419–427. doi:10.1016/S0268–005X(03)00031–6

PLOTTO, A., Roberts, R., and Roberts, D. Evaluation of plant essential oils as natural Postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Horticulturae*. 2003. 628:737–745.

QUINTERO, C., Pascual, F., Muñoz, H. Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Universidad del Tolima. *Revista Tumbaga*, 5,93-118. 2010.

RAMOS, M.L., Bautista, S., Barrera, L.L., Bosquez, E., Alía, I. y Estrada, M. Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2010. 28: 44-57.

RAMOS, O., Reinas, I., Silva, S., Fernandes, J., Cerqueira, M., Pereira, R., Vicente, A., Pocas, F., Pintado, M., Malcata, X. effect of whey protein purity and glicerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*. Vol. 30. Pag. 110-112. 2013.

RIBEIRO, C., Vicente A. A., Teixeira J. A., Miranda C. Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology* (44) 63 – 70. 2007.

RODRÍGUEZ E., Reología de suspensiones preparadas con harina precocida de yuca. *Ingeniería & Desarrollo*, Universidad del Norte. 2006. Número 19. ISSN: 0122-3461

RODRÍGUEZ, S., Albertengo, L., Debbaudt, A., y Argullo, E. Uso de quitosano en alimentos In: *Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados*. González-Aguilar, G; Gardea, A.; Cuamea-Navarro, F. Editores. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo A.C. 2005. Hermosillo, Sonora, México p. 558.

RODRÍGUEZ, M., Alcaráz Meléndez, L., & Real Cosío, S. M. Procedimiento para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. 2012. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, Baja California Sur, México. 38 p.

RODRIGUEZ, M., Osés, J., Ziani, K., Maté, J. 2006. Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food Research International*. Vol. 39. Pág. 840 – 846

SAAVEDRA, N., Algecira, N., Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. Universidad Nacional de Colombia. PP: 171-182. 2010.

SABANDO, V.M.C. Aplicación de los aceites esenciales *Mentha spicata* (Hierbabuena) Y *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) en la inhibición de hongos en dos variedades de tomate. Universidad técnica estatal de Quevedo. 2015. Proyecto de tesis.

SANCHEZ, Yaíma et al. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *piper auritum* kunth (caisimón de anís). Rev. Protección Veg. [online]. 2009, vol.24, n.1 [citado 2016-09-26], pp. 39-46. Disponible en: <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S101027522009000100006&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S101027522009000100006&lng=es&nrm=iso)>. ISSN 2224-4697.

SÁNCHEZ, D., Contreras, J., Nevárez, G., Aguilar, C. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. Universidad Autónoma de Coahuila. Coahuila, México. 2014.

SÁNCHEZ Aldana, J.C. Contreras-Esquivel, G.V. Nevárez-Moorillón & C.N. Aguilar Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano, CyTA - Journal of Food, 13:1, 17-25, DOI:

10.1080/19476337.2014.904929. (2015)

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>

SANFORD K. A., Johnston, E. M., Porter, J. L., Lowe, J. y Oxby, D. M. Dietitians attitudes, perception, and usage patterns for fresh-cut fruit and vegetables. Canadian Journal of Dietetic Practice and Research. 2008. 69: 7-13.

SANTANDER, G.; Aquino J., A. S. control alternativo de *Alternaria solani* con extractos vegetales, in vitro. *Investigación Agraria*, [S.l.], v. 11, n. 1, p. 48-53, ago. 2013. ISSN 2305-0683. Disponible en: <<http://www.agr.una.py/revista/index.php/ria/article/view/40>>.

SHARMA, N., Tripathi, A. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Mycology and Plant Pathology Division, Department of Botany, University of Lucknow, Lucknow 226007, India. Volume 163, Issue 3, 1 May 2008, Pages 337-344.*

SHELZ Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*. 2006; 77:279-85.

ŠIMKOVA, D.; Lachman, J.; Hamouz, K.; Vokal, B. Effect of cultivar, location and year on total starch, amylose, phosphorus content and starch grain size of high starch potato cultivars for food and industrial processing. *2013 Food Chemistry* 141: 3872-3880.

SOLIVIA, R., y Martin, O. Envasado de alimentos mediante recubrimientos comestibles. *Alimentaria*. 2001.

STAGNER. J., Dias A., Nayaran. R. Application and performance of maleated thermoplastic starch-poly (butylene adipate-terephthalate) blends for films. *Journal of applied polymer science*, 126. E135-E142. 2012.

TAJKARIMI, M. M., Ibrahim, S. A. y Cliver, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*.2010. 21: 1199-1218.

TANGARIFE, V. infecciones por levaduras y hongos levaduriformes. Escuela de microbiología, Universidad Nacional. 2011. Medellín, Colombia.

TAPIA-BLÁCIDO, D; Sobal, P. J. and Menegalli, F. C. (2005). Development and characterization of biofilms base don amaranth flour (*Amaraanthus caudatus*). *Journal of Food Engineering*, 67, 215-223

THARANATHAN, R. Biodegradables films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science ands Tecnhonology*. 14, 71-78. 2003.

TOSNE, Z., Mosquera, S., y Villada, H. Efecto de recubrimiento de almidón de yuca y cera de abejas sobre el chontaduro. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol. 12. No. 2 pag. 30-39. 2014.

TRIGOS, Á. Ramírez, K. y Salinas, A. Presencia de hongos fitopatógenos en frutas y hortalizas y su relación en la seguridad alimentaria. *Revista mexicana de micología*, 28(spe), 125-129. 2008. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018731802008000300015&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018731802008000300015&lng=es&tlng=es)

VALLE-GUADARRAMA, S., Lopez, O., Reyes, M., Castillo, J., Santos, A. Recubrimiento comestible basado en goma aragiba y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmosfera modificada. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. Vol. 14. Pág. 235-241. 2008.

VALVERDE, Andrea. Determinación de las necesidades hídricas del cultivo de tomate de mesa (*Lycopersicon esculentum*, v. sheila), mediante el lisímetro volumétrico, en el sector el porvenir perteneciente al sistema de riego campanamalacatos. Universidad Nacional de Loja. Facultad agropecuaria y de recursos naturales renovables. Loja. 2017.

VARGAS, M., Albors, A., Chiralt, A., and González-Martínez, C. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*. 2006. 41:164-171.

VELÁZQUEZ Núñez, M. J. Acción antifúngica del aceite esencial de cáscara de naranja, aplicado por adición directa o por generación de vapores. Tesis Licenciatura. Ingeniería de Alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Escuela de Ingeniería, Universidad de las Américas Puebla. 2010. Disponible en: [http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lia/velazquez\\_n\\_mj/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/velazquez_n_mj/)

VELÁZQUEZ, M., Ávila, R., Palou, E., López, A. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 14 Sur y Av. San Claudio, Ciudad Universitaria, Puebla, Pue. 72420, México. [Volume 31, Issue 1](#), May 2013, Pages 1-4.

VELICKOVA. E. Winkelhausen. E. Kuzmanova. S. Alves & Moldão-Martins. M. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv camarosa) under commercial storage conditions. (2013). *Food Sci Technol Res*, 52(2), 80 – 92. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.004.

VIUDA, M., Ruiz, Y., Fernández, J., Pérez, J. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Universidad Miguel Hernández), Ctra Beniel, km 3.2, E-03312 Orihuela (Alicante), Spain. Food control, [volume 19, Issue 12](#), December 2008, Pages 1130-1138.

YANG, L. and Paulson, A. T. (2000). Mechanical and water vapour barrier properties of edible gellan films. Food Research International, 33, 563-570.

Z Aidul, I.; Yamauchi, H.; Matsuura-Endo, C.; Suzuki, T.; Noda, T. Correlation between the compositional and pasting properties of various potato starches. 2007. Food Chemistry 105: 164-172

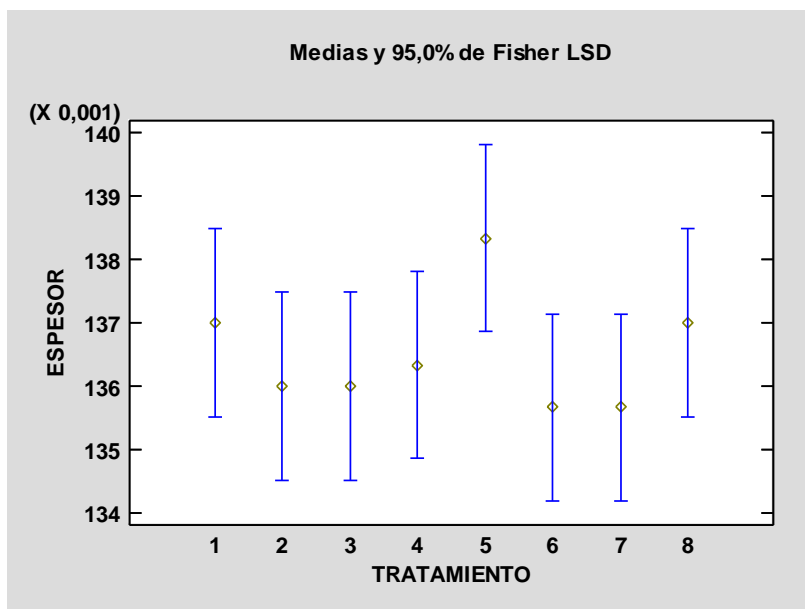
## **ANEXOS**



**ANEXO 1. RESUMEN ESTADÍSTICO. ESPESOR (MM) DE PELÍCULAS A BASE DE  
ALMIDÓN DE PAPA.**

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	3	0,137	0,002	1,93%
2	3	0,136	0,001	1,27%
3	3	0,136	0,001	0,73%
4	3	0,136	0,000	0,42%
5	3	0,138	0,001	1,10%
6	3	0,135	0,002	1,85%
7	3	0,135	0,001	1,12%
8	3	0,137	0,001	0,72%
Total	24	0,136	0,001	1,22%
Razón -F				0,85
Valor -P				0,56

Gráfico de medias. Espesor por Tratamientos



**ANEXO 2. RESUMEN ESTADÍSTICO. PORCENTAJE DE HUMEDAD PELÍCULAS A  
BASE DE ALMIDÓN DE PAPA.**

TRATAMIENTO	Recuento	Promedio	Desviación Estándar	Coefficiente de Variación
1	3	13,4	0,28	2,14%
2	3	13,5	0,11	0,85%
3	3	13,5	0,16	1,22%
4	3	13,4	0,28	2,14%
5	3	13,5	0,11	0,85%
6	3	13,5	0,16	1,22%
7	3	13,5	0,11	0,85%
8	3	13,5	0,16	1,22%
Total	24	13,5	0,16	1,24%
Razón -F				0,28
Valor -P				0,95

Gráfico de medias. Humedad por Tratamientos

