

**DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE CON ACTIVIDAD
ANTIFUNGICA FORMULADO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA AGROINDUSTRIA
DE LOS CÍTRICOS**

MANUELA KATHERINE CORAL RUIZ

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO**

2017

**DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE CON ACTIVIDAD
ANTIFUNGICA FORMULADO A PARTIR DE RESIDUOS DE LA AGROINDUSTRIA
DE LOS CÍTRICOS**

MANUELA KATHERINE CORAL RUIZ

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

Asesor:

ANDRÉS FELIPE CERÓN CÁRDENAS

Ms.C Innovación Alimentaria y Nutrición

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
SAN JUAN DE PASTO**

2017

NOTA DE RESPONSABILIDAD

Las ideas y conclusiones aportadas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva del autor.

Artículo 1^{ro} del Acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1996 emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Ph.D. Oswaldo Osorio Mora

Jurado

Ph.D. William Albarracín Hernandez

Jurado

San Juan de Pasto, Marzo del 2017.

RESUMEN

Antecedentes. En la actualidad las frutas usadas en la industria de jugos y pulpas, generan una alta cantidad de residuos (cascaras) cuyo valor como materias primas no es muy conocido; siendo esta industria una de las que mayor impacto ambiental genera. Las estrategias de aprovechamiento de estos residuos se concentran simplemente en la elaboración de abonos orgánicos, actividad que limita la generación de un mayor valor agregado, a pesar de que varias investigaciones resaltan que los residuos procedentes de frutas pueden ser utilizados, en la extracción de aceites esenciales, pectinas, flavonoides, azúcares solubles, fibra, ácidos orgánicos, proteínas y minerales, que se encuentran en diferentes cantidades dependiendo del tejido u órgano de la fruta. **Objetivo.** Desarrollar un recubrimiento comestible formulado a partir de residuos generados durante el proceso agroindustrial de los cítricos con actividad anti fúngica. **Métodos.** Se utilizaron residuos agroindustriales de naranja dulce (*Citrus sinensis* L). Para la extracción de la pectina, se utilizó un diseño de experimentos factorial completo (2^4) de cuatro factores a dos niveles, para definir el efecto del tiempo, la temperatura, pH y relación material vegetal: solvente, sobre el rendimiento de la extracción.

La extracción de aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis* L) se realizó por arrastre con vapor. El aceite obtenido fue caracterizado mediante cromatografía de gases con detector FID (GC-FID). Para la formulación del recubrimiento se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial ($2 \times 2 \times 2$), mediante el cual se estableció la relación cuantitativa óptima de los componentes básicos de la formulación. La actividad anti fúngica se evaluó en fresa mediante una herida para inocular unos de los patógenos propios de la fresa.

Resultados. Se determinó influencia significativa de la temperatura, relación material vegetal: solvente y tiempo (p-valor <0.05) sobre el rendimiento (%); las condiciones más adecuadas de extracción fueron: temperatura ($70\text{ }^{\circ}\text{C}$), pH (1.0), tiempo (2 horas), relación muestra: solvente

(1:20); obteniendo un rendimiento del 15.03 % en la extracción de pectina. Respecto del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) se encontró un rendimiento del 0.227 %, la composición del aceite arrojo que el principal compuesto presente fue el L-limoneno con un porcentaje relativo de 61.41 %. Se determinó que una formulación al 7.5 % de pectina, 3.75 % de sorbitol, 0.75 % de aceite esencial y 2.0 % cera de abeja; presenta buena formación de película con adherencia en vidrio. La formulación obtenida con incorporación de aceite esencial presentó actividad anti fúngica frente a *Rhizoctonia sp.* Fresas sin recubrimiento presentaron crecimiento del hongo *Rhizoctonia sp.*, al cabo del día 4 de evaluación, mientras que fresas con recubrimiento el crecimiento del hongo se evidenció en el día 8 de evaluación. **Conclusión.** Se evidenció que la formulación obtenida con incorporación de aceite esencial presentó actividad anti fúngica frente a *Rhizoctonia sp.* De esta forma se puede potencializar el uso de recubrimientos comestibles en el manejo poscosecha de fresas, que permitan reducir las pérdidas poscosecha y los costos de conservación.

Palabras clave: residuos, naranja, pectina, aceite esencial, anti-fúngica.

ABSTRACT

Background: Nowadays, the fruit used in the industry of juices and pulps generate a great amount of wastes (peelings) whose value as raw materials is not appreciated and this industry is considered one of the greatest generators of environmental impact. The strategies for the use of these wastes focus simply on the production of organic fertilizers, an activity that limits the generation of a higher added value, despite the fact that several investigations emphasize that fruit wastes can be used in the extraction of essential oils, pectins, flavonoids, soluble sugars, fiber, organic acids, proteins and minerals, found in different amounts depending on the tissue or organ of the fruit it self. **Objective:** Develop an edible cover made out of byproducts obtained during the agroindustrial process of citrus fruits through antifungal activity. **Methods:** Sweet orange agroindustrial wastes (*Citrus sinensis*) were used. For the extraction of pectin, a complete factorial experiment design (2^4) of four factors at two levels was used to determine the effect of time, temperature, pH and vegetable material: solvent on the extraction performance. The extraction of essential oil of orange peel (*Citrus sinensis*) was done by steam trailing. The oil obtained was characterized by means of gas chromatography with detector FID (GC -FID). For the cover formulation, a random with arrangement factorial experimental design ($2 \times 2 \times 2$), was employed, through which the optimum quantitative relationship of the basic components of the formulation was established.

The antifungal activity was evaluated in strawberry by means of a wound to inoculate certain pathogens of it. **Findings:** A significant influence of temperature, plant material: solvent and time factors (p-value <0.05) was determined on the performance of the response variable (%). The most suitable extraction conditions were: temperature (70 °C), pH (1.0), time (2 hours), sample: solvent (1:10); obtaining a performance of 15.03 % in pectin extraction. Regarding the orange essential oil (*Citrus sinensis*) a performance of 0.227% was found, the oil

composition determined that the main compound was L-limonene with a percentage of 61.412%. It was determined that a 7.5% formulation of pectin, 3.75% sorbitol, 0.75% essential oil and 2.0% bee wax showed a good film formation with adherence in glass. The formulation gotten with the incorporation of essential oil had antifungal activity against *Rhizoctonia* sp. Strawberries with no cover showed growth of the fungus *Rhizoctonia* sp., After day 4 of evaluation, while the strawberries with cover, the growth of the fungus was evidenced at the day 8 of evaluation.

Conclusion: It was observed that the formulation obtained with the incorporation of essential oil presented antifungal activity against *Rhizoctonia* sp. Therefore, the use of an edible cover can be fostered in post-harvest management of strawberries, which can reduce postharvest loss and conservation costs.

Key words: wastes, orange, pectin, essential oil, antifungal

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	15
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN EN TÉRMINOS DE NECESIDADES Y PERTINENCIA.....	17
1.1. Descripción de la situación.	17
1.2. Pregunta de investigación	18
2. ESTADO DEL ARTE DE LA INVESTIGACIÓN, DESARROLLO TECNOLÓGICO O INNOVACIÓN	19
2.1. Generalidades	19
2.1.1. Residuos agroindustriales	19
2.1.2. Residuos de cítricos.....	19
2.1.3. Residuos de naranja.....	20
2.1.4. Recubrimiento comestible.....	20
2.1.5. Biopolímeros para recubrimientos comestibles.....	21
2.1.6. Fresa (<i>Fragaria</i> spp.).....	23
2.1.7. Alteraciones patológicas en poscosecha de fresa.	23
2.2. Fundamentos Teóricos.	24
2.2.1. Obtención de recubrimientos.....	24
2.2.2. Efecto de los recubrimientos.	26
2.2.3. Efectos de los aceites esenciales sobre hongos.	28
2.3. Estado de Desarrollo e Innovación.	31
2.3.1. Obtención de pectinas.....	31

2.3.2. Recubrimientos con propiedades antimicrobianas	33
3. OBJETIVOS.....	36
3.1. Objetivo general	36
3.2. Objetivos específicos	36
4. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	37
4.1. Obtención de pectina.....	37
4.1.1. Localización.	37
4.1.2. Material Experimental.....	37
4.1.3. Manejo y acondicionamiento de la materia prima.	38
4.1.4. Extracción de pectina.	39
4.1.5. Diseño experimental.....	41
4.2. Obtención de aceite esencial.	43
4.2.1. Extracción aceite esencial de cascara de naranja (<i>Citrus sinensis</i> L).....	43
4.3. Caracterización de la pectina cítrica.	44
4.3.1. Determinación del rendimiento..	45
4.3.2. Determinación del peso equivalente.....	45
4.3.3. Determinación del contenido de metoxilo.....	45
4.3.4. Determinación del grado de esterificación.....	46
4.4. Caracterización aceite esencial cítrica.	47
4.4.1. Picnometría del aceite esencial.....	47
4.4.2. Análisis de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases.....	48
4.5. Obtención de una formulación de recubrimiento comestible a partir de pectina y aceites esenciales.....	48
4.5.1. Selección de materiales para un recubrimiento comestible.....	48

4.5.2. Diseño experimental ensayos de formulación.....	49
4.5.3. Preparación de formulaciones.	50
4.5.4. Evaluación de la compatibilidad de componentes.....	52
4.6. Actividad antifúngica in vivo de recubrimientos.....	52
4.6.1. Aislamiento y siembra del patógeno.	54
4.6.2. Inoculación de frutos con y sin recubrimiento.	54
4.7 Evaluación sensorial.....	56
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	57
5.1. Efecto de las condiciones de extracción de pectina.	57
5.2. Optimización de los factores del proceso.....	58
5.3. Caracterización pectina obtenida.	61
5.4. Caracterización aceite esencial (Citrus sinensis L.).....	62
5.4.1. Determinación rendimiento y densidad.....	62
5.4.2. Análisis de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases.....	63
5.5. Obtención de una formulación de recubrimiento comestible a partir de pectina y aceite esencial.....	64
5.6. Aplicación del recubrimiento comestible con actividad antifungica.	67
5.7. Actividad antifúngica in vivo de recubrimientos.....	67
5.8. Evaluaciones sensoriales.....	69
6. CONCLUSIONES.....	72
7. RECOMENDACIONES.....	74
BIBLIOGRAFIA.....	75
ANEXOS.....	83

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Aceites esenciales con efecto fungicida contra algunas especies de hongos poscosecha (Ramosa et al., 2010).....	29
Tabla 2. Inhibición del crecimiento micelial de hongos poscosecha mediante aceite esencial de naranja (Citrus sinensis L.) (Guedez et al., 2014).	30
Tabla 3. Ensayos de extracción de pectinas a diferentes condiciones experimentales.	33
Tabla 4. Identificación de factores, y niveles	41
Tabla 5. Matriz experimental.	42
Tabla 6. Componentes básicos de una formulación de recubrimiento comestible.(Alvarez, 2012).....	49
Tabla 7. Identificación de factores, y niveles	49
Tabla 8. Diseño experimental selección de formulación composite.	50
Tabla 9. Valores estimados a partir del modelo matemático.....	60
Tabla 10. Resultados de los parámetros de calidad de la pectina extraída.....	61
Tabla 11. Principales componentes identificados del aceite esencial de naranja (Citrus sinensis L.).....	64
Tabla 12. Formación de película composite.....	65

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Laboratorio de Investigación en Calidad y Conservación de Alimentos.....	37
Figura 2. Residuos agroindustriales procesamiento de cítricos.	38
Figura 3. Desinfección residuos de cítricos.....	38
Figura 4. Proceso de extracción de pectina.	40
Figura 5. Proceso de extracción aceite esencial arrastre con vapor.	44
Figura 6. Titulación grado de esterificación.....	44
Figura 7. Determinación de densidad por picnometría.	47
Figura 7. Pesado de las materias primas.....	51
Figura 9. Preparación de formulaciones.....	51
Figura 10. Formulaciones sobre cajas Petri.....	52
Figura 11. Aislamiento patógeno (<i>Rhizoctonia sp.</i>).....	53
Figura 12. Desinfección de fresa (<i>Fragaria spp.</i>).	55
Figura 12. Evaluación sensorial.	56
Figura 14. Estimación de los efectos principales que afectan el rendimiento.....	57
Figura 15. Superficie de Respuesta Estimada.	59
Figura 16. Características de las formulaciones del recubrimiento comestible con actividad Antifúngica.....	66
Figura 17. Fresa impregnada con recubrimiento con actividad antifúngica	67
Figura 18. Efectos de la aplicación invivo del recubrimiento sobre la fresa.....	69
Figura 19. Diagrama de media e intervalos al 95 % de la LSD de Fisher para las variables olor, color, sabor y aceptabilidad.	71

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Rendimiento en la extracción de pectina cítrica.....	84
Anexo 2. Cromatograma de aceite esencial de naranja (<i>Citrus sinensis</i> L.).....	85

INTRODUCCIÓN

Existen tecnologías para extender la vida útil en fresco de productos hortofrutícolas en poscosecha, para preservar del ataque de organismos patógenos y conservar la calidad general. Entre las tecnologías se destacan el uso de los recubrimientos comestibles, los cuales forman una barrera en la superficie del fruto que permite modular el intercambio de gases y vapor de agua.

Hoy en día, los recubrimientos comestibles se elaboran a partir de variedades de polisacáridos, proteínas, ceras naturales y resinas, entre otros, con denominación GRAS. Así mismo, en la actualidad se ha comenzado a elaborar los recubrimientos comestibles con propiedades funcionales. No obstante, conocer la concentración de los materiales usados en la formulación, las técnicas de preparación, durabilidad, adherencia, entre otras. Requiere del uso de diseños experimentales para optimizar dichas condiciones.

Por otra parte, hoy en día varios investigadores mencionan la existencia de una preocupación por el aprovechamiento de residuos, cobrando en la actualidad gran fuerza. Sin embargo, los residuos generados en las transformaciones agroindustriales en Colombia aún no han sido aprovechados eficientemente, las estrategias de aprovechamiento de estos residuos se concentran simplemente en la elaboración de abonos orgánicos, actividad que limita la generación de un mayor valor agregado, en parte, porque su valor es aún desconocido y, sobretodo, por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias con la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en los procesos de mayor valor agregado, a pesar de que varias investigaciones resaltan que los residuos procedentes de frutas pueden ser utilizados, en la extracción de aceites esenciales, pectinas, flavonoides, azúcares solubles, fibra, ácidos orgánicos, proteínas y minerales, que se encuentran en diferentes cantidades dependiendo del tejido u órgano de la fruta.

En este sentido, el objetivo del presente estudio fue: **“Desarrollar un recubrimiento comestible formulado a partir de residuos generados durante el proceso agroindustrial de los cítricos con actividad anti fúngica”**. El recubrimiento comestible estuvo compuesto por dos materias primas obtenidas de residuos agroindustriales: pectina cítrica como agente estructural y aceite esencial de cítricos como agente anti fúngico, ambos, integrados en una formulación compuesta, por sorbitol (plastificante) y cera de abeja (impermeabilizante). Se utilizó un diseño de experimentos factorial completo (2^4) de cuatro factores a dos niveles, para definir el efecto del tiempo, la temperatura, pH y relación material vegetal: solvente, sobre el rendimiento de la extracción de pectina. La extracción de aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis* L.) se realizó por arrastre con vapor. Para la formulación del recubrimiento, se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial ($2 \times 2 \times 2$), mediante el cual se estableció la relación cuantitativa adecuada de los componentes básicos de la formulación. La actividad anti fúngica se evaluó en fresa mediante una herida para inocular uno de los patógenos propios de la fresa.

Con este estudio se determinó las condiciones de extracción de pectina a partir de residuos agroindustriales; se realizó la caracterización de dicha pectina; mediante la determinación de algunas propiedades fisicoquímicas como son: porcentaje de rendimiento, peso equivalente, contenido de metoxilo y grado de esterificación. Así mismo, se caracterizó el aceite esencial procedente las cascara de naranja (*Citrus sinensis* L.) mediante la picnometría y cromatografía de gases GC-FID a partir de ello, se desarrollo una formulación de recubrimiento comestible compuesto de pectina y aceite esencial, optimizada a partir de la actividad antifúngica.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN Y SU JUSTIFICACIÓN EN TÉRMINOS DE NECESIDADES Y PERTINENCIA

1.1. Descripción de la situación.

Cerón, Osorio, & Hurtado, (2012) mencionan que los frutales comprenden especies con diferentes grados de desarrollo y alto potencial de aceptación por los consumidores. En la actualidad las frutas tienen gran demanda en la industria de jugos y pulpas (Villareal, Mejía, Osorio, & Cerón, 2013), razón por la cual generan una alta cantidad de residuos (cascaras y semillas) cuyo valor como materias primas no es muy conocido; siendo esta industria una de las que mayor impacto ambiental genera (Mejía Giraldo, Martínez Correa, Betancourt Gutiérrez, & Castrillón Castaño, 2007). Las estrategias de aprovechamiento de estos residuos se concentran simplemente en la elaboración de abonos orgánicos, actividad que limita la generación de un mayor valor agregado (Cerón, Osorio, & Hurtado, 2012b).

En este sentido, Tamayo, Cartagena, & Londoño, (2011) mencionan que a nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza. Sin embargo, dichos autores mencionan que los residuos generados en las transformaciones agroindustriales en Colombia aún no han sido aprovechados eficientemente, en parte, porque su valor es aún desconocido y, sobretodo, por la falta de métodos apropiados para la preparación y caracterización de sustancias con la suficiente calidad e inocuidad como para ser usadas en los procesos de mayor valor agregado.

Yepes, Montoya, & Orozco, (2008) resaltan que los residuos procedentes de frutas pueden ser utilizados, en la extracción de aceites esenciales, pectinas, flavonoides, azúcares solubles, fibra, ácidos orgánicos, proteínas y minerales, que se encuentran en diferentes cantidades dependiendo del tejido u órgano de la fruta (albedo, flavedo, pulpa, semilla y jugo), el estado de madurez y el sistema tecnológico empleado para el procesamiento.

Dentro de los anteriores, las pectinas pueden ser utilizadas como recubrimientos hidrocoloides en frutas y hortalizas (Arellanes et al., 2011); este polisacárido complejo, es uno de los principales componentes de la pared celular primaria y media en los tejidos vegetales (Arellanes et al., 2011). Dicho polisacárido presenta buenas propiedades de barrera a los gases y pueden adherirse a las superficies de frutas y hortalizas (Han y Gennadios, 2005).

Ahora bien, Vazquez & Guerrero, (2013) mencionan que actualmente los recubrimientos comestibles son una alternativa de investigación de gran alcance, debido a la necesidad del consumo de alimentos saludables como frutas con un mínimo procesamiento y libres de aditivos sintéticos. Alvarez, (2012) señala que el futuro desarrollo de los recubrimientos comestibles está en evitar, el uso de ceras sintéticas como el polietileno, o el uso de amoníaco. Por ello, los principales componentes utilizados en la preparación de estos recubrimientos naturales son proteínas, polisacáridos y lípidos. Además de estos componentes básicos, se añaden otros aditivos alimentarios, como plastificante, emulsificante, surfactante, conservante, antioxidante, otros, que ayudan a mejorar la integridad mecánica, la calidad, aroma y valor nutricional de los alimentos.

1.2 Pregunta de investigación

Todos los anteriores aspectos condujeron a la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es la formulación más adecuada de un recubrimiento comestible formulado a partir de residuos (pectina y aceite esencial) generados durante el proceso agroindustrial de los cítricos que posea actividad anti-fúngica?

2. ESTADO DEL ARTE DE LA INVESTIGACIÓN, DESARROLLO TECNOLÓGICO O INNOVACIÓN

2.1 Generalidades

2.1.1 Residuos agroindustriales

Saval, (2012) menciona que los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de su industrialización, y que ya no son de utilidad para el proceso que los generó, sin embargo, al hablar de este tema se suele encontrar confusión en la utilización de términos, sin importar que existe una diferencia conceptual entre ellos. Un “subproducto” es un producto secundario, bien conocido, generalmente útil, comercializable y por lo tanto con valor agregado, que resulta de un proceso industrial. El término “residuos”, se aplica a aquellos que pueden tener o no un valor comercial, porque son poco comunes o porque se generan en bajas cantidades, sin embargo, algunos de sus constituyentes aún en baja proporción, le pueden conferir algún interés para su utilización. Mientras que el término “desecho”, está referido a aquellos materiales que no tienen algún valor comercial, ni poseen atributos de interés para ser utilizados en algún proceso, por lo que se consideran como basura y se les debe dar una disposición final. Por lo tanto, es necesaria la realización de estudios que potencien el desarrollo de procesos tecnológicos económicos, eficaces y rentables, que incentiven la utilización de los desechos como una fuente de materias primas adecuadas para la obtención de productos de alto valor agregado (Navarrete, Gil, Durango, & Garcia, 2009).

2.1.2 Residuos de cítricos.

Alvarez, (2012) menciona que el aprovechamiento industrial de los cítricos se ha convertido en una actividad intensiva en donde participan empresas de toda la cadena productiva (cultivadores, procesadoras, centros de distribución y exportadores), produciendo jugos, pulpas,

concentrados y frutas en fresco; pero a medida que la producción crece se aumenta también la generación de subproductos, residuos y desechos sólidos y líquidos. Los residuos de la producción de jugos de cítricos están compuestos principalmente de agua, azúcares solubles, fibra, ácidos orgánicos, flavonoides, aceites esenciales (AE), proteínas y minerales, que se encuentran en diferentes cantidades dependiendo del tejido u órgano de la fruta (albedo, flavedo, pulpa, semilla y jugo), el estado de madurez y el sistema tecnológico empleado para el procesamiento. Así de esta manera se puede partir de estos componentes para la formulación de recubrimientos comestibles que mejoren la vida de anaquel de frutas y hortalizas.

2.1.3 Residuos de naranja

Omaña, Cortes, Isáza, & García, (2010) menciona que los residuos de la extracción de jugo de naranja, están constituidos entre el 45 y 60 % de su peso y este a su vez se distribuye en: cascara 50 – 55 %, hollejos 30 – 35 % y 10 % de semillas. Dichos residuos son conocidos como citropulpa. Este tipo de subproductos son materia prima altamente utilizada en Estados Unidos y Europa, como sustituto de materias primas tradicionales como el maíz en donde la citropulpa es utilizada para la formulación de concentrados animales para el ganado esto debido al aumento en el precio de los granos, sustituyendo al maíz en un 40 – 45 % en una formulación convencional.

2.1.4 Recubrimiento comestible.

Según Figueroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narvaez, (2011) un recubrimiento comestible 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. Dichas soluciones formadoras del recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010b). Las cubiertas o recubrimientos involucran la formación de una estructura de polímero, que se pretende proteger o mejorar de alguna manera directamente en la

superficie del objeto. De esta manera los recubrimientos llegan a ser parte del producto y permanecen en el mismo durante su uso y consumo. La diferencia entre una película y un recubrimiento consiste en que, en general, las películas son preformadas y los recubrimientos se forman directamente sobre los productos que se aplican. Además, las películas y recubrimientos pueden ser comestibles o simplemente biodegradables.(Chambi & Grosso, 2011).

2.1.5. Biopolímeros para recubrimientos comestibles

Vazquez & Guerrero, (2013) en su revisión de literatura citan varios autores que reportan lo siguiente:

Polisacáridos: Los polisacáridos derivados de celulosa (metilcelulosa MC, hidroximetil celulosa HMC, hidroxipropil metilcelulosa HPMC y carboximetilcelulosa CMC), pectinas, derivados de almidón, alginatos, carragenina, quitosano y gomas, son capaces de constituir una matriz estructural, permitiendo obtener recubrimientos comestibles transparentes y homogéneos, sin embargo, están limitados por su solubilidad en agua y pobre barrera a la humedad y propiedades mecánicas moderadas.

Proteínas: Las proteínas forman recubrimientos con barreras más débiles que los polisacáridos al vapor de agua por su naturaleza hidrofílica, pero, por otro lado, desarrollan muy buenas propiedades de barrera al oxígeno, lo que ayuda a controlar el intercambio de gases entre el fruto y el medio ambiente, así como propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos. La capacidad de diferentes proteínas para formar recubrimientos depende de su peso molecular, conformaciones, propiedades eléctricas y estabilidad térmica.

Lípidos: Los lípidos ofrecen una buena barrera de humedad debido a su naturaleza hidrofóbica, lo que reduce la pérdida de agua en frutas recubiertas, además, mejoran el brillo de los frutos, los protegen contra la oxidación y crecimiento microbiano, sin embargo, su naturaleza no polimérica limita su capacidad para formar recubrimientos cohesivos. No obstante, los lípidos

en una matriz de polisacárido, proporcionan resistencia mecánica al recubrimiento comestible. Al incorporar lípidos a soluciones de hidrocoloides para formar recubrimientos, se mejoran las características de barrera al agua.

Pectinas: La pectina se define como un hidrato de carbono purificado que se obtiene de materiales vegetales que tienen un alto contenido de éstas, tales como manzanas, frutas cítricas, piña, guayaba dulce, tomate de árbol, maracuyá y remolacha exprimidas por extracción con ácidos diluidos. Variando su contenido de pectina según la estación y la variedad (Rodríguez & Roman, 2004).

Devia, (2003) menciona que su componente principal es el ácido poligalacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol. Se encuentran principalmente en las frutas y vegetales, para aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio del agua dentro del sistema. Según el tratamiento que se haga a las materias primas se obtienen diferentes calidades de pectinas, de acuerdo con las necesidades de los productos terminados, de igual manera el autor menciona que existen numerosos procesos patentados para obtener las pectinas, así como sus posibles aplicaciones, dependen mucho del método de obtención.

Aceites esenciales: Alvarez, (2012) cita varios autores que reportan que los aceites esenciales son mezclas homogéneas de moléculas provenientes de una misma familia química, terpenoides. Tienen la propiedad en común, de generar diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. A condiciones ambientales, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides. Son inocuos, mientras la dosis suministrada no supere los límites de toxicidad. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes. Son solubles en los disolventes orgánicos comunes. Casi inmiscibles en disolventes polares asociados (agua, hidróxido de amonio).

2.1.6. Fresa (*Fragaria spp.*).

Restrepo & Aristizabal, (2010) mencionan que la fresa es un fruto no climatérico, muy delicado y tiene una vida útil muy corta. Por sus condiciones fisiológicas resulta muy susceptible a la pérdida de humedad y al ataque por microorganismos, especialmente al hongo *Botrytis cinerea*, que ocasiona grandes pérdidas durante su transporte y comercialización porque disminuye los atributos, afectando su calidad comercial y su atractiva frescura para el consumidor. Casierra, Peña, & Vargas, (2011) mencionan que los principales aspectos calidad de la fresa son la apariencia, firmeza, sabor, grado de madurez, brillo y ausencia de daños en los frutos.

Cano, (2014) cita varios autores que afirman que las fresas (*Fragaria spp.*) se cultivan en diferentes zonas del mundo, tropicales, subtropicales e incluso en áreas templadas. Además de su interés comercial, este cultivo es de gran importancia social debido a la alta demanda de trabajadores requeridos para su producción y procesamiento en campo, en poscosecha y en la industria. En la actualidad, la fresa debido a su alto contenido de flavonoides, antocianinas y compuestos fenólicos, además del contenido nutricional y el aporte de algunas vitaminas como la A y C, puede ser considerada como un producto nutracéutico, ampliando las posibilidades comerciales que existen para este tipo de productos, que cada día aumentan en los mercados internacionales.

2.1.7. Alteraciones patológicas en poscosecha de fresa.

Cáceres et al., (2003) mencionan que los frutos climatéricos tienen una vida en anaquel muy corta. La comercialización de estas frutas se lleva a cabo en un período muy corto, pues son productos altamente perecederos y susceptibles al deterioro causado por desórdenes fisiológicos y patológicos en poscosecha, de este modo una de las más frecuentes causas de pérdidas económicas durante la poscosecha, son las alteraciones patológicas que limitan la vida útil de las

frutas y otros vegetales frescos. El porcentaje de frutos cítricos afectados por podredumbres durante una campaña normal oscila entre el 3 y el 15 % del total manipulado, pudiendo alcanzar valores mayores (8 - 20%) en zonas con climatología anormal o falencias sanitarias.

En los cítricos, las alteraciones son provocadas muy frecuentemente por hongos, principalmente Cano, (2014) señala que la fresa es una especie altamente susceptible a patógenos como: oomycetes *Phytophthora cactorum*, que ocasionan la enfermedad de la pudrición de la corona, *Phytophthora fragariae* var *fragariae*, que causa la podredumbre roja y *Pythium* sp. Así mismos hongos como: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp. y *Verticillium* sp.

Otros patógenos aéreos que ocasionan enfermedades como la antracnosis, causada por varias especies del género *Colletotrichum* entre los cuales se incluyen *C. acutatum* J.H. Simmonds, *C. fragariae* Brooks, y *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc, el moho gris conocido también como *Botrytis*, cuyo agente causal es el hongo *Botrytis cinerea* Pers, viruela o peca de la hoja causada por *Mycosphaerella fragariae*, oidium ocasionada por *Sphaeroteca macularis* f.sp. *fragariae* (*Podosphaera aphanis*) y otros patógenos como: *Penicillium digitatum* y *Rhizoctonia solani*, son también comunes en poscosecha (Beltrán, Ramos, & Alvarez, 2010).

2.2. Fundamentos Teóricos.

A continuación, se describen algunos fundamentos teóricos que describen el uso de los componentes útiles para la obtención de un recubrimiento comestible.

2.2.1. Obtención de recubrimientos.

Según Figueroa et al., (2011) para la formulación de un recubrimiento se pueden incorporar productos naturales con actividad antimicrobiana procedentes de plantas, organismos marinos, insectos o microorganismos como alternativas viables al uso de los químicos de síntesis. Restrepo & Aristizabal, (2010) reportan el uso de glicerol como plastificante, así mismo, el uso de una fase oleosa formada por cera de carnauba al 0.1% w/w, la cual debe ser sometida a calentamiento por

encima del punto de fusión, luego debe adicionarse surfactantes en concentración del 0.01% w/w y homogenizar el sistema por cizalladura (durante 5 minutos, a 18.000 rpm). Una vez preparados, los recubrimientos deben almacenarse en refrigeración a $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su aplicación.

Saavedra & Algecira, (2010) reportan que películas de almidón deben prepararse dividiendo el agua a utilizar en tres fracciones: en la primera se dispersa el almidón y se lleva a calentamiento hasta su gelatinización, mientras se mantiene en agitación constante. En la segunda fracción, se adiciona la cantidad de glicerol que posteriormente se incorporará gota a gota al gel de almidón ya formado. Estos componentes se dejarán en agitación constante durante 10 minutos. Posteriormente a esto se adiciona gota a gota la tercera porción de agua en la que previamente se había incorporado el emulsificante (Tween 60) y el aceite de canola con el fin de formar la emulsión. Finalmente se deja el sistema en agitación constante por 30 minutos. Ahora bien, Saavedra & Algecira, (2010) también reporta que películas de proteína: se emplea un procedimiento similar al descrito en la película de almidón, con la diferencia que el agua a utilizar se llevó a pH 10 empleando una solución de hidróxido de sodio.

Respecto de película de almidón y proteína (50:50): se realiza por separado la disolución del almidón y de la proteína. Cuando el almidón se encuentra gelatinizado se procederá a adicionar gota a gota la proteína ya disuelta en una cantidad de agua a pH 10. Se dejará en agitación constante durante un tiempo aproximado de 10 minutos para luego adicionar gota a gota la fracción de glicerol y seguir con el procedimiento descrito en las formulaciones anteriores. Una vez obtenida la suspensión filmogénica se vertirá sobre un molde recubierto con teflón de 15 cm x15 cm, la cual fue llevada a una cabina de secado durante 48 horas a una temperatura de 40°C. Una vez formada la película seca se desmolda.

Alvarez, (2012) menciona que para recubrimientos con base en pectina y cera la preparación de emulsiones, para ello, calentar por separado, la fase acuosa y la fase oleosa a 60-70°C, posteriormente se debe agregar la fase externa sobre la fase interna bajo agitación a 17000 rpm utilizando un homogenizador, en esta etapa los componentes oleosos alcanzaran una temperatura de 75°C y la fase acuosa que contiene los volátiles previamente homogenizados presento 40°C. Posteriormente se mantendrá la agitación (10 minutos) hasta el endurecimiento de la emulsión a una temperatura de 35°C.

2.2.2. Efecto de los recubrimientos.

La implementación y estudio de recubrimientos en frutas y hortalizas, es muy variada. Existe, un sin número de investigaciones encaminadas a evaluar el efecto de los recubrimientos en la conservación de diferentes especies de productos hortofrutícolas a partir de una gama disímil de materiales (biológicos y no biológicos).

Según Figueroa et al., (2011) dependiendo del tipo de compuesto que incluyen en su formulación pueden generar efectos diferentes: 1) Hidrocoloides: por lo general forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y son una buena barrera para los gases (O₂ y CO₂), pero no impiden suficientemente la transmisión de vapor de agua. 2) Lípidos: formados por compuestos hidrofóbicos y no poliméricos con buenas propiedades barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar films. Reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y el sabor; y 3) Composites o compuestos: formulaciones mixtas de hidrocoloides y lípidos que aprovechan las ventajas de cada grupo y disminuyen los inconvenientes. En general, los lípidos aportan resistencia al vapor de agua y los hidrocoloides, permeabilidad selectiva al O₂ y CO₂, la duración del film y la buena cohesión estructural o integridad del film.

Varios autores citados por Figueroa et al., (2011) mencionan los efectos de los recubrimientos a continuación se mencionan:

Color/apariencia: El color es el cambio más obvio que se presenta en muchos frutos y es, a menudo, el principal criterio utilizado por los consumidores para determinar si un fruto está maduro o no. Los cambios de color durante la maduración de la mayoría de los frutos, son producto, principalmente, de la degradación de la clorofila y la síntesis de pigmentos tales como carotenoides y antocianinas. Debido a que los recubrimientos en frutos pueden crear una atmósfera modificada entre la película y la superficie de los mismos y evitar la degradación de la clorofila, debido, a la ausencia de CO₂ en la atmósfera de almacenamiento (Maftoonazad & Ramaswamy, 2005).

Pérdida de peso: El mecanismo principal de pérdida de humedad, en frutas frescas y vegetales, es la difusión del vapor de agua. Lo anterior debido a un gradiente de presión entre el interior y el exterior del fruto. Las películas sobre la superficie de los frutos actúan como barreras a la difusión del vapor de agua, lo que se traduce en menores tasas de pérdida de humedad (Maftoonazad & Ramaswamy, 2005).

Índices de madurez: Durante el proceso de maduración, en los frutos carnosos se generan cambios en la composición química, color, textura, tasa respiratoria y cambios químicos en los carbohidratos de la pared celular, que al degradarse incrementan el nivel de azúcares que contribuyen a mejorar la palatabilidad del fruto (Rodríguez, Arjona, & Galvis, 2006). Los estudios de Cáceres et al., (2003) indican que un recubrimiento a base de celulosa, cera de carnauba o éster de sacarosa incidió en una menor evolución de los sólidos solubles y un mantenimiento de la acidez. En ninguno de estos trabajos se da una explicación del papel del recubrimiento sobre la inducción de un menor índice de madurez, pero es muy probable que sea debido a la menor tasa de respiración exhibida por los frutos tratados comparados con los de

control, ya que el aumento del CO₂ se debe a la utilización de sustratos de reserva en el ciclo de Krebs, que en el caso de los frutos son los azúcares y los ácidos orgánicos (Figueroa et al., 2011).

Tasa respiratoria: Las células vegetales continúan siendo metabólicamente activas después de la cosecha, y siguen obteniendo la energía necesaria del proceso de respiración aeróbica. La tasa de deterioro (percebilidad) de productos cosechados es proporcional a la tasa respiratoria. En frutos de aguacate, Maftoonazad & Ramaswamy, (2005) observaron un retraso en la maduración, por 2 días cuando se recubrían con películas de metilcelulosa y obtuvieron valores máximos de producción de CO₂ de 127 mL/Kg.h para los frutos recubiertos, después de mantenerlos 8 días a 20°C.

Estos resultados, resaltan la importancia y ventaja del uso de recubrimientos que forman una barrera en la superficie del fruto, modificando la composición gaseosa interna, lo cual disminuye la tasa de respiración y por lo tanto, prolongando la vida poscosecha del producto (Figueroa et al., 2011).

2.2.3. Efectos de los aceites esenciales sobre hongos.

Según Ramosa, Bautista, & Barrera, (2010) los aceites esenciales se encuentran en abundancia en el reino vegetal y se pueden localizar en diferentes partes de la planta por ejemplo: en hojas como albahaca (*Ocimum basilicum* L.), mejorana (*Origanum majorana* L.), menta (*Mentha rotundifolia* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.), salvia (*Salvia officinalis* L.), en raíces de cálamo (*Acorus calamos* L.), valeriana (*Valeriana officinalis* L.), en la corteza de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Nees.), cedro (*Cedrela odorata* L.), sándalo (*Santalum album* Linn.), en flores como el jazmín (*Jasminum officinale* L.) y en la rosa (*Rosa* sp.). En cáscara de algunas frutas como el limón, mandarina, naranja (*Citrus sinensis* L.) y en frutos de anís (*Pimpinella anisum* L.), cardamomo (*Elettaria cardamomum* L.), eneldo (*Anethum graveolens* L.) e hinojo (*Foeniculum vulgare* Miller.)

Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas. Las esencias son mezclas complejas en cuya composición se encuentran los hidrocarburos como terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos, los cuales son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales (Ramosa et al., 2010)

Ahora bien, Daferera, Ziogas, & Polissiou, (2000) mencionan que los aceites esenciales han mostrado una actividad fungicida contra patógenos poscosecha en un amplio intervalo de hongos. Actualmente, se han reportado varias investigaciones en donde se demuestra la actividad fungicida de los aceites esenciales (Tabla 1).

Tabla 1.

Aceites esenciales con efecto fungicida contra algunas especies de hongos poscosecha (Ramosa et al., 2010)

Patógeno	Aceite	Concentración	Resultados
Alternaria citri	Thymus vulgaris L.	250 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial
Botrytis cinerea	Cymbopogon martini Rox. Zyzygiun aromaticum L.	7800 mg L ⁻¹	Inhibición de la germinación
Penicillium digitatum P. italicum P. citrinum	T. vulgaris L., C. sinensis L. Poncirus trifoliata L.	250, 275, 246 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial
Fusarium graminearum	Anethum graveolens L. Citrus cinensis.	6 mg L ⁻¹	Inhibición del crecimiento micelial
Aspergillus flavus A. niger Penicillium chrysogenum	Mentha viridis L. Ageratum conyzoides L. Rosmarinus officinales L.	300 mg L ⁻¹	Retarda el crecimiento

Guedez et al., (2014) en su estudio la actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.) sobre hongos poscosecha: (*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 ($p < 0.05$) (Tabla 2).

Tabla 2.

Inhibición del crecimiento micelial de hongos poscosecha mediante aceite esencial de naranja (Citrus sinensis L.) (Guedez et al., 2014).

Hongo	Aceite esencia (%) ^l	crecimiento colonia (cm)	de Inhibición (%)
<i>C. gloeosporioides</i>	0	8,1	-
	1	1,4	82,7 ^a
	2,5	0	100 ^b
	5	0	100 ^b
<i>P. indicum</i>	0	8,4	-
	1	1,6	80,9 ^a
	2,5	0	100 ^b
	5	0	100 ^b
<i>F. solani</i>	0	7,9	-
	1	1,3	83,5 ^a
	2,5	0	100 ^b
	5	0	100 ^b
<i>R. stolonifer</i>	0	8,5	-
	1	1,5	82,4 ^a
	2,5	0	100 ^b
	5	0	100 ^b
<i>A. flavus</i>	0	8,4	-
	1	1,5	82,1 ^a
	2,5	0	100 ^b
	5	0	100 ^b

*Letras diferentes en la fila indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

Becerra et al., (2016) realizaron ensayos para determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento de los hongos fitopatógenos al ser expuesto a aceites esenciales de cuatro plantas

nativas chilenas: *Drimys winteri* (Canelo), *Psoralea glandulosa* (Culén), *Gomortega keule* (Queule) y *Haplopappus baylahuen* (bailahuén). Se realizaron ensayos cuantitativos por difusión en agar de *P. glandulosa* sobre *Aspergillus nigr*, *G. keule* sobre *Rhizopus arrhizus*, *H. baylahuen* sobre *Fusarium oxysporum* y *D. winteri* sobre *Botrytis cinérea*. El crecimiento de *A. nigr* en placa con aceites esenciales al 1% demostró que el modo de acción sobre el hongo varía con cada aceite, resultando el aceite esencial de *G. keule* más activo inhibiendo un 54%, seguido de *P. glandulosa* (39%), *H. baylahuen* (38%) y *D. winteri* (36%).

De esta manera Isman, (2000) describe el mecanismos de acción de estos aceites esenciales y afirma que la actividad antifúngica de los aceites esenciales ha sido atribuida a fenoles monoterpénicos, especialmente el timol, carvacrol y eugenol; también al D-limoneno, cineol, α -pineno, β -pineno, β -mirceno y alcanfor. Donde estos componentes atraviesan la membrana celular, hacen interacción con las enzimas y las proteínas de la membrana, produciendo así un flujo de protones hacia el exterior de la célula, que induce cambios en las células y, en última instancia, su muerte (Omidbeygi, Barzegar, Hamidi, & Naghdibadi, 2007; Daferera et al., (2000).

2.3. Estado de Desarrollo e Innovación.

2.3.1. Obtención de pectinas.

Arellanes et al., (2011) estudiaron la obtención y caracterización de pectina de la corteza de cambur manzano (*Musa sp (L.) 'AAB*). Para ello, utilizaron el método de la hidrólisis ácida empleando ácido cítrico y ácido clorhídrico como agentes de extracción, 60 min de calentamiento a 85°C a pH 2.0 y 3.0 para cada agente. Mientras, que la caracterización se realizó en términos de humedad, cenizas, tiempo de gelificación, peso equivalente, contenido de metoxilo, viscosidad relativa y contenido de ácido anhidrouónico (AUA). Dichos investigadores encontraron que mayor rendimiento de pectina, expresado en base seca fue de 16.14%, empleando ácido cítrico como agente de extracción para un pH de 2.0.

Vasquez, Ruesga, Daddosio, Páez, & Marín, (2008) realizaron la extracción y caracterización de la pectina a partir de la cáscara de plátano (*Musa* AAB subgrupo plátano, clon Hartón). Para ello, emplearon hidrólisis ácida utilizando HCl como agente extractante. Se ensayaron dos condiciones de pH (2.0 y 3.0) durante 60 minutos a 85°C. La calidad de la pectina extraída se evaluó mediante las variables: contenido de humedad, ceniza, ácido anhidrouónico y metoxilo, tiempo de gelificación, viscosidad relativa, espectroscopía de infrarrojo y se elaboró mermelada de manzana con la pectina extraída para evaluar sus propiedades organolépticas. Se encontró que la extracción a pH 2.0 presentó la composición máxima en base seca (20.68% m/m) y a pH 3.0 se obtuvo la pectina de mejor calidad.

Barazarte, Sangronis, & Unai, (2008) reportaron que la explotación comercial del cacao genera un volumen de cáscaras que pudiera utilizarse para la producción de pectinas a nivel industrial. Por ello, extrajeron pectinas de la cáscara de cacao a diferentes condiciones de pH y temperatura y se evaluaron sus principales características químicas. Para la extracción se usó EDTA al 0.5% a pHs 3, 4 y 5 y temperaturas de 60, 75 y 90°C, bajo diseño factorial 3². Las variables respuestas fueron: rendimiento, contenido de ácido anhidrogálico (AGA), contenido de metoxilo, grado de esterificación y peso equivalente de las pectinas extraídas. Se obtuvo un rendimiento de extracción de 2.64 a 4.69 g/100g, un contenido de AGA entre 49.8 y 64.06 g/ 100g, un contenido de metoxilo entre 4.72 y 7.18 g/100g, un grado de esterificación entre 37.94% y 52.20%, un peso equivalente entre 385.47 a 464.61 g/equivalente de H⁺ y un grado de gelificación entre 285.64 y 806.03 g fuerza.

Ahora bien, varios autores como Joye & Luzio, (2000) y (Fishman, Chau, & Hoagland, 2000) menciona que se conocen diferentes métodos para la extracción de polisacáridos solubles como alginatos, carragenanos y pectinas a partir de material vegetal. Los estudios de Alvarez, (2012)

muestran algunos resultados al variar las condiciones de extracción de pectina; en la (Tabla 3) se muestran el efecto de dichas condiciones.

Tabla 3.

Ensayos de extracción de pectinas a diferentes condiciones experimentales.

Ensayo	Condiciones	Peso bruto de producto	Observaciones
1	Peso material 20 gr húmedo pH 1.73 Temperatura 90°C Agitación 500 rpm Agente acidificante H ₃ PO ₄ Agente precipitante Etanol 4:1 Tiempo 30 min Relación material: solvente 1:10	0.54 gr	Pasta color crema, quebradiza.
2	Peso material 20 gr húmedo pH 1.73 Temperatura 90°C Agitación 500 rpm Agente acidificante H ₃ PO ₄ Agente precipitante Etanol 4:1 Tiempo 60 min Relación material: solvente 1:10	1.24 gr	Requiere nuevos lavados y reprecipitación, material pigmentado.
3	Peso material 20 gr húmedo pH 1.73 Temperatura 70°C Agitación 1000 rpm Agente acidificante Ácido cítrico Agente precipitante Etanol 4:1 Tiempo 60 min Relación material: solvente 1:5	1.45 gr	Requiere nuevos lavados y reprecipitación, material pigmentado.

2.3.2. Recubrimientos con propiedades antimicrobianas

Ramosa, Bautista, & Barrera, (2010) mencionan que los recubrimientos pueden servir como vehículos para un amplio rango de aditivos, incluyendo compuestos antimicrobianos, con la finalidad de proporcionarles mayores atributos como es el control de microorganismos. Entre los aditivos naturales están los aceites esenciales. Se tiene amplia evidencia que los aceites esenciales

extraídos de diferentes plantas presentan inhibición contra hongos y bacterias. Al formular recubrimientos comestibles con 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.

En este contexto, Quintero, Falguera, & Muñoz, (2010a) mencionan que las películas (films) y recubrimientos antimicrobianos han innovado el concepto de empaque activo desarrollado para reducir, inhibir o detener el crecimiento de microorganismos sobre la superficie de los alimentos.

Guedez et al., (2014) en su estudio mencionan que al utilizar aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.), como recubrimiento de 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. Puede ser una alternativa factible, para el control natural y eficaz de hongos poscosecha, causantes de grandes pérdidas en frutas para exportación y consumo.

Rico, Gutiérrez, & Diaz, (2012) en su estudio evaluaron la calidad microbiológica de cubos de mango recubiertos con recubrimientos de quitosano a concentración del 2% y aceites esenciales de naranja (1%) y limón (1%) encontrando una reducción significativa ($p < 0.05$) en la presencia de coliformes, psicrófilos, hongos y levaduras, comparado contra una muestra control sin recubrimiento.

Figuroa et al., (2011) reportan el uso del propóleo, producto producido por la abeja *Apis mellifera* – debido a sus propiedades antibióticas, antifúngicas y antioxidantes derivadas de los flavonoides y compuestos fenólicos. El propóleo se destaca por sus variadas y disímiles propiedades biológicas, lo que ha incrementado en los últimos años su utilización como materia prima para la industria farmacéutica, de cosméticos y de alimentos (Chaillou, Herrera, & Maidana, 2004).

Ramosa et al., (2010) reportan el uso de quitosano como recubrimiento filmogénico con actividad antimicrobiana. El quitosano es un polisacárido que se obtiene del exoesqueleto de crustáceos mediante la desacetilación parcial de la quitina. Su actividad fungicida ha sido reportada en varios estudios, inhibiendo el crecimiento de los hongos causantes de enfermedades poscosecha.

Cagri, Ustunol, & Ryser, (2004) señalan que la incorporación de agentes antimicrobiales 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,

Rojas et al., (2007) reportaron que el recubrimiento a base de puré de manzana alginato, glicerol y aceite esencial de orégano en trozos de mango, disminuyó el desarrollo de *Listeria innocua*, hasta un 50% más que en los no tratados.

Tanada & Grosso, 2005; Trejo, Ramos, & Pérez, 2007; Restrepo & Aristizabal, 2010; Saavedra & Algecira, 2010; afirman que los recubrimientos comestibles actúan como barrera al oxígeno y a la humedad aumentando la vida útil de la fresa disminuyendo las pérdidas de humedad, el índice de respiración, manteniendo la firmeza y produciendo mínimas variaciones perceptibles de color, en comparación con los frutos sin recubrimiento utilizados como tratamiento control influyendo de una manera positiva también en la calidad sensorial de la fresa.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Desarrollar un recubrimiento comestible formulado a partir de residuos generados durante el proceso agroindustrial de los cítricos con actividad anti fúngica.

3.2. Objetivos específicos

Obtener y caracterizar la pectina y el aceite esencial, estableciendo la identidad y funcionalidad para su incorporación en una nueva formulación de recubrimiento comestible composite.

Desarrollar una formulación de recubrimiento comestible a partir de pectina y aceites esenciales, optimizada a partir de la formación de película.

Evaluar la actividad antifúngica in vivo del recubrimiento comestible con mejores propiedades.

4. MATERIALES Y METODOLOGÍA

4.1. Obtención de pectina.

4.1.1. Localización.

La investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación en Calidad y Conservación de Alimentos (Figura 1) de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño sede Torobajo, Pasto (Nariño), localizada a 2.527 msnm, temperatura promedio 14 °C (Ceron, Osorio, & Bucheli, 2014).



Figura 1. Laboratorio de Investigación en Calidad y Conservación de Alimentos.

Fuente: Esta investigación

4.1.2. Material Experimental.

Se utilizaron residuos agroindustriales de naranja dulce (*Citrus sinensis* L) (Figura 2) el material vegetal a evaluar, se recolectó en una zona urbana del municipio de San Juan de Pasto departamento de Nariño, la cual está dedicada a la producción y comercialización de jugos y zumos de naranja. Posteriormente el material se empacó y se trasladó hacia las instalaciones donde se realizaron los diferentes tratamientos.



Figura 2. Residuos agroindustriales procesamiento de cítricos.

Fuente: Esta investigación

4.1.3. Manejo y acondicionamiento de la materia prima.

Los residuos de cítricos, se desinfectaron en una solución hipoclorito de sodio-agua a una concentración de 150 ppm durante 3 minutos, según recomendaciones de Alvarez, (2012) (Figura 3). Posteriormente las cascaras de naranjas se almacenaron a temperatura de refrigeración 6 °C durante el tiempo que duro la experimentación.



Figura 3. Desinfección residuos de cítricos.

Fuente: Esta investigación

4.1.4. Extracción de pectina.

La extracción se realizó partiendo de un material constituido por una mezcla de albedo y flavedo húmedos (200 gr y 70.36% de humedad). Se optó por material húmedo de acuerdo a consideraciones realizadas por Alvarez, (2012) debido a que trabajar con material seco este posteriormente se rehidrataría.

La medición de pH, se realizó por medio de un pH-metro (Jenway Ref. 3510). Los reactivos, para la extracción de pectinas (Ácido cítrico y etanol al 99.8 %). El registro de la temperatura se realizó mediante un datalogger marca EXTECH SL 2000.

Así mismo, para el proceso de obtención de pectina se requirió de varios procesos independientes, a realizarse en modo secuencial: calentamiento, filtración y separación de sólidos; posteriormente se almacenaron las soluciones para agregar un 75% del volumen adicional de etanol, enfriamiento a 5 °C, decantado, extracción del decantado y posterior filtración y extracción de un porcentaje de su humedad.

En la (Figura 4) se muestra el proceso de extracción de pectina en las instalaciones del Laboratorio de Calidad y Conservación de Alimentos de la Universidad de Nariño.



Extracción de pectina



Filtración



Decantación



Obtención de pectina cítrica



Secado

Figura 4. Proceso de extracción de pectina.

Fuente: Esta investigación|

4.1.5. Diseño experimental.

Partiendo de la revisión del estado del arte, se consideró que las variables (tiempo, temperatura, pH y relación material vegetal: solvente) presentan influencia sobre el rendimiento en pectina.

Se planteó un diseño de experimentos factorial completo (2^4) de cuatro factores a dos niveles, para definir las variables activas (que factores presentan efecto significativo sobre la variable de respuesta), rendimiento de la extracción de pectinas.

El procedimiento para formular el diseño fue el siguiente:

Evaluación del sistema: operación de extracción de pectina.

Identificación de factores, y niveles a aplicar: se muestran en la (Tabla 4).

Tabla 4.

Identificación de factores, y niveles

Factores	Niveles		
	Bajo	Punto central	Alto
Temperatura (°C)	60	65	70
pH	1	1.5	2
Relación muestras: solvente	1:10	1:15	1:20
Tiempo (h)	1	1.5	2

Identificación de respuestas a obtener: % de Rendimiento de pectina (Base húmeda).

Modelo del diseño experimental seleccionado: $y_i = \mu + c_i + \emptyset_j + \beta_k + \alpha_l + (C\emptyset\beta\alpha)ijkl + \epsilon_{ijkl}$

Dónde: Y_i = Variable de respuesta; μ = media global; C_i = temperatura; \emptyset_j =tiempo; β_k = pH; α_l = relación muestra: solvente; $C\emptyset\beta\alpha$ = iteración de niveles; ϵ_{ijkl} = componentes aleatorios.

Planteamiento de hipótesis: si las condiciones de extracción no influyen, los niveles de los factores son iguales a efectos de rendimientos en la extracción.

$$H_0 = u_1 = u_2 = u_3 \dots u_8 = 0$$

H_a = algún U es distinto de $= 0$

Donde u : son los factores de estudio.

Matriz experimental. En la (Tabla 5) se muestra la matriz de experimentos con cuatro puntos centrales.

Tabla 5.

Matriz experimental.

Temperatura (°C)	pH	Relación solvente	muestra: Tiempo (h)	% (B.H)	Rendimiento
65	1.5	1:15	1.5	X	
70	2	1:10	2	X	
60	1	1:10	1	X	
70	2	1:20	1	X	
70	1	1:10	1	X	
70	2	1:20	2	X	
60	2	1:10	1	X	
70	2	1:10	1	X	
65	1.5	1:15	1.5	X	
70	1	1:20	1	X	
60	1	1:10	2	X	
60	1	1:20	2	X	
60	2	1:20	2	X	
60	1	1:20	1	X	
70	1	1:20	2	X	
60	2	1:20	1	X	
60	2	1:10	2	X	
70	1	1:10	2	X	
65	1.5	1:15	1.5	X	
70	2	1:10	2	X	
60	1	1:10	1	X	
70	2	1:20	1	X	
70	1	1:10	1	X	
70	2	1:20	2	X	
60	2	1:10	1	X	
70	2	1:10	1	X	
65	1.5	1:15	1.5	X	
70	1	1:20	1	X	
60	1	1:10	2	X	
60	1	1:20	2	X	
60	2	1:20	2	X	
60	1	1:20	1	X	
70	1	1:20	2	X	
60	2	1:20	1	X	
60	2	1:10	2	X	
70	1	1:10	2	X	

Donde X: valor de la variable de respuesta.

4.2. Obtención de aceite esencial.

4.2.1. Extracción aceite esencial de cascara de naranja (Citrus sinensis L).

Se utilizó la técnica de arrastre por vapor descrita por Arango, Bolaños, Villota, Hurtado, & Toro, (2012) el proceso de extracción se realizó en un equipo de 80 litros, como se presentan en la (Figura 5.). El sistema se compuso de un medio de distribución de vapor con control de presión, un lecho de extracción, un condensador vertical y un separador de fases o vaso florentino. La extracción se realizó a 3.7 PSI, por un tiempo de 4 hora utilizando un promedio de 15 kg de cascara de naranja (*Citrus sinensis L.*)

A la salida del condensador, se obtuvo una emulsión líquida inestable. La cual, se separó en un decantador de vidrio refrigerado formando dos fases, una acuosa también llamada agua floral y otra fase que forma propiamente el aceite esencial. Posteriormente, el aceite esencial se retiró del recipiente, y se conservó en envases de vidrio ámbar con tapa.



Equipo de arrastre de vapor



Extracción de aceite de naranja *Citrus sinensis*



Decantación de aceite de naranja *Citrus sinensis*



Figura 5. Proceso de extracción aceite esencial arrastre con vapor.

Fuente: Esta investigación

4.3. Caracterización de la pectina cítrica.

4.3.1. Determinación del rendimiento.

Se relacionó el peso final de la pectina con el peso inicial de la muestra teniendo en cuenta el contenido de humedad de esta última para obtener el peso en bulbo seco. El contenido de

humedad se determinó utilizando el método de Bernal (1998), por medio del cual se establece la pérdida de peso. El rendimiento fue expresado como porcentaje de bulbo seco (%BS) (Ecuación 1).

$$\text{Rendimiento (\%BS)} = \frac{\text{Peso muestra de pectina seca (x)100}}{\text{Peso muestra inicial * \% solidos seco}} \quad \text{Ecuación 1.}$$

4.3.2. Determinación del peso equivalente.

Se pesaron 0.5 g de pectina y colocaron en un erlenmeyer de 250 mL, se mezclaron con 5 mL de etanol, 1 g de cloruro de sodio, 100 mL de agua destilada y dos gotas del indicador rojo fenol; la mezcla se tituló con solución de NaOH 0.1 N hasta observar el cambio de color (pH 7.5). El peso equivalente la siguiente formula (Campo, Villada, & Meneses, 2016) (Ecuación 2 , 3):

$$\text{Eq} - \text{g de NaOH} = \text{N} * \text{V (L) NaOH gastados} \quad \text{Ecuación 2.}$$

$$\text{Peso equivalente} = \frac{\text{W1}}{\text{Eq} - \text{g de NaOH}} \quad \text{Ecuación 3.}$$

W1 = peso de la muestra (g)

V= volumen de NaOH gastados

N=normalidad del NaOH

4.3.3. Determinación del contenido de metoxilo.

A la solución neutra proveniente de la determinación del peso equivalente, se le agregó 25 mL de NaOH 0,25 N y se agitó (reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos). Se mezcló 25 mL de HCL 0.25 N y título con NaOH 0.1 N hasta cambio de color (pH 7.5). Se calculó por medio de las siguientes formulas (Campo et al., 2016) (Ecuación 4):

$$\% \text{ MeO} = \frac{(\text{VB} * \text{NB} * 31.02)}{W1} * 100 \quad \text{Ecuación 4.}$$

% MeO = Porcentaje de metoxilo

VB = volumen gastado de NaOH (mL)

NB= normalidad corregida del NaOH 0.1 N en (meq-g/mL)

31.02 = peso equivalente del metoxilo e mg/meq-g de CH₃O

W1 = peso de la muestra (mg)

4.3.4. Determinación del grado de esterificación.

Se preparó una solución 1% de pectina con agua. Se tituló dicha solución con NaOH 0.1028N utilizando fenolftaleina como indicador. La cantidad de NaOH empleada en esta titulación se denominó "A". Luego se agregaron 20 ml de NaOH al 0.4715 N y se dejó en agitación y a temperatura ambiente durante 30 minutos con el fin de desesterificar completamente la pectina, pasado este tiempo se vertieron 20 mL de HCL al 0.4809 N para neutralizar la solución, por último, se tituló nuevamente con NaOH al 0.1028 N. Esta cantidad se denominó "B". (Figura 6). Grado de metoxilacion o esterificación (Figuroa et al., 2011) (Ecuación 5).

$$\text{° Esterificación} = \frac{B}{A + B} * 100 \quad \text{Ecuación 5.}$$

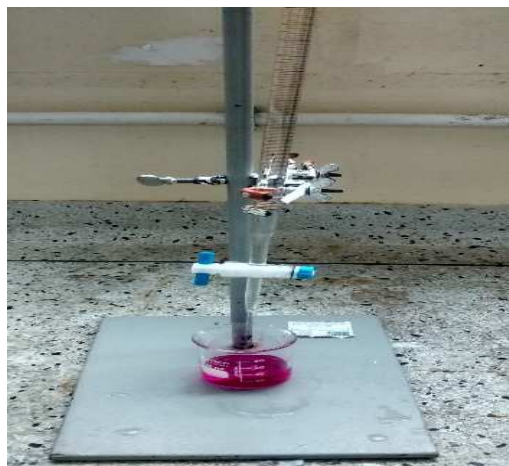


Figura 6. Titulación grado de esterificación.

Fuente: Esta investigación

4.4. Caracterización aceite esencial cítrica.

4.4.1. *Picnometría del aceite esencial.*

La determinación de la densidad de los aceites esenciales se realizó mediante el uso de un picnómetro tipo Gay-Lussac de 25 ml, precisión $\pm 0.004 \text{ g/cm}^3$. (Figura 8).



Figura 7. Determinación de densidad por picnometría.

Fuente: Esta investigación|

4.4.2. Análisis de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases.

Se utilizó la metodología descrita Navarrete, Gil, Durango, & Garcia, (2009) con algunas modificaciones utilizando un cromatógrafo de gases marca Shimadzu GC-17.A, con una columna Supelcowax 10 (30m x 0.25mm ID 0.25 μ m) y detector de masas simple. Se inyectaron 0.2 μ L de muestra disueltas en metanol en el modo Splitless. La temperatura del inyector fue de 230 °C. Se utilizó helio como gas de arrastre a un flujo de 1.00 mL/min y una presión de 7.52 psi. Programa de operación: temperatura inicial: 50 °C durante 1.0 min, rampa de calentamiento 10 °C/min, temperatura final de 250 °C durante 3.0 min, temperatura del detector 280 °C en modo scan. Tiempo total de la corrida 25.0 min. El reconocimiento de los compuestos individuales se realizó mediante la comparación de los patrones de fraccionamiento de masas disponibles en la librería. La composición relativa de los compuestos se estimó mediante el análisis de relación de áreas.

4.5. Obtención de una formulación de recubrimiento comestible a partir de pectina y aceites esenciales.

4.5.1. Selección de materiales para un recubrimiento comestible.

Según Alvarez, (2012) la selección de un material formador de película, sus constituyentes y del aditivo bioactivo está en función del objetivo, la naturaleza del producto y el método de preparación y aplicación. Bajo esta afirmación, la literatura presenta diferentes investigaciones con recubrimientos comestibles composites, donde se han propuesto la mezcla de cuatro componentes principales como se observa la (Tabla 6).

Tabla 6.**Componentes básicos de una formulación de recubrimiento comestible.**(Alvarez, 2012)

Componente	Función
Pectina	Formador de película, suspensor
Sorbitol	Plastificante
Cera de abejas	Impermeabilizante, abrillantador de superficies
Componente antimicrobiano	Antifúngico, fungistático

4.5.2. Diseño experimental ensayos de formulación.

Se propuso un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 2x2x2, mediante el cual se estableció la relación cuantitativa optima de los componentes básicos mencionados en la (Tabla 7), el contenido se cera de abeja se mantuvo constante 0.8 g.

El procedimiento para la formular el diseño fue el siguiente:

Evaluación del sistema: Obtención formulación recubrimiento.

Identificación de factores, y niveles a aplicar: se muestran en la (Tabla 7).

Tabla 7.**Identificación de factores, y niveles**

Factores	Niveles		
	Bajo	Punto central	Alto
Pectina (g)	2	3	4
Sorbitol (g)	1	1.5	2
Aceite esencial (%)	0.5	0.75	1

Identificación de respuestas a obtener: la variable de respuesta formación de película será una variable cualitativa (observación).

Modelo del diseño experimental seleccionado: $y_i = \mu + c_i + \emptyset_j + \beta_k + (\tau\emptyset)_{ij} + \epsilon_{ijk}$

Dónde: Y_i = Variable de respuesta; μ = media global; C_i = pectina; \emptyset_j = sorbitol; β_k = aceite esencial; ϵ_{ijkl} = componentes aleatorios.

Planteamiento de hipótesis: las formulaciones presentan diferentes propiedades (no formo película; formo película sin adherencia al vidrio; formo película con adherencia al vidrio).

$$H_0 = u_1 = u_2 = u_3 \dots u_8 = 0$$

$$H_a = u_1 \neq u_2 \neq u_3 \dots u_8 \neq 0$$

Donde **u**: es el valor de la variable de respuesta la cual tomará valores de: 0: no formo película; 1: formo película sin adherencia al vidrio; 2: formo película con adherencia al vidrio (observación).

En la tabla 8 se muestra la matriz de experimentos.

Tabla 8.

Diseño experimental selección de formulación composite.

Corrida experimental	Pectina (g)	Sorbitol (g)	Aceite esencial (%)	formación de película y adherencia a vidrio
1	2	2	0.5	X
2	4	1	0.5	X
3	3	1.5	0.75	X
4	2	1	0.5	X
5	4	2	1	X
6	4	1	1	X
7	2	1	1	X
8	2	2	1	X
9	4	2	0.5	X
10	3	1.5	0.75	X

Donde X: variable de respuesta

4.5.3. Preparación de formulaciones.

Se utilizó la metodología descrita por Alvarez, (2012) todos los ensayos de la formulación utilizaron la misma forma de preparación de emulsiones, se calentaron por separado, la fase acuosa y la fase oleosa a 60 -70°C, posteriormente se agregó la fase externa sobre la fase interna bajo agitación a 17000 rpm utilizando un homogenizador ultraturrax marca SCILOGEX, en esta etapa los componentes oleosos alcanzaran una temperatura de 75 °C y la fase acuosa que

contiene los volátiles previamente homogenizados presento 40 °C. Se mantuvo la agitación (10 minutos) hasta el endurecimiento de la emulsión a una temperatura de 35 °C. Los materiales se pesaron en balanza analítica, las formulaciones se preservarán a temperatura ambiente y en envases estériles con cierre hermético para evitar la pérdida de volátiles.



Figura 8. Pesado de las materias primas.

Fuente: Esta investigación



Homogenización



Secado

Figura 9. Preparación de formulaciones.

Fuente: Esta investigación

4.5.4. Evaluación de la compatibilidad de componentes.

Todas las formulaciones se evaluaron mediante dos aspectos: formación de película, y adherencia al vidrio (observaciones). Para esto se procedió a colocar una cantidad de 5 gramos de formulación sobre cajas de petri, los cuales se dejaron reposar sobre una superficie plana y se realizó las observaciones descritas. La apariencia de las formulas en estado húmedo y seco a 24 horas, con lo que fue posible observar aglomeración de materiales, formación de vesículas de aire, y otros defectos (Figura 11).

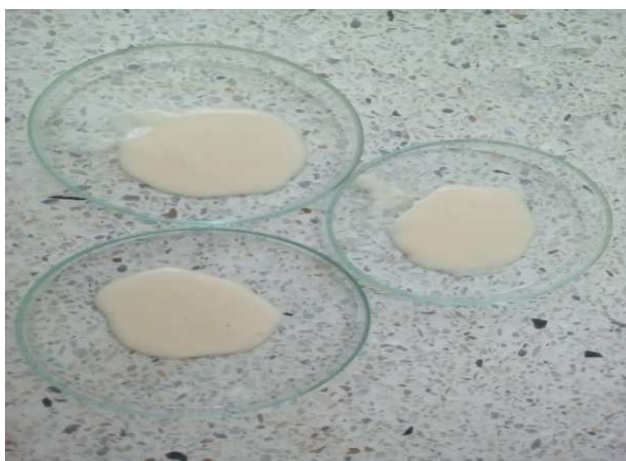


Figura 10. Formulaciones sobre cajas Petri.

Fuente: Esta investigación

4.6. Actividad antifúngica in vivo de recubrimientos.

4.6.1. Aislamiento y siembra del patógeno.

Se aisló uno de los patógenos descritos por Cano, (2014), *Rhizoctonia sp.*, los organismos se conservaron a 24 °C en medios PDA (Papa Dextrosa Agar) (Figura 12), para luego ser inoculados en los frutos.

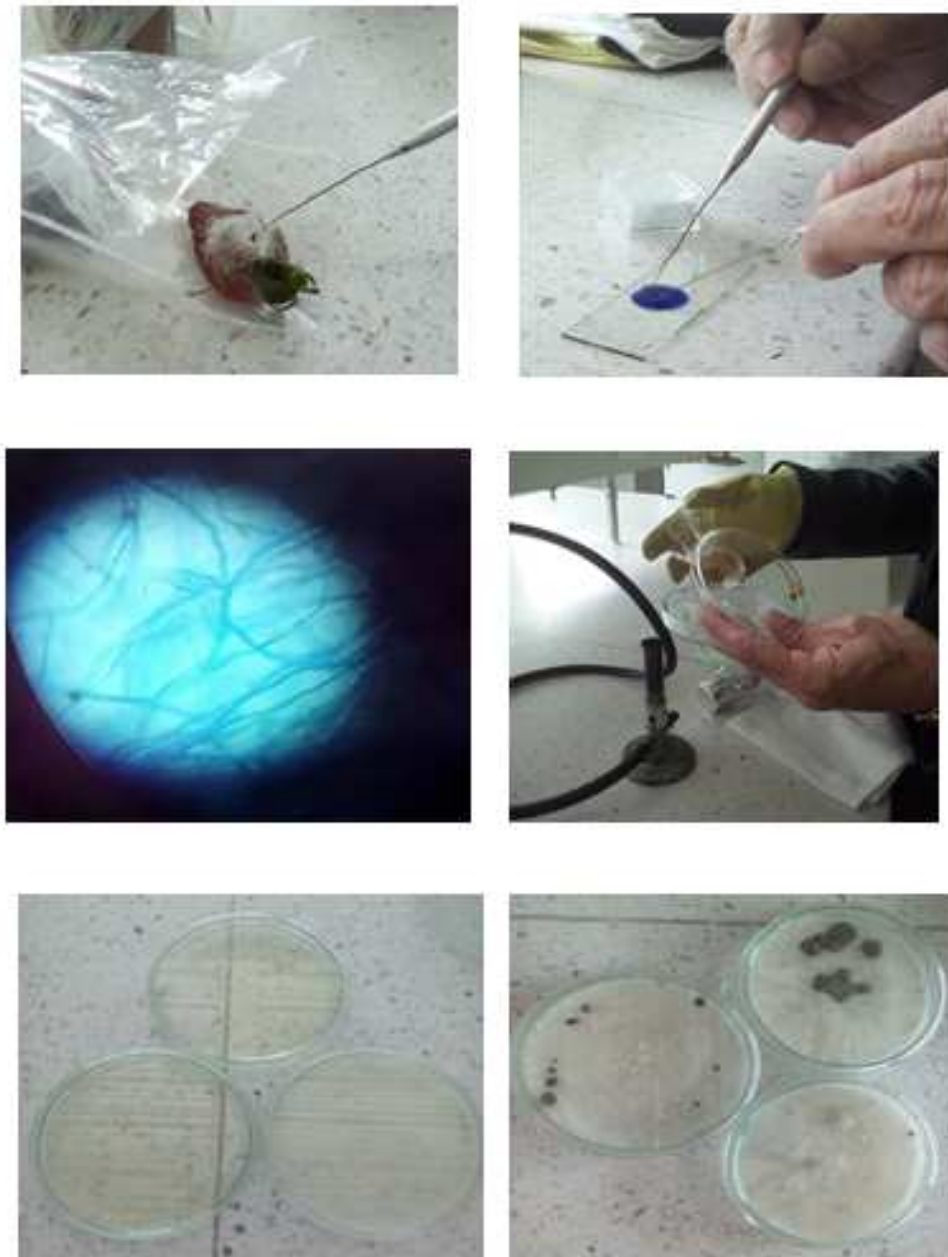


Figura 11. Aislamiento patógeno (*Rhizoctonia sp.*).

Fuente: Esta investigación

4.6.2. Inoculación de frutos con y sin recubrimiento.

Se seleccionaron fresas (*Fragaria* spp.), provenientes de la zona de Catambuco-Nariño, los cuales fueron recolectadas, con un índice de madurez (IM) comercial, sin daños o defectos. Los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a 30 ppm, posteriormente se recubrieron por aspersión manual, se inocularon todos los frutos, excepto los testigos. Se realizó una herida para inocular el patógeno, en la zona ecuatorial del fruto (sin perforar la pulpa, para simular la inoculación natural) de 1.5 mm de profundidad y 1 mm de diámetro. Con una micropipeta se inocularon 20 μ L de suspensión. Después de inoculados se dejaron a temperatura ambiente hasta el siguiente día posteriormente se acondicionaron en almacenamiento de 1 y 2 semanas, a temperatura ambiente: las cajas, se dejaron, en promedio, a 23°C. (Figura 13).



Figura 12. Desinfección de fresa (*Fragaria spp.*).

Fuente: Esta investigación

4.7 Evaluación sensorial.

La prueba sensorial de preferencia se realizó con 30 estudiantes de octavo semestre de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño, los cuales cursaban la asignatura agroindustria alimentaria I. quienes fueron seleccionados como juez consumidor puesto que este tipo de jueces son utilizados para realizar pruebas afectivas, prueba que fue la que se utilizó para esta investigación. Los resultados de preferencia fueron evaluados por el método escala hedónica propuesta por Anzaldúa, (1994), donde se calificaron las características de color, olor, sabor y aceptabilidad según la escala: me gusta mucho = 5, me gusta = 4, me es indiferente = 3, me disgusta = 2, y me disgusta mucho = 1. (Figura 14).



Figura 13. Evaluación sensorial.

Fuente: Esta investigación

5. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Efecto de las condiciones de extracción de pectina.

La figura 15 muestra la influencia de cada uno de los parámetros evaluados sobre el rendimiento en la extracción de pectina. Los parámetros temperatura, relación muestra: solvente y tiempo presentan efecto significativo sobre la variable de respuesta rendimiento (p-valor <0.05). conforme aumentaron, el rendimiento aumentó. No obstante, no se evidenció efecto significativo del pH sobre el rendimiento, pese a ello, se observó un efecto negativo al aumentar el pH el rendimiento disminuye (Anexo 1).

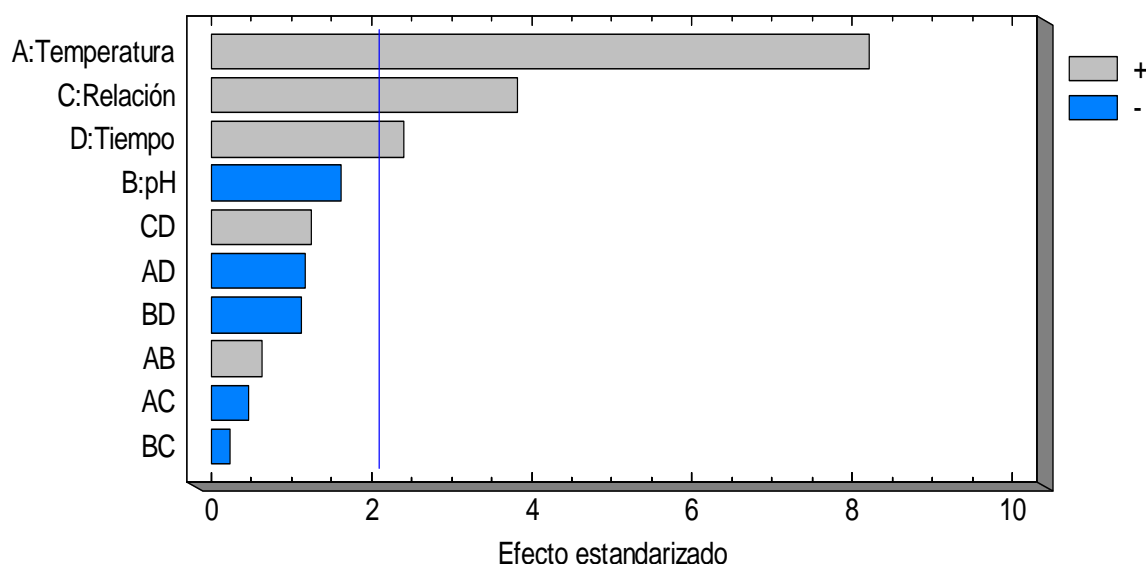


Figura 14. Estimación de los efectos principales que afectan el rendimiento.

Chávez, (2003) concluyó encontrar un mayor rendimiento empleando una temperatura de 90°C y en un rango de pH de 1.5 a 2.0. en comparación con las extracciones realizadas a 60 °C, confirmando el efecto de la temperatura sobre el rendimiento. De igual manera, los valores de rendimiento encontrados por dicho autor, son similares a los de esta investigación; bajo condiciones de 90 °C y pH de 2 mencionado autor alcanzo un rendimiento de 15.1 %, en

comparación con 15.03 % alcanzado bajo condiciones de 70 °C y pH 1. Al analizar las condiciones de extracción y evidenciar resultados similares, se puede afirmar que la iteración temperatura-pH no presenta efecto significativo como se evidenció en la figura 15.

Así mismo, Alvarez, (2012) encontró que el tiempo hidrólisis presentan efecto significativo sobre el rendimientos. Respecto del efecto significativo de la relación material: solvente, según Maldonado, Salazar, Millones, Torres, & Vásquez, (2010) el empleo de relaciones menores no permite continuar con el proceso, debido a la alta viscosidad de la solución péctica, confirmando que el uso de relaciones mayores permite una mayor extracción (Alvarez, 2012).

Por otra parte, Devia, (2003) señaló no evidenciar diferencias significativas en la extracción de pectina realizada entre pH de 1 a 3, lo cual concuerda con los resultados de esta investigación. Sin embargo, Vasquez et al., (2008) reportó un incremento del rendimiento con la disminución del pH, observándose el valor más alto a pH 2.0 con 20.68 % en comparación con pH 3.0 con 7.65 % en la extracción de pectina de cascara de plátano. La prueba de medias por Tukey indicó que esta diferencia en el rendimiento fue significativa (p-valor < 0.05). conclusión similar encontró Arellanes et al., (2011) en la extracción de pectina de cascara del cambur manzano; la extracción fue superior cuando se utilizó ácido cítrico como agente de extracción, obteniéndose el mayor rendimiento, 16.14%, a pH 2.0 en comparación con 6.64 % a pH de 3. Las afirmaciones de estos autores evidencian cambios significativos al utilizar pH de 3. Sin embargo, el rango de evaluación de esta investigación estuvo entre pH de 1 a 2, explicando el no efecto significativo del pH.

5.2. Optimización de los factores del proceso.

La (Figura 16) de superficie de respuesta, obtenida mediante el diseño factorial completo (2⁴) de cuatro factores a dos niveles, se determinó que las condiciones que permiten obtener el mejor rendimiento de extracción de pectina son: temperatura (70 °C), pH (1.0), tiempo (2 horas),

relación muestra: solvente (1:20). Esta combinación de factores logró obtener un rendimiento de 15.03 %, superior en un 9.70 % respecto de los resultados de Alvarez, (2012) bajo las condiciones de: temperatura (75 °C), pH (1.0), tiempo (1 horas), relación muestra: solvente (1:20). Así mismo, son superiores a los valores obtenidos por Chávez, (2003) quien encontro en cascaras de naranja verde rendimientos del 13.8 % mientras que en cascara de naranja madura rendimientos del 8.4 % utilizando para extracción ácido citrico para reducir el pH a 1.5 para posteriormente utilizar temperaturas de 90 °C. lo anterior permite inferir que el estado de madurez y el sistema tecnológico empleado para el procesamiento influyen en el % de rendimiento.

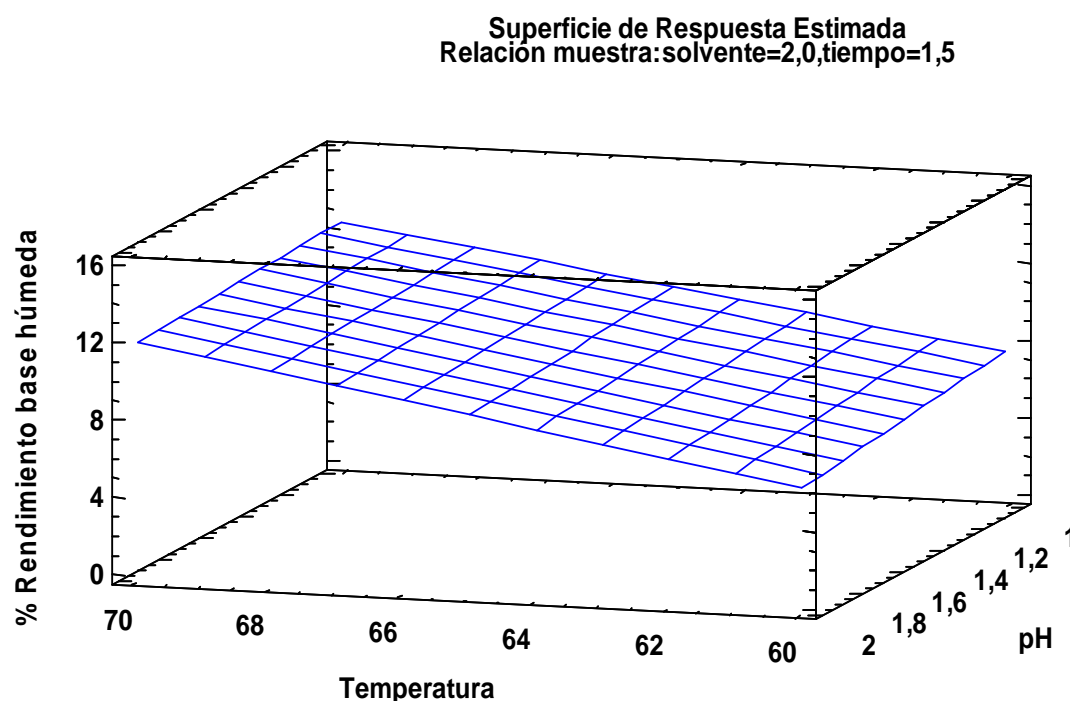


Figura 15. Superficie de Respuesta Estimada.

Además, se obtuvo la (Ecuación 6), la cual responde al rendimiento de la extracción de pectina. Según la prueba de falta de ajuste diseñada para determinar si el modelo seleccionado es

adecuado para describir los datos observados ó si se debería usar un modelo más complicado. La prueba arrojó, que dado que el p-valor en la tabla ANOVA es mayor que 0.05, el modelo parece ser adecuado para los datos observados al nivel de confianza del 95.0%. Así explicando, el 76.87 % de la variabilidad en rendimiento. Sin embargo, Brousse, Vergara, Zubreski, Cruz, & Martos, (2014) mencionan que un buen ajuste es indicado por $R^2 > 85$.

$$\% Re = -29.07 + 0.54 * T - 1.07 * pH + 1.26 * R + 1.59 * t \quad (\text{Ecuación 6})$$

Donde: T: temperatura (°C); R: relación muestra: solvente valores que toma: 1:10 (1), 1:15 (2), 1:20 (3); t: tiempo (horas).

En la (Tabla 9) se muestra los valores experimentales y los valores estimados a través del modelo matemático

Tabla 9.

Valores estimados a partir del modelo matemático

Temperatura (°C)	pH	*Relación materia: Solvente	Tiempo (h)	Valores Experimentales	Valores Estimados	%Error
65	1,5	2	1,5	13.22	9.51	27,99
70	2	1	2	8.68	11.22	29,34
60	1	1	1	5.01	5.28	5,45
70	2	3	1	10.97	12.17	10,94
70	1	1	1	10.92	10.71	1,90
70	2	3	2	11.78	13.75	16,78
60	2	1	1	4.65	4.21	9,45
70	2	1	1	9.72	9.64	0,82
65	1,5	2	1,5	9.01	9.51	5,66
70	1	3	1	12.54	13.24	5,60

* 1 (1:10), 2 (1:15), 3 (1:20)

El ajuste de los datos experimentales mostró que el modelo matemático no describe adecuadamente el porcentaje de rendimiento, como lo muestran los valores E %; según Cerón,

Osorio, & Garcés, (2016) un buen ajuste es indicado $E \% < 10 \%$. Una explicación del fenómeno observado es el tipo de diseño experimental empleado, el cual tiene como objetivo identificar el efecto de los factores en estudio; siendo necesario la utilización de un diseño bajo la metodología de superficie de respuesta que permita optimizar los resultados obtenidos y obtener un modelo matemático que describa mejor el rendimiento.

5.3. Caracterización pectina obtenida.

Bajo las mejores condiciones de extracción, se obtuvo pectina cítrica la cual fue caracterizada según los parámetros descritos en la metodología.

En la (Tabla 10) se muestra los resultados de la caracterización. Al comparar las muestras de pectinas se evidenció diferencias estadísticamente significativas (p -valor < 0.05) para el peso equivalente. Las diferencias observadas se podrían atribuir a la utilización de una mezcla de albedo y flavedo en esta investigación, siendo la pectina comercial solo extraída del albedo.

Tabla 10.

Resultados de los parámetros de calidad de la pectina extraída

Tipo de pectina	*Volumen mL	Peso equivalente	Contenido de metoxilo	Grado de esterificación
Pectina comercial	2.60	1923.07±33.18 ^a	6.95±0.72 ^a	77.40±2.14 ^a
Esta investigación	2.80	1785.71±42.23 ^b	6.18±0.82 ^a	71.67±3.82 ^a

*volumen gastado de NaOH en la titulación; Letras no comunes implican diferencias entre promedios, según prueba de LSD de Fisher a un 95% de confianza.

Al comparar los resultados, de peso equivalente encontrados, con los reportados por otros autores, estos son inferiores, Campo et al., (2016) reportó un peso equivalente de 2288.3 para la pectina extraída de cascara de maracuyá; mientras que Chacín, Marín, & D'Addosio, (2010)

reportaron valores de 2583.33 para pectina extraída de guayaba redonda. Arellanes et al., (2011) señala que el peso equivalente, indica la firmeza de un gel. A mayor peso equivalente mayor será la fuerza del gel.

Respeto al contenido de metoxilo, al comparar los resultados obtenidos con los presentados por Cerón & Cardona, (2011) son superiores, dichos autores reportaron valores de 1.80 % para pectina extraída de cascara de naranja, mientras que Campo et al., (2016) reporto valores superiores a 6 % para la pectina extraída de cascara de maracuyá. Así mismo, Vasquez, Ruesga, Daddosio, Páez, & Marín, (2008) citan varios autores que reportan valores de 2.22 % para pectina extraída de cascara de plátano, 9.36 en kiwi y 10.97 % en corteza de parchita. Sin embargo, Arellanes et al., (2011) menciona que el contenido de metoxilo encontrado en este estudio, es considerado como bajo, ya que este es menor al 7 %. Sin embargo, según observaciones de Zegada, (2015) los valores de contenido de metoxilo no pueden tomarse de referencia para determinar si la pectina es de alto o bajo metoxilo. Dicho autor menciona que mediante el grado de esterificación se determinará el tipo de pectina siendo los valores encontrados superiores al 70 % clasificándose como pectina de alto metoxilo.

Por otra parte, las investigaciones de Arellanes et al., (2011) y Zegada, (2015) mostraron que el pH de extracción no tiene efecto significativo sobre el contenido de metoxilos. Siendo de esta manera las condiciones de esta investigación adecuadas para la extracción.

5.4. Caracterización aceite esencial (*Citrus sinensis* L.).

5.4.1. Determinación rendimiento y densidad.

Se encontró un rendimiento del 0.227 ± 0.03 % partiendo de 15 kg de cascara de naranja fresca y una densidad de 0.849 ± 0.04 g/mL a 20 °C. Los resultados de Rueda Yañez, Lugo Mancilla, & Parada Parada, (2013) son similares, obtuvieron un rendimiento promedio del 0.2 %, producto de tres extracciones sucesivas y la densidad promedio fue de 0.8450 g/mL, dichos

resultados concuerdan con los valores obtenidos para esta investigación. Sin embargo, los rendimientos encontrados por Alvarez,(2012) son mayores 0.492 % y 0.328 %. Una explicación del mayor rendimiento es la tecnología empleada por dicho autor quien trituró el material, posteriormente lo humectó con 1 litro de una solución al 5% (p/v) de cloruro de sodio (NaCl, comercial) (Relación peso/volumen 1:1) para que durante el proceso de calentamiento se produzca un efecto salting-out y mejorar la liberación de los compuestos orgánicos volátiles y posteriormente cargar el material molido en un hidroddestilador. En comparación con la técnica de arrastre con vapor utilizada en esta investigación donde no se realizó pre tratamiento al material vegetal. Así mismo, el empleo de tecnologías como la hidroddestilación asistida por microondas permite obtener rendimientos de entre 0,51 y 0,42 % (León Méndez, Osorio Fortich, & Martínez Useche, 2015).

5.4.2. Análisis de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases.

El cromatograma (Anexo 2) mostró 21 señales, inferior a los resultados obtenidos por Alvarez, (2012) quien identificó 84 compuestos, de los cuales limoneno fue el más representativo encontrando en un porcentaje relativo de entre 55 y 93 %, siendo este resultado comparable con el valor obtenido en esta investigación (Tabla 11). Sin embargo, Rueda Yañez et al., (2013) reportaron valores de 90.93 % y (I. Cerón & Cardona, 2011) valores de 90.967 %, la explicación de la baja cantidad identificada, es atribuida al método de tratamiento del material vegetal para la extracción del aceite esencial y la variedad del material vegetal empleado (Alvarez, 2012). Pese a ello, (Cerón & Cardona, 2011) consideran que la extracción con arrastre de vapor permite obtener aceites esenciales de buena calidad , siendo este aceite una barrera toxica natural para muchos microorganismos e insectos.

Tabla 11.**Principales componentes identificados del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis L.*)**

Número	Posible Compuesto	% Relativo
1	α -pineno	1.16
2	β -felandreno	1.43
3	β -mirceno	3.36
4	Octanal	8.55
5	L-Limoneno	61.41
6	1-Octanol	3.38
7	Linalool	9.73
8	Citronela	0.30
9	4-metil-1-(1-metileti)-3-Ciclohexenol	0.17
10	Decanal	2.96
11	E-Citral	0.75
12	2-Decenal	0.29
13	3,7-dimetil-2,6-octadienal	0.92
14	1-P-Menten-8-il-acetato	1.21
15	Geranil acetato	0.13
16	Butanoico acido , octil ester	0.12
17	Dodecanal	0.23
18	trans-cariofileno	0.18
19	Aloaromadendreno	0.31
20	Valenceno	0.33
21	10-Dodecinol	0.21

Rico, Gutiérrez, & Diaz, (2012) mencionan que el limoneno posee acción bactericida y fungicida, presentando el aceite de cascara de naranja acción moderada frente ambos grupos de microorganismos. Así mismo, (Tepe et al., 2006) señala que componentes como limoneno, linalool o citral, presentan actividad anti fúngica. Compuestos encontrados en esta investigación.

5.5. Obtención de una formulación de recubrimiento comestible a partir de pectina y aceite esencial.

Mediante el diseño experimental propuesto (Tabla 12) se seleccionaron algunas corridas experimentales teniendo en cuenta las características visuales; estas fórmulas presentan una adecuada formación de película (más transparentes y con brillo), presentan una adecuada adherencia al vidrio cuando están secas, no forman aglomerados sólidos significativos. Otras

formulaciones presentan defectos que se derivan de incompatibilidades a las cantidades de componentes utilizados y por este motivo se descartaron.

Tabla 12.





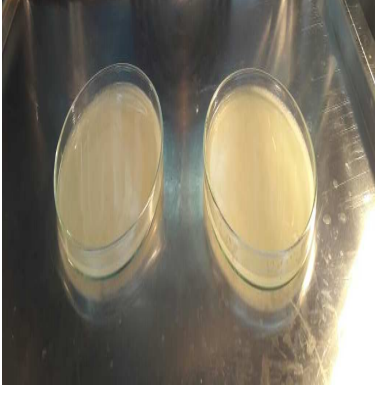

Formación de película composite.

Tratamiento	Pectina (g)	Sorbitol (g)	Aceite esencial (%)	formación de película
1	2	2	0.5	1
2	4	1	0.5	0
3	3	1.5	0.75	2
4	2	1	0.5	0
5	4	2	1	0
6	4	1	1	0
7	2	1	1	1
8	2	2	1	1
9	4	2	0.5	1
10	3	1.5	0.75	2

Dónde: 0: no formo película; 1: formo película sin adherencia al vidrio; 2 : formo película con adherencia al vidrio

En la (Figura 17) se presenta el aspecto de las formulaciones evaluadas, siendo el tratamiento 10 quien permitió obtener un recubrimiento comestible con buena capacidad de formación de película.

Figura 16. Características de las formulaciones del recubrimiento comestible con actividad Antifúngica.

Tipo de película	Húmedo	Seco	Característica
0			No forma película, color amarillo opaco, quebradisa
1			Formación de película, color amarillo sin adherencia al vidrio
2			Formación completa de película, color transparente con adherencia al vidrio

5.6. Aplicación del recubrimiento comestible con actividad antifúngica.

Como se observó en la (Figura 17) la formulación del tratamiento 10 presentó buenas propiedades cosméticas.

En la (Figura 18) se muestra la impregnación del recubrimiento en la fresa, presentando buena adherencia y resistencia. Al tacto, no se percibieron sensaciones adherentes y visualmente los frutos realzaron sus brillantes. Sin embargo, el uso de lípidos desarrollan una superficie cerosa y blanca en las muestras (Han, Lederer, McDaniel, & Zhao, 2005), lo cual podría provocar rechazo en la evaluación sensorial.

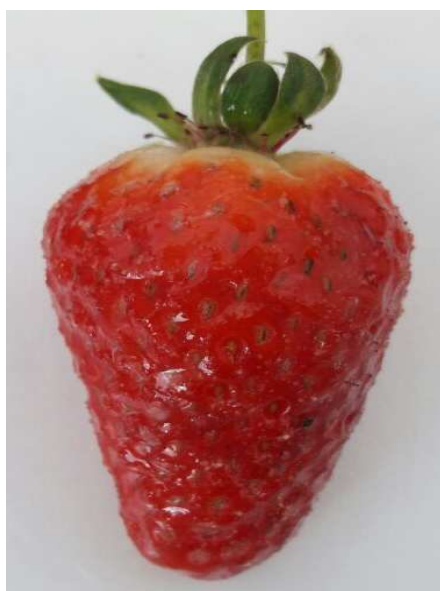


Figura 17. Fresa impregnada con recubrimiento con actividad antifúngica

Fuente: esta investigación

5.7. Actividad antifúngica in vivo de recubrimientos.

Se evaluó la capacidad antifúngica de la formulación del recubrimiento comestible final. Aunque la actividad fungistática de los aceites esenciales de cítricos *in vitro* está ampliamente demostrada contra patógenos poscosecha (Daferera et al., 2000); en condiciones de comercialización no es fácil obtener el mismo control sobre organismos patógenos. Alvarez,

(2012) señala que el efecto in vivo, puede depender de una cantidad de factores externos como el índice de madurez, la temperatura, humedad relativa y las condiciones ambientales de origen de los frutos entre otras.

Como se observa en la (Figura 19) el recubrimiento con incorporación de aceite esencial presento un efecto inhibitorio efectivo sobre el patógeno inoculado respecto del testigo durante 8 días a 18 °C y una dosis de 0.75 % de aceite esencial. Resultados similares, reportaron Barrera, Gil, García, Durango, & Gil,(2012) puesto que en su investigación se inhibió el crecimiento de hongos postcosecha como *C. gloeosporioides*, *P. indicum*, *F. solani*, *R. stolonifer* y *A. flavus* en los frutos de (*Carica papaya* L.) durante los primeros 7 días de almacenamiento a 28 ± 2 °C y entre 65 y 70% de HR. Mientras que Guedez et al., (2014) obtuvo una efectiva inhibición en el crecimiento micelial de los hongos poscosecha y redujo las pudriciones considerándose como una alternativa de control de hongos poscosecha efectiva y sin contaminantes, tanto preventiva como curativa, capaz de preservar por más tiempo los frutos de lechosa.



Fresas con RC (día 4 de evaluación)



Fresas sin recubrimiento (día 4 evaluación)



Fresas con RC (día 8 de evaluación)

Figura 18. Efectos de la aplicación in vivo del recubrimiento sobre la fresa.

Fuente: esta investigación

Respecto del efecto del recubrimiento sobre el comportamiento poscosecha de la fresa, varios autores coinciden que recubrimientos con las características mixtas hidrocoloides y lípidos que aprovechan las ventajas de cada grupo y disminuyen los inconvenientes. En general, los lípidos aportan resistencia al vapor de agua y los hidrocoloides, permeabilidad selectiva al O_2 y CO_2 (Figuroa et al., 2011), si embargo en esta investigación lo anteriormente mencionado no se evaluó.

5.8. Evaluaciones sensoriales.

De acuerdo a la evaluación sensorial de las fresas con recubrimiento fueron calificadas con un puntaje o valor promedio igual a 4.02 que corresponde al segmento hedónico "Me gusta" con una

aceptabilidad superior al 60% en las características olor, color, sabor y aceptabilidad (Figura 20). Sin embargo, no se encontró diferencias estadísticamente significativas respecto del testigo sin recubrimiento. Ramosa et al., (2010) reportan que la aplicación de pequeñas cantidades de aceite esencial no afecta los atributos de calidad, pudiendo considerar la cantidad utilizada en esta investigación como adecuada; aun así, la utilización de jueces no entrenados condujo a resultados con alta variabilidad; algunos jueces describieron percibir las características del aceite esencial en el olor y sabor, siendo las calificaciones bajas respecto del testigo.

Respecto del color se obtuvo una calificación mayor en comparación con el testigo, debido a que el componente lipídico del recubrimiento resalto el color, siendo este atractivo para los panelistas, Mercado, Reyes, & Robles, (2014) señala que las cubiertas cerosas mejoran la apariencia al aumentar el brillo. Sin embargo, para jueces entrenados el uso de lípidos como la vitamina E desarrollan una superficie cerosa y blanca en las muestras, conduciendo al castigo por el panel (Han, Lederer, McDaniel, & Zhao, 2005), pese a ello, Marquez, Cartagena, & Peres, (2009) en su estudio mencionan no haber encontrado diferencias significativas entre los frutos recubiertos y los frutos control, utilizando quitosano y sucroéster de ácidos grasos. Así mismo, Estrada, Padilla, & Márquez, (2015) no evidenciaron diferencia estadísticamente significativa en la calidad sensorial total, utilizando una solución de almidón de yuca y pectina cítrica, permitiendo afirmar que recubrimientos con características hidrofílicas no afectan la calidad sensorial.

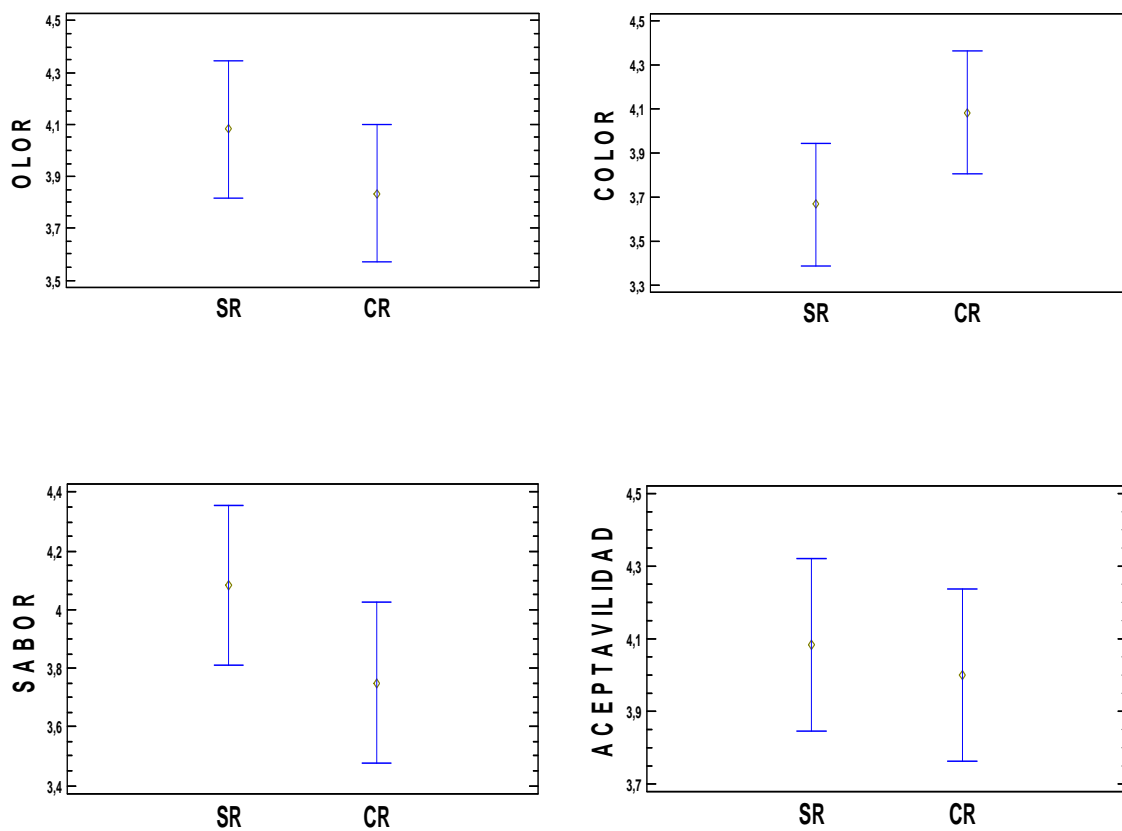


Figura 19. Diagrama de media e intervalos al 95 % de la LSD de Fisher para las variables olor, color, sabor y aceptabilidad.

Fuente: esta investigación

Autores como, Saavedra & Algecira, (2010) menciona que la aplicación de películas comestibles mejoran la calidad sensorial y el mantenimiento de otros parámetros de calidad de la fruta en buenas condiciones.

6. CONCLUSIONES

Se determinó influencia significativa de los parámetros temperatura, relación muestra: solvente y tiempo sobre la variable de respuesta rendimiento (p-valor <0.05). conforme aumentaron, el rendimiento aumento.

No se evidenció efecto significativo del pH sobre sobre el rendimiento, sin embargo, se observó un efecto negativo al aumentar el pH el rendimiento disminuye.

Es posible obtener pectina con buenas propiedades gelificantes a partir de residuos cítricos (cáscara de naranja) con un rendimiento de 15.03 %, mediante extracción en medio ácido con ácido cítrico a pH 1.0; temperatura de 70 °C y un tiempo de hidrólisis de 2 horas.

La pectina evaluada se clasificó de acuerdo grado de esterificación (> 70 %) como pectina de alto metoxilo, La pectina obtenida en el estudio posee características competitivas dentro de su tipo para ser destinada en la industria de alimentos.

Se encontró un rendimiento del 0.227 % de aceite esencial de cascara de naranja (*Citrus sinensis* L.) utilizando la tecnología de arrastre con vapor, el aceite presento una densidad de 0.85 g/mL a 20 °C, siendo el compuesto mayoritario identificado limoneno con una cantidad relativa de 61.41 %.

Se determinó que una formulación Pectina: 7.5 % Sorbitol: 3.75%, Aceite esencial: 0.75%, Cera de abeja: 2.0%, presenta buena formación de película, color transparente y buena adherencia a vidrio.

Se determinó que el recubrimiento con incorporación de aceite esencial fue significativamente efectivo respecto del testigo durante 8 días a 18 °C y una dosis de 0.75 % de aceite esencial, en comparación con los 4 días en los cuales el testigo presento crecimiento del hongo *Rhizoctonia sp.*

Las fresas con recubrimiento fueron calificadas con un puntaje o valor promedio igual a 4.02 que corresponde al segmento hedónico "Me gusta" con una aceptabilidad superior al 60% en las características olor, color, sabor y aceptabilidad.

Algunos jueces describieron percibir las características del aceite esencial en el olor y sabor, siendo las calificaciones bajas respecto del testigo. Mientras que el color obtuvo una calificación mayor en comparación con el testigo, debido a que el componente lipídico del recubrimiento aumentó el brillo.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar la extracción de pectina mediante un diseño experimental, bajo la metodología de superficie de respuesta, que permita optimizar los niveles de los factores: temperatura, relación muestra: solvente y tiempo. Obteniendo el modelo matemático que describa al porcentaje de rendimiento.

Se recomienda evaluar las formulaciones de los recubrimientos comestible a través de sus propiedades mecánicas (tensión, elongación, rigidez, etc.) mediante el uso del texturometro y las mordazas pertinentes.

Se recomienda evaluar otro tipo de aceite esencial sobre la fresa (*Fragaria* spp) de tal forma que no confieran olor y sabor, características a la naranja (*Citrus sinensis* L.).

Se recomienda evaluar y comparar otras técnicas de extracción de aceites que permitan maximizar la extracción de limoneno, siendo el compuesto de interés en el aceite de cascara de naranja (*Citrus sinensis* L.).

Se recomienda incluir dentro del pensum asignaturas relacionadas con técnicas analíticas (HPLC, GC, etc.) así como los diferentes detectores utilizados para la identificación de compuestos.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez, R. (2012). *Formulación de un recubrimiento comestible para frutas cítricas, estudio de su impacto mediante aproximación metabolómica y evaluación de la calidad poscosecha*. Tesis de Doctorado. Universidad de Antioquia.
- Anzaldúa, A. (1994). *Análisis sensorial de alimentos*.
- Arango, O., Bolaños, F., Villlota, O., Hurtado, A., & Toro, I. (2012). Optimización del rendimiento y contenido de timol de aceite esencial de orégano silvestre obtenido por arrastre con vapor. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 10(2), 217–226.
- Arellanes, A., Jaraba, M., Marmol, Z., Paez, G., Mazzarri, C., & Rincon, M. (2011). Obtencion y caracterizacion de pectina de la cascara del cambur manzano (Musa AAB). *Revista de La Facultad de Agronomia*, 28(4), 523–539.
- Barazarte, H., Sangronis, E., & Unai, E. (2008). La cascara de cacao (Theobroma cacao L.): Una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 58(1), 64–70.
- Barrera, E., Gil, M., García, C., Durango, D., & Gil, J. (2012). Empleo de un Recubrimiento Formulado con Propóleos para el Manejo Poscosecha de Frutos de Papaya (Carica papaya L . cv . Hawaiana). *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 65(1), 6497–6506.
- Becerra, J., Bittner, M., Hernandez, V., Brintrup, C., Becerra, J., & Silva, M. (2016). Actividad de aceites esenciales de Canelo , Queule , Bailahuén y Culén frente a hongos fitopatógenos. Actividad de aceites esenciales de Canelo , Queule , Bailahuén y Culén. *Boletín Latinoamericano Y Del Caribe de Plantas Medicinales Y Aromáticas*, 9(3), 212–215.
- Beltrán, A., Ramos, M., & Alvarez, M. (2010). Estudio de la vida útil de Fresas (Fragaria vesca) Mediante Tratamiento con Radiación Ultravioleta de Onda Corta (UV-C). *Revista*

Tecnológica ESPOL – RTE, 23(2), 17–24.

Brousse, M., Vergara, M., Zubreski, E., Cruz, N., & Martos, M. (2014). Cinética de absorción de agua de tejidos de mandioca macerados con una poligalacturonasa microbiana. *RECyT*, 16(22), 53–57.

Cáceres, T., Mulkay, T., Rodríguez, J., Paumier, A., Sisino, A., Castro, T., ... Bango, G. (2003). Influencia del encerado y tratamiento térmico en la calidad post- cosecha del mango. *Revista Simiente*, 73(1–2), 25–29.

Cagri, A., Ustunol, Z., & Ryser, E. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of Food Protection*, 67, 833–848.

Campo, Y., Villada, D., & Meneses, J. (2016). Efecto del pre-tratamiento con ultrasonido en la extracción de pectina contenida en el albedo del maracuyá (*Passiflora edulis*). *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 14(1), 103.

[https://doi.org/10.18684/BSAA\(14\)103-109](https://doi.org/10.18684/BSAA(14)103-109)

Cano, M. A. (2014). Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2), 263–276. Retrieved from http://revistas.uptc.edu.co/revistas/index.php/ciencias_horticolas/article/view/2240

Casierra, F., Peña, J., & Vargas, A. (2011). Propiedades Físicoquímicas de Fresas (*Fragaria* sp) Cultivadas Bajo Filtros Foselectivos. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín*, 64(2), 6221–6228.

Ceron, A., Osorio, O., & Bucheli, M. (2014). Elaboración de galletas a base de harina de papa de la variedad parda pastusa (*Solanum tuberosum*). *Acta Agronómica*, 63(2), 101–109.

<https://doi.org/10.15446/acag.v63n2.39575>

Cerón, A., Osorio, O., & Garcés, L. (2016). Procesamiento de Arvejas (*Pisum sativum* L.). Parte 2: Cinética de Absorción de Agua en Semillas de Arveja, variedad San Isidro y Sureña.

Informacion Tecnologica, 27(1), 81–90. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000100010>

- Cerón, A., Osorio, O., & Hurtado, A. (2012a). Identificación de ácidos grasos contenidos en aceites extraídos a partir de semillas de tres diferentes especies de frutas. *Acta Agronómica*, 61(2), 126–132.
- Cerón, A., Osorio, O., & Hurtado, A. (2012b). Identificación de ácidos grasos presentes en el aceite extraído a partir de semillas de guanábana (*Annona muricata*). *Revista de Ciencias Agrícolas*, 29(1), 81–87. Retrieved from <http://revistas.udenar.edu.co/index.php/rfacia/article/view/370>
- Cerón, I., & Cardona, C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cáscara de naranja. *Ingeniería Y Ciencia - Ing.cienc.*, 7(13), 65–86. Retrieved from <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/401>
- Chacín, J., Marín, M., & D'Addosio, R. (2010). Evaluación del contenido de pectina en diferentes genotipos de guayaba de la zona sur del Lago de Maracaibo. *Multiciencias*, 10(1), 7–12. Retrieved from <http://produccioncientifica.luz.edu.ve/index.php/multiciencias/article/view/16796>
- Chaillou, L., Herrera, H., & Maidana, J. (2004). Estudio del propoleos de santiago del estero, argentina. *Ciencia Y Tecnologia Alimentaria Campinas*, 24(1), 11–15.
- Chambi, H. N. M., & Grosso, C. R. F. (2011). Mechanical and water vapor permeability properties of biodegradable films based on methylcellulose, glucomannan, pectin and gelatin. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 31(3), 739–746. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612011000300029>
- Chávez, J. (2003). Extracción de pectina a partir de cáscara de “naranja criolla” (*Citrus aurantium L.*) proveniente de la Provincia de Rodríguez de Mendoza. *Investigaciones Amazonenses*, 3(1), 24–26.

- Daferera, D., Ziogas, B., & Polissiou, M. (2000). GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem*, 48(6), 2576–2581.
- Devia, J. (2003). Proceso Para Producir Pectinas Citricas. *Revista Universidad EAFIT*, 129, 21–30.
- Estrada, E., Padilla, F., & Márquez, C. (2015). Efecto de recubrimientos protectores sobre la calidad del mango (*Mangifera indica L.*). *Revista UDCA Actualidad Y Divulgación Científica*, 18(1), 181–188.
- Figuerola, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R., & Narvaez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y Perspectiva al uso del propóleo en su formulación. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.*, 3(2), 386–400.
- Fishman, M., Chau, H., & Hoagland, P. (2000). Characterization of orange pectin extracted by microwave heating under pressure. *Carbohydrate Research*, 323, 126–138.
- Guedez, C., Cañizales, L., Avedaño, L., Scorza, J., Castillo, C., Olivar, R., ... Sanchez, L. (2014). Actividad antifúngica del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis L.*) sobre hongos postcosecha en frutos de lechosa (*Carica papaya L.*) Clemencia. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 34, 81–85.
- Han, C., Lederer, C., McDaniel, M., & Zhao, Y. (2005). Sensory Evaluation of Fresh Strawberries (*Fragaria ananassa*) Coated with Chitosan-based Edible Coatings. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, 70(3).
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Joye, D., & Luzio, G. (2000). Process for selective extraction of pectins from plant material by differential pH. *Carbohydrate Polymers*, 43(4), 337–342. <https://doi.org/10.1016/S0144->

8617(00)00191-0

- León Méndez, G., Osorio Fortich, M. del R., & Martínez Useche, S. U. (2015). Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de *Citrus sinensis* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(4), 742–750.
- Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. S. Ñ. (2005). Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT Food Science and Technology*, 38, 617–624.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.007>
- Maldonado, Y., Salazar, S., Millones, C., Torres, E., & Vásquez, E. (2010). Extracción de pectina mediante el método de hidrólisis ácida en frutos de maushan (*Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V. M. Badillo) provenientes del distrito de San Miguel de Soloco, región Amazonas. *Rev. Aporte Santiaguino*, 3(2), 177–184.
- Marquez, C., Cartagena, J., & Peres, M. (2009). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero Japonés (*Eriobotrya japonica* T.). *Vitaée*, 304–310.
- Mejía Giraldo, L. F., Martínez Correa, H. A., Betancourt Gutiérrez, J. E., & Castrillón Castaño, C. E. (2007). Aprovechamiento del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) en la obtención de azúcares fermentables. *Ingeniería Y Ciencia - Ing.cienc.*, 3(6), 41–62. Retrieved from
<http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/440>
- Mercado, J., Reyes, I., & Robles, J. (2014). Efecto del recubrimiento con ceras comestibles en fruto de papaya (*Carica papaya* L.) sobre su calidad durante el almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 15(1), 31–40.
- Navarrete, C., Gil, J., Durango, D., & Garcia, C. (2009). Extracción y caracterización del aceite esencial de manarina obtenido de residuos agroindustriales. *Dyna*, 162(1), 85–92.
- Omaña, M., Cortes, F., Isáza, C., & García, A. (2010). isotermas de sorción de agua en residuos

de extracción de jugo de naranja. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8(1), 61–67.

Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z., & Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18(12), 1518–1523.

<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2006.12.003>

Quintero, J., Falguera, V., & Muñoz, A. (2010a). Películas y recubrimientos comestibles : importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola Films and edible coatings : importance , and recent trends in fruit. *Revista TUMBAGA*, 5, 93–118.

Quintero, J., Falguera, V., & Muñoz, A. (2010b). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista TUMBAGA*, 5(1), 93–118.

Ramosa, M., Bautista, S., & Barrera, L. (2010). Compuestos antimicrobianos Adicionados en recubrimientos comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas. *REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGÍA*, 28(1), 44–57.

Restrepo, J., & Aristizabal, I. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch cv . Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de carnaúba. *VITAE*, 17(3), 252–263.

Rico, F., Gutiérrez, C., & Diaz, C. (2012). Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano y aceites esenciales en la calidad microbiológica de mango (*Mangifera indica* L.) mínimamente procesado. *Vitae*, 19(1), 117–119.

Rodríguez, K., & Roman, A. (2004). *Extracción y evaluación de pectina a partir de la cáscara de naranja de las variedades citrus sinensis y citrus paradisi y propuesta de diseño de planta piloto para su producción.*

Rodríguez, M., Arjona, H. E., & Galvis, A. (2006). Maduración del fruto de feijoa (*Acca*

- sellowiana Berg) en los clones 41 (Quimba) y 8-4 a temperatura ambiente en condiciones de la Sabana de Bogotá. *Agronomía Colombiana*, 24(1), 68–76.
- Rojas, A., Raybaudi, R., Soliva, R., Avena, R., Mchugh, T., & Mart, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples, 45, 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.017>
- Rueda Yañez, X., Lugo Mancilla, L., & Parada Parada, D. (2013). Estudio del aceite esencial de la cascara de la naranja (*Citrus sinensis*, variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *Bistua*, 53(1), 1689–1699.
<https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Saavedra, N., & Algecira, N. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas, 8(14), 171–182.
- Saval, S. (2012). Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales : Pasado , Presente y Futuro. *BioTecnología*, 16(2), 14–46.
- Tamayo, L. M. A., Cartagena, C. J., & Londoño, J. L. (2011). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para mejorar la calidad sensorial y nutricional de productos avícolas. *Use of Agricultural Industry Waste to Improve the Sensory and Nutritional Quality of Poultry Products. (English)*, 6(1), 108–127. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=79660786&lang=es&site=ehost-live>
- Tanada, P., & Grosso, C. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. *Postharvest Biology and Technology*, 36(2), 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.12.003>
- Tepe, B., Akpulat, H. A., Sokmen, M., Daferera, D., Yumrutas, O., Aydin, E., ... Sokmen, A. (2006). Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of

- Pimpinella anisetum and Pimpinella flabellifolia from Turkey. *Food Chemistry*, 97(4), 719–724. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.05.045>
- Trejo, M., Ramos, K., & Pérez, C. (2007). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*fragaria vesca* l.) almacenada en refrigeración. V *Congreso Iberoamericano de Tecnología Poscosecha Y Agroexportaciones*, 123, 230–239.
- Vasquez, R., Ruesga, L., Daddosio, R., Páez, G., & Marín, M. (2008). Extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano (*Musa AAB*, subgrupo plátano) clon Hartón. *Revista de La Facultad de Agronomía (LUZ)*, 25, 318–333. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182008000200008&script=sci_arttext%5Cnpapers://bfb735b2-7a9b-47f1-b986-223dfb0fe8c3/Paper/p1433
- Vazquez, B., & Guerrero, B. (2013). Recubrimiento de frutas con biopelículas. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(2), 5–14. Retrieved from <http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Vazquez-Briones-et-al-2013.pdf>
- Villareal, Y., Mejía, F., Osorio, O., & Cerón, F. A. (2013). Características Sensoriales Y Contenido De Vitamina C En Jugos De Frutas. *Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 11(2), 66–75.
- Yepes, S., Montoya, L., & Orozco, F. (2008). Valorización de residuos agroindustriales – frutas – en medellín y el sur del valle del aburrá, colombia. *Rev.Fac.Nal.Agr.Medellìn*, 61(1), 4422–4431.
- Zegada, V. (2015). Extracción de pectina de residuos de cáscara de naranja por hidrólisis ácida asistida por microondas (hmo). *Investigación & Desarrollo*, 1(15), 65–76.

ANEXOS

Anexo 1.**Rendimiento en la extracción de pectina cítrica**

Temperatura (°C)	pH	Relación muestra: solvente	Tiempo (h)	% Rendimiento (Base húmeda)	% Rendimiento (Base húmeda)
65	1.5	2	1.5	13.22	44.60
70	2	1	2	8.68	29.28
60	1	1	1	5.01	16.90
70	2	3	1	10.97	37.01
70	1	1	1	10.92	36.84
70	2	3	2	11.78	39.74
60	2	1	1	4.65	15.69
70	2	1	1	9.72	32.79
65	1.5	2	1.5	9.01	30.40
70	1	3	1	12.54	42.31
60	1	1	2	7.23	24.39
60	1	3	2	11.43	38.56
60	2	3	2	10.95	36.94
60	1	3	1	7.64	25.78
70	1	3	2	14.65	49.43
60	2	3	1	7.34	24.76
60	2	1	2	1.33	4.49
70	1	1	2	11.32	38.19
65	1.5	2	1.5	12.98	43.79
70	2	1	2	12.67	42.75
60	1	1	1	3.23	10.90
70	2	3	1	13.03	43.96
70	1	1	1	11.23	37.89
70	2	3	2	14.2	47.91
60	2	1	1	4.02	13.56
70	2	1	1	11.67	39.37
65	1.5	2	1.5	13.06	44.06
70	1	3	1	12.02	40.55
60	1	1	2	8.01	27.02
60	1	3	2	9.33	31.48
60	2	3	2	6.01	20.28
60	1	3	1	5.98	20.18
70	1	3	2	15.03	50.71
60	2	3	1	4.56	15.38
60	2	1	2	7.06	23.82
70	1	1	2	10.23	34.51

Anexo 2.

Cromatograma de aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis* L.).