

# Study of the Behavior of Essential Oils in a Cassava Starch and Gelatin Matrix Applied in Tomatillo

Carranza A.<sup>1</sup>, Salinas M.<sup>1</sup>, Acosta S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, Espol, Km. 30.5 Vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.

*e-mail:* [abcarran@espol.edu.ec](mailto:abcarran@espol.edu.ec); [meyasali@espol.edu.ec](mailto:meyasali@espol.edu.ec); [cacosta@espol.edu.ec](mailto:cacosta@espol.edu.ec)

*Abstract - Covers on fruits aim to extend shelf life time, being able to use for this purpose petroleum derivatives, which currently have limited use. This has led to the search for natural alternatives, using combined raw materials to be applied over the fruit. In the present study a cover was made, applied by aspersion, formed by cassava starch and bovine gelatine in a 50:50 proportion (2% total solids) and glycerol as plasticizer (1:0,25 polymer:glycerol) and the addition to the matrix lemon essential oil (R/L) and aloe vera essential oil (R/A) (25% w/w). Essays were performed on tomatillos (*Solanum betaceum* Cav.) in post-harvest stage at 25°C-80-85%RH, of the same variety, origin, weight and maturity degree. It was prove the extension of shelf life time from 9 days, without cover, to 19 days. To prove the effectiveness of (R/L) and (R/A) essential oils, tomatillos were characterized in some properties such as: weight, humidity, acidity, total solids, vitamin C content, color and texture, and it was concluded that there were no alterations in the fruit. Essential oils antimicrobial activity was also evaluated against *Colletotrichum gloeosporioides* (CG) and *Alternaria* (AL) that were isolated from the same tomatillos and used after 7 days of being planted in potato dextrose agar (PDA), measuring the development of mold halo in the fruit, being determined that the growth of (CG) was 7,57% less in tomatillos with (R/L), while the development of (AL) was 14,94% less with (R/A).*

*Keywords- Biodegradable cover, Texture, Inhibition halo, Colletotrichum gloeosporioides, Alternaria.*

**Digital Object Identifier (DOI):**

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2016.1.1.258>

**ISBN:** 978-0-9822896-9-3

**ISSN:** 2414-6390

# Estudio del comportamiento de aceites esenciales en una matriz almidón de yuca y gelatina aplicado en tomatillo (*Solanum betaceum Cav.*) a temperatura ambiente

Carranza A.<sup>1</sup>, Salinas M.<sup>1</sup>, Acosta S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica del Litoral, Espol, Km. 30.5 Vía Perimetral, Guayaquil, Ecuador. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.

e-mail: [abcarran@espol.edu.ec](mailto:abcarran@espol.edu.ec); [meyasali@espol.edu.ec](mailto:meyasali@espol.edu.ec); [cacosta@espol.edu.ec](mailto:cacosta@espol.edu.ec)

**Resumen**– Las coberturas sobre las frutas tienen como objetivo que se extienda su tiempo de vida útil, pudiendo utilizarse para ello los derivados del petróleo, que en la actualidad tienen restringido su uso. Esto ha llevado a la búsqueda de alternativas naturales, utilizando materias primas, combinadas para ser aplicadas sobre la fruta. En el presente trabajo se elaboró una cobertura, aplicada por aspersión, formada por almidón de yuca y gelatina bovina en proporción 50:50 (al 2% sólidos totales) y como plastificante el glicerol (1:0,25 polímero:glicerol) y la incorporación a esta matriz de aceites esenciales de limón (R/L) y aloe vera (R/A) (25% p/p). Los ensayos se realizaron en tomatillos (*Solanum betaceum Cav.*) en etapa de post-cosecha a 25°C-80-85%HR, de la misma variedad, origen, peso y grado de maduración. Se comprobó la prolongación del tiempo de vida útil de 9 días sin cobertura a 19 días. Para comprobar la eficacia de los aceites esenciales de (R/L) y (R/A), se caracterizaron los tomatillos en las propiedades de: peso, humedad, acidez, sólidos totales, contenido de vitamina C, color y textura, y se concluyó que no hubo alteraciones en la fruta. También se evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites frente al *Colletotrichum gloeosporioides* (CG) y la *Alternaria* (AL) aislados de los tomatillos y utilizados a los 7 días de sembrados en agar Patata Dextrosa (PDA), midiendo el desarrollo del halo del moho en la fruta, determinándose que el crecimiento fue 7,57% menor con el (CG), en los tomatillos con el (R/L), mientras que el desarrollo en la (AL) fue 14,94% menor con el (R/A).

**Palabras clave:** Recubrimiento biodegradable, textura, halo de inhibición, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los biopolímeros se presentan en la naturaleza en dos grupos: El primer grupo incluye a las proteínas (colágeno, queratina, gelatina, pectina, gluten de maíz o de trigo, proteínas de leche o de soya), polisacáridos (almidón, derivados de celulosa, quitosano, alginatos, carreganatos y pectinas), lípidos (ceras, ácidos grasos y monoglicéridos). Y en el segundo grupo están algunos poliésteres producto del metabolismo de las bacterias (polihidroxicanoatos, ácido poliláctico) [1].

En este trabajo se utilizó almidón de yuca con un contenido de amilosa aproximado del 17%, con capacidad de hacer geles más resistentes, con mayor poder de hinchamiento y solubilidad que otros almidones de origen tubérculos, su

elección también está dada por la facilidad de adquisición y costos [1]. Las películas elaboradas con este polisacárido son claras, flexibles transparente y presentan excelente barrera al oxígeno, no tienen buenas propiedades al vapor de agua, cuando se realiza una dispersión, la gelatinización está dada por los puentes de hidrógeno, debido a que se establecen puentes entre los grupos hidroxilo [2,32]. El segundo polisacárido usado fue la gelatina por la facilidad para formar films con características como protección a la luz, buena barrera al oxígeno y con buenas propiedades mecánicas [3]. Una de las maneras de conservar a las frutas frescas son los denominados recubrimientos que son dispersiones formadas por materiales comestibles y biodegradables, que se aplican sobre el alimento formando una capa delgada a manera de film con el objetivo de proteger microbiológicamente y de daños mecánicos y de esta manera lograr prolongar su vida útil, debido a que permiten una transferencia selectiva de gases, vapor de agua y compuestos aromáticos, retardando la senescencia [4,25].

Una forma de conseguir que estos recubrimientos obtengan propiedades activas es mediante la incorporación de agentes activos con propiedades antioxidantes como los ácidos ascórbico, cítrico, glutatión, cisteína, entre otros con el fin de retardar o prevenir la oxidación de los compuestos propios de la fruta. Entre los compuestos con propiedades antimicrobianas más comúnmente empleados están los ácidos orgánicos, quitosano, polipéptidos como la nisina, lactoperoxidasas, extractos de plantas y aceites esenciales [5,6]. Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas, mezclas complejas en cuya composición se encuentran los hidrocarburos como terpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos junto con otros compuestos casi siempre oxigenados como alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos y que son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales [7,28]. Los aceites esenciales se encuentran en diferentes partes de la planta, por ejemplo: en las hojas (albahaca, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (cálamo, valeriana, etc.), en la corteza (canela, cedro, sándalo, etc.), en las flores (jazmín,

rosa, etc.), en la cáscara del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, etc.). La cantidad y composición del aceite esencial varía de una especie a otra, y dentro de un mismo género [8,26,27]. Generalmente los aceites esenciales poseen notables propiedades antimicrobianas, sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido [9]. Hoy en día el mercado opta por el consumo de alimentos más sanos, seguros y respetuosos con el medio ambiente, por lo que la tendencia es a desarrollar tecnologías que cubra la necesidad de conservar los alimentos en buen estado, a bajo costo, a temperatura ambiente y por tiempo prolongado, de fácil aplicación por los productores y comercializadores y a partir de una fórmula sencilla.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Materiales

Se utilizó almidón de yuca nativo de marca La Pradera, origen Ecuador, la gelatina es de bovino de 230° Bloom origen Ecuador, el plastificante fue glicerol de marca Merck y los aceites esenciales de limón y aloe vera son de marca Merck. El tomatillo fue de la especie *Solanum Betaceum Cav.*, adquiridos en el centro de abastos de Monte bello Guayaquil-Ecuador, de un solo origen, grado de madurez de 3 a 4 (pintón) como se muestra en la Figura 1, del tamaño 8,5 cm de largo y 18,5 cm de circunferencia.

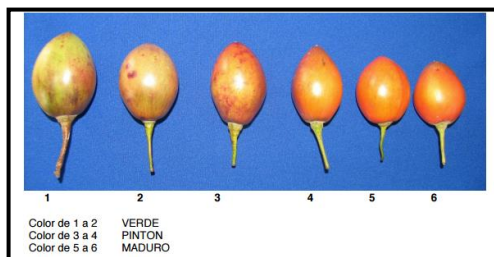


Fig. 1. Grado de Maduración del tomatillo

### 2.2. Metodología

#### 2.2.1 Elaboración de la película biodegradable

Se hicieron dos dispersiones cada una al 2%, el almidón de yuca se disolvió en agua en baño María a 80°C por 30 minutos con agitación y la gelatina en placa calefactora con agitación constante, hasta que las disoluciones den inicio al proceso de gelatinización, posteriormente se procedió a realizar la mezcla en proporción 1:1 y el glicerol al 25% s/s. Los aceites esenciales fueron adicionados después del plastificante, en proporción del 25% s/s. Posteriormente la dispersión fue homogenizada a 2400 rpm x 4 minutos.

#### 2.2.2 Método de aplicación de la película

Los tomatillos fueron colocados sobre canastillas y se procedió a recubrirlos con la dispersión biodegradable sin (blanco) y con aceites esenciales (R/A, R/L) utilizando atomizadores de manera manual por aspersión, como se muestra en la Figura 2. Se hicieron 3 aplicaciones dejando

secar cada aplicación con corriente de aire a temperatura ambiente llegando al final a un espesor de 1-1.5  $\mu$ .



Fig. 2. Aplicación por aspersión sobre los tomatillos

#### 2.2.3. Método de aislamiento de los mohos

Se dejaron madurar 36 tomatillos con el método de cámara húmeda modificado para el aislamiento (aplicación del acérvulo o tallo), donde se colocaron 6 tomatillos en una funda estéril que en su interior contenía algodón estéril humedecido con agua, se cerraron las fundas y se esperó 7 días, en un lugar oscuro hasta que llegaron a la etapa de senescencia, con el fin de aislar mohos típicos de la post cosecha. El ensayo se realizó a 20-25°C., y 80-85% de HR. Como se muestra en la figura 3.

Pasado ese tiempo con un alfiler flameado se cogió masa de conidio del acérvulo o tallo del tomate y por observación al microscopio se identificaron por mayor número de veces al CG y a la AL. Una vez identificados se sembró en PDA, se incubó a 35°C., por 7 días. Como se muestra en la figura 4 [10,29].



Fig. 3 Método de cámara húmeda

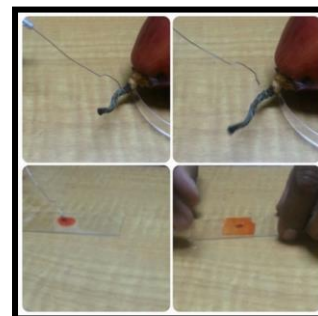


Fig. 4. Toma de muestra del conidio del acérvulo

Este procedimiento se repitió 3 veces cada 7 días para asegurarnos del asilamiento monospórico [11]. Los mohos que se repitieron al observar al microscopio fueron el *CG* y *AL*, como se aprecian en la figura 5 y 6.

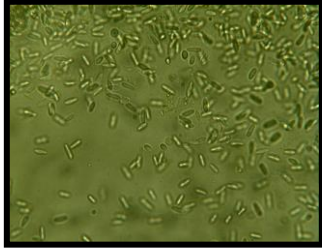


Fig. 5 Observación del moho *CG*

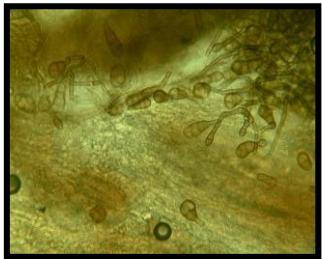


Fig. 6 Observación del moho *AL*

### 2.3. Fases del experimento. Se dividió en 2 fases:

1. Se escogieron 20 tomatillos sin recubrimiento, 20 fueron tratados con R/L y 20 con R/A y se procedió a la validación por características de calidad en la fruta a tiempo inicial ( $T_i$ ) y a tiempo final ( $T_f$ ).
2. En esta fase se tomaron 20 tomatillos se marcaron en dos puntos extremos de la fruta y se procedió a recubrirlo con la cobertura biodegradable con los dos aceites esenciales y una vez seca la cobertura se les hizo una incisión de 2mm de profundidad, con asa estéril se inoculo miscelo del hongo aislado. Una vez iniciado el desarrollo de la infestación del moho se procedió a medir el halo de crecimiento a través del tiempo, a 25°C., y 80% HR. Esto se hizo para cada hongo.

### 2.4. Pruebas de calidad

#### 2.4.1 Medición de peso.

Se verifico la pérdida de peso a un total de 30 tomatillos sin recubrimiento con respecto al tiempo (días), se utilizó una balanza con 3 dígitos de precisión de marca OHAUS. Se aplicó la siguiente formula (1):

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{P_0 - P_f}{P_0} \times 100\% \quad (1)$$

$P_0$ : Peso inicial de la fruta  
 $P_f$ : Peso actual de la fruta

#### 2.4.2 Medición de color.

Se registró el cambio de coloración durante el proceso de maduración en los tomatillos utilizando la escala de coordenada CIE  $L^*a^*b^*$  programa Work with Color [12].

#### 2.4.3 Análisis de Humedad.

Por el método gravimétrico, AOAC 18th 920.151. Se midió la pérdida de peso ocasionada por la evaporación del agua. Se empleó una estufa con circulación forzada de aire, a presión atmosférica. Se aplicó la formula (2):

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_m} \times 100\% \quad (2)$$

$P_i$ : Peso de la capsula + varilla + arena+ muestra húmeda  
 $P_f$ : peso de la capsula+ varilla+ arena+ muestra seca  
 $P_m$ : peso de la muestra húmeda

#### 2.4.4 Solidos Solubles.

El método de análisis fue el Refractómetro Abbé. AOAC Official Methods of Analysis con código AOAC 18TH 932.14C. (°Brix)

#### 2.4.5 Acidez.

Se aplicó el método AOAC Official Methods of Analysis con código AOAC 19th 950.15. Los resultados se expresan en gramos de ácido málico con 67 de u.m.a. por 100 ml de jugo. [13]. Se aplicó la siguiente formula (3):

$$\text{Acidez} = \frac{V \times N \times P_{eq}}{m} \quad (3)$$

$V$ : Volumen de la lectura de la titulación  
 $N$ : Normalidad del NaOH (0.1 N o aproximado)  
 $P_{eq}$ : u.m.a. del ácido de muestra (expresado en ácido málico)  
 $m$ : Alícuota en ml de la muestra.

#### 2.4.6 Análisis de contenido de vitamina C.

Se aplicó el Método de titulación AOAC 967.21 (2000). Se realizó por volumetría de óxido reducción por valoración con el 2,6 diclorfenolindofenol hasta cambio de coloración a rosado. Los resultados se dan en mg/100g de muestra [14].

#### 2.4.7 Medición de la Firmeza o Textura.

Se utilizó un Texturómetro CT Brookfield®. La muestra fue un pedazo del tomatillo con piel (4x4 cms). Los gráficos indican la cantidad de fuerza (N) necesaria para deformar la superficie de la pulpa del tomatillo a una velocidad constante de 0,5 mm/s durante 30 segundos, utilizando el punzón TA 41 de 6,5 mm de diámetro.

#### 2.4.8. Medición del halo de crecimiento.

En los tomatillos fueron inoculados por incisión de 2 mm de profundidad el hongo de estudio, se procedió a medir el halo de crecimiento del hongo en forma horizontal y vertical. Las medidas fueron tomadas todos los días desde que se pudo observar el desarrollo hasta la senescencia [15].

#### 2.4.9. Método de Análisis Estadístico

El análisis estadístico fue realizado usando Minitab® 17.1.0. Se compararon los tratamientos y el control de las variables con un nivel de confianza del 95%. Cada una de las variables de respuesta consideradas fueron objeto de análisis de media y desviación estándar; ANOVA análisis de varianza. Diferencias significativas fueron definidas a un valor  $p \leq 0.05$ . Los resultados se dieron:

(a,b, Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre los recubrimientos. ( $p < 0.05$ )).

(x,y, Diferentes superíndices en la misma filas indican diferencias significativas entre los tiempos iniciales y finales. ( $p < 0.05$ )).

### 3. Resultados

#### 3.1 Pérdida de Peso

La medición de la pérdida de peso se realizó pesando de manera individual 20 tomatillos por cada ensayo, por diferencia de peso partiendo del peso inicial como lo muestra la Tabla 1 y en la figura 9. Se puede observar la tendencia a la pérdida de peso con respecto al tiempo. Los tomatillos sin recubrimiento se pudieron pesar hasta el día 9, antes de que inicie su etapa de senescencia, mientras que los tomatillos con R/L y R/A pudieron ser pesados hasta el día 19.

Tabla 1. Pérdida de peso vs días de control en tomatillos S/R, R/L y R/A

Días	S/R	R/L	R/A
1	145,13	140,36	135,36
2	143,69	138,70	133,61
3	142,09	138,06	132,39
4	138,04	136,09	130,92
5	136,36	135,54	129,94
6	*	*	*
7	*	*	*
8	135,04	131,6	126,51
9	133,73	130,11	125,18
10	-	128,86	123,98
11	-	127,46	122,51
12	-	126,30	121,34
13	-	*	*
14	-	*	*
15	-	122,83	118,04
16	-	122,35	117,00
17	-	120,98	115,83
18	-	118,85	113,75
19	-	117,23	112,43

\*Días no registrados/ - fruta en etapa de senescencia

Trabajos científicos ya han demostrado que la aplicación de películas o recubrimientos biodegradables en fruta tiene relación directa con la disminución de la pérdida de peso, disminución en la velocidad de los cambios químicos, avance de la maduración, en diferentes condiciones de

almacenamiento, todos estos cambios se relacionan con el efecto de barrera al vapor de agua de los recubrimientos aplicados [17,33,34,35]. Otros investigadores en trabajos con frutas [30,20] utilizaron una película de almidón de yuca y proteína para la conservación de fresas, y la determinación de las pruebas de calidad en la fruta, encontraron que esta fruta con la cobertura mejoraba la pérdida de peso y daba un tiempo de vida útil de 6 días antes de ser atacadas por los hongos.

Los resultados obtenidos en os tomatillos con la cobertura biodegradable, presento un efecto positivo en el incremento del tiempo de vida útil. Demostrado esto se enfocó el presente trabajo, en la respuestas del comportamiento del recubrimiento con aceites esenciales (R/L y R/A), midiendo los parámetros de calidad de la fruta a tiempo inicial (Ti=1 día) y a tiempo final (Tf=19 días), y por duplicado.

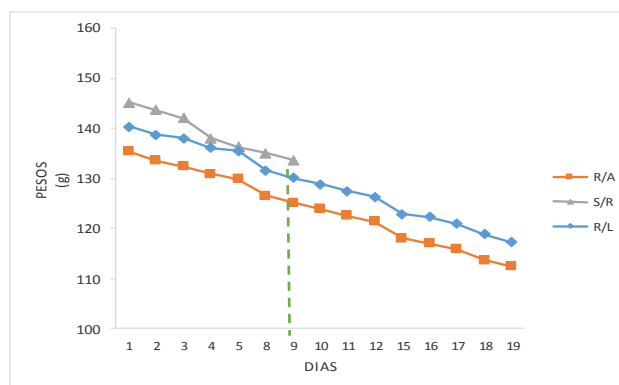


Fig. 9. Tendencia de la pérdida de peso vs días de control en tomatillos S/R, R/L y R/A

#### 3.2. Humedad

Como se muestra en la Tabla 2, con los resultados obtenidos en la pulpa de la fruta se pudo observar que para el Ti y Tf no existe diferencias significativas entre los dos recubrimientos, pero si se presentó diferencias significativas en los tomatillos con el R/L entre los Ti y el Tf lo que significa, que con este recubrimiento los tomatillos perdieron más agua que los tomatillos con el R/A.

Tabla 2. Humedad de los tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) %	Tf (19 días) %
R/L	90,86 (1,19) <sup>(a)(x)</sup>	81,51 (1,69) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	90,43 (1,51) <sup>(a)(x)</sup>	85,25 (1,35) <sup>(ab)(x)</sup>

#### 3.3 Sólidos Solubles

Como se muestran los datos en la Tabla 3, no existen diferencias significativas entre el recubrimiento a Ti y a Tf ni entre ellos, lo que indica que los sólidos solubles no se vieron afectados por el recubrimiento. Además se puede indicar que

el valor de °Brix a los 9 días en los tomatillos S/R, fue de 8,81 similar al obtenido en los tomatillos a los 19 días, con R/L y R/A.

Tabla 3. Solidos Solubles de los tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) °BRIX	Tf (19 días) ° BRIX
R/L	11 (1,4) <sup>(a)(x)</sup>	7 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>
R/A	10,5 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>	8,5 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>

### 3.4 Acidez Total

Como se muestra en la Tabla 4, por los resultados obtenidos se puede observar que no existe diferencias significativas entre los recubrimientos a Ti y a Tf, pero si hay diferencias significativas entre los recubrimientos a diferentes tiempos. Lo que significa que si hubo cambios en la acidez de los tomatillos a través del tiempo, lo que se relaciona con la maduración de la fruta.

Tabla 4. Acidez de los tomatillos con R/L y con R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) g de ácido málico x 100 ml	Tf (19 días) g de ácido málico x 100 ml
R/L	2,13 (0,52) <sup>(a)(x)</sup>	0,25 (0,01) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	2,05 (0,09) <sup>(a)(x)</sup>	0,26 (0,02) <sup>(a)(y)</sup>

### 3.5 Vitamina C

Como se muestra en la Tabla 5, por los resultados obtenidos se puede observar que no existen diferencias significativas entre los recubrimientos a un mismo tiempo ni entre ellos. Pero el valor encontrado en tomatillo S/R, a los 9 días fue de 27,14(mg/100g de muestra), lo que nos indica que en este parámetro de calidad se perdió 2.76% de vitamina C, esto puede deberse a muchos factores que se degradan en la fruta con el tiempo.

Tabla 5. Vitamina C de los tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) mg/100g de muestra	Tf (19 días) mg/100g de muestra
R/L	24,74 (1,37) <sup>(a)(x)</sup>	26,2 (1,22) <sup>(a)(x)</sup>
R/A	26,18 (1,35) <sup>(a)(x)</sup>	26,39 (1,71) <sup>(a)(x)</sup>

### 3.6 Firmeza

Como se muestra en la Tabla 6, por los resultados obtenidos se puede observar, que no existe diferencia significativa en R/L y R/A a un mismo tiempo de ensayo, pero si existe

diferencia significativa entre los dos recubrimientos a diferentes tiempos. Lo que significa que disminuyó la firmeza (N), de los tomatillos con el tiempo, determinándose que los dos tratamientos tienen iguales comportamientos.

En los ensayos realizados a tomatillos S/R antes de la senescencia, estos dieron valores promedio de 0,63N, lo que nos indica que la cobertura adicionada a los tomatillos si retarda la perdida de la textura en alrededor de un 20%.

Otros investigadores [23], usaron almidón modificado al 4% con ácido cítrico, glicerina, extracto de ajo, aceite esencial de canela, y sal cubriendo tomates por el método de inmersión en condiciones ambientales por 22 días, determinaron que los parámetros de calidad como la pérdida de peso y firmeza no se vieron afectados. Los investigadores [33,34,35], demostraron que el efecto de los recubrimientos sobre las frutas con piel, no presentan efectos notables en los cambios de la firmeza medidos a un tiempo, datos parecidos a los encontrados en esta investigación.

Tabla 6. Firmeza (N) de los tomatillos con piel, con R/L y con R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) N	Tf (19 días) N
R/L	0,16 (0,04) <sup>(a)(x)</sup>	0,49 (0,07) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	0,18 (0,05) <sup>(a)(x)</sup>	0,50 (0,00) <sup>(a)(y)</sup>

### 3.7 Color

Como se muestra en la Tabla 7, los datos de color están reportados en Coordenadas CIE L\*a\*b\*. Con los resultados obtenidos se puede observar que con respecto a la Luminosidad L\*, existen diferencias significativa entre R/L y R/A y entre los tiempos.

En la coordenada de saturación a\* se pudo determinar que existe diferencia significativa entre los recubrimientos a Ti, no así a Tf. Pero si hay diferencias significativas entre los tratamientos a diferentes tiempos.

Y en la coordenada de brillo b\* se puede observar que existe diferencias significativas entre los tratamientos a Ti y Tf y entre ellos.

Con el R/A, los tomatillos mantuvieron mayor luminosidad o claridad a tiempo final. Pero en las coordenadas saturación a\* y brillo b\* las coberturas no presentaron diferencias entre ellas. Cada una de las coordenadas siguió la misma evolución aumento con el tiempo de almacenamiento en todas los recubrimientos como es lógico por el avance de la maduración de este tipo de frutas como también lo demostró otros científicos [34].

Tabla 7. Coordenadas de CIE L\*a\*b\* en tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Luminosidad L*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	217 (0) <sup>(a)(x)</sup>	175 (9,6) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	209 (0) <sup>(b)(x)</sup>	185 (10,8) <sup>(ab)(y)</sup>

	Saturación a*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	16 (0) <sup>(a)(x)</sup>	33 (4,4) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	26 (0) <sup>(b)(x)</sup>	33 (5,0) <sup>(a)(y)</sup>

	Brillo b*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	46 (0) <sup>(a)(x)</sup>	44 (1,3) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	43 (0) <sup>(b)(x)</sup>	45 (1,2) <sup>(b)(y)</sup>

En la tabla 8, se puede observar los valores del análisis de color realizado a los tomatillos S/R a los 9 días antes de su senescencia, estos presentan valores muy parecidos a los obtenidos en los tomatillos con recubrimiento a los 19 días, esto parece indicar, que en la extensión de la vida útil de los tomatillos con el recubrimiento biodegradable y los aceites esenciales, retardaron el cambio de color a pesar de la diferencia de tiempo.

Tabla 8. Coordenadas de color L\*a\*b\* de los tomatillos S/R y a Tf (9 días).

Recubrimientos	Luminosidad L*	Saturación a*	Brillo b*
S/R	180 (8,2)	33 (4,1)	44 (1,8)

### 3.8 Resultados Microbiológicos

A los tomatillos con R/L y R/A, se les realizó pruebas de medición del desarrollo del halo (mm) decrecimiento de los mohos (*Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria*) aislados de la fruta. Se tomó como referencia el día 9, relacionándolo con el tiempo que tienen de vida útil de los tomatillos S/R. Los mohos fueron inoculados por método de incisión de 2 mm de profundidad, dos inoculaciones en los extremos en cada tomatillo. Los resultados promedio de las mediciones que se obtuvieron se muestran en la tabla 9, lo que nos indicó que hay menor crecimiento con el hongo CG, en los tomatillo con el R/L, y el menor crecimiento del hongo AL con el R/A, lo que nos indica que los mohos se desarrollaron de manera selectiva a la acción del aceite esencial.

Tabla 9. Medida (mm) del diámetro de los halos de crecimiento de los mohos CG y AL a los 9 días.

Promedio crecimiento de los mohos (mm)			
R/L		R/A	
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Alternaria</i>
0,66	1,0	0,71	0,67

Las observaciones del crecimiento de los mohos inoculados por incisión, se pudo medir a partir del día 6<sup>to</sup> hasta el día 10<sup>mo</sup>, tiempo máximo en el que se pudo manipular los tomatillos, como se observa en la Fig. 10.

Por el resultado de las imágenes podemos indicar que el hongo AL, causa más daño en la fruta invadiendo la pulpa y causando podredumbre que el hongo CG.

Para comprobar la eficiencia de los recubrimientos con los aceites esenciales se comparó con un blanco, donde se escogió 20 tomatillos para cada moho en estudio y se procedió a colocar los mohos en la superficie de la fruta por el método de frotis, obteniéndose como resultado que hasta el día 19 ninguno de ellos presentó infestación por hongos u otros patógenos lo que nos indica que la cobertura es una buena protección.

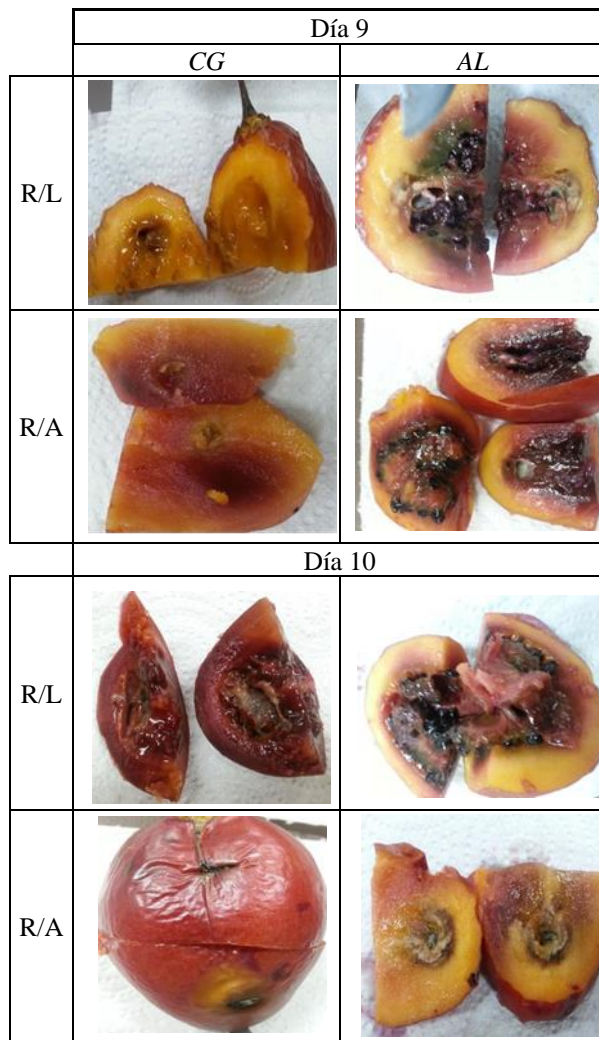
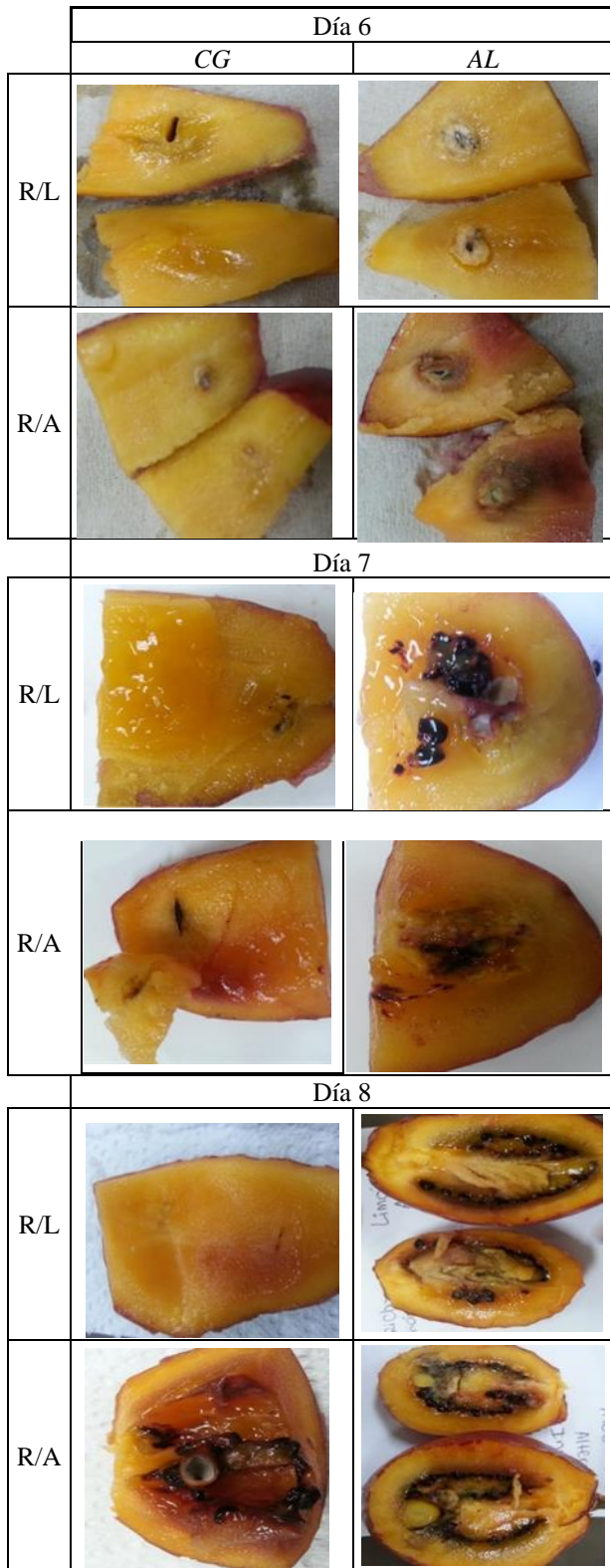
A pesar de que otros investigadores como [18,19,2,21], trabajando con almidones, gelatina y con aceite esenciales de canela, orégano, romero y clavo, demostraron que la adición de estos causó que la permeabilidad al vapor de agua aumentara, por lo que no se pudo medir la respuesta antimicrobiana sobre los alimentos, aunque si en ensayos in vitro, obteniendo una buena respuesta contra el desarrollo de microorganismos.

Otros investigadores como [22] trabajo con films de gelatina al que le añadió bactericidas (e. faecium y laurato de prunina) hizo una aplicación antimicrobiana frente a bacterias como la *listeria*, *estafilococos aureus*, demostrando que estos funcionaron bien como barrera para inhibir el desarrollo de estos microorganismos.

Con anterioridad los investigadores [16] ya habían demostrado que variando el aceite esencial y la cantidad del mismo, los resultados obtenidos eran diferentes.

Otros investigadores [24] quienes trabajaron con una cobertura de almidón de yuca y gelatina con aceite esencial de orégano demostraron que se aumentó el tiempo de vida útil de la papaya, extendiéndose de 10 días a 19 a temperatura ambiente, estos resultados tienen diferencia con lo encontrado por los investigadores [31] quienes hicieron un estudio de conservación de papaya con películas comestibles de yuca, obteniendo buenos resultados pero en papayas refrigeradas no así a temperatura de ambiente.

Fig 10. Desarrollo de los mohos inoculados por incisión desde el día 6 hasta el día 10 en los tomatillos con R/A y R/L.



#### 4. Conclusiones

La cobertura biodegradable a base de almidón de yuca nativo y gelatina de bovino 50:50 al 2% de sólidos totales con glicerol como plastificante, incorporado los aceites esenciales de limón y aloe vera, aplicado por aspersión sobre los tomatillos, dio como resultado un incremento del tiempo de vida útil de 9 días (tiempo máximo que se pudo controlar antes de que presentaran los signos de senescencia), que presentaron los tomatillos sin cobertura a 19 días, almacenados a temperatura ambiente. Este resultado se pudieron relacionar con los valores encontrados en los análisis de calidad como: pérdida de peso, donde los tomatillos con el recubrimiento y los aceites esenciales presentaron una pérdida de alrededor del 7% a los 19 días, mientras que los sin cobertura perdieron 8,5% de su peso al día 9 de ensayo.



demostrada la eficacia de la cobertura se realizó, una comparación entre los tomatillos con cobertura de aceite esencial de limón R/L y con aceite esencial de aloe vera R/A, en los parámetros de: sólidos solubles, acidez y vitamina C, donde no presentaron diferencias significativas entre ellas y entre los dos tiempos de estudio (1 día y 19 días). En el parámetro de humedad si se encontró que el R/L presentó una mayor pérdida de humedad, relacionándolo con los resultados obtenidos en el control de pérdida de peso. En cuanto al cambio de color se encontró un cambio al tiempo final (19 días), aunque no presentó valores superiores a los encontrados en los tomatillos S/R a los 9 días. Los R/L y los R/A, si presentaron cambios significativos en la textura de la fruta a los 19 días, obteniéndose como resultado, que los valores promedios fueron de 0,49% con R/L y 0,50% con el R/A, relacionando estos resultados con los obtenidos en los tomatillos S/R donde el valor encontrado fue de 0,63% a los 9 días, se descubrió que no se aceleró el cambio de color con el tiempo en los tomatillos recubiertos. Todos los valores obtenidos en los parámetros de calidad nos indican que la fruta se mantuvo en estado estacionario, durante el tiempo en el que se alargó su vida útil, dando valores a los 19 días parecidos a los observados a los 9 días en los tomatillos sin recubrimiento.

En las pruebas microbiológicas se hizo un blanco para verificar el desarrollo de los mohos, haciendo un frotis de estos sobre la superficie de los tomatillos que ya tenían el recubrimiento biodegradable con los aceites esenciales, demostrándose que no se desarrolló ningún moho hasta el día 19, lo que nos indicó que la cobertura si es una protección para los tomatillos frente al desarrollo de mohos propios de la fruta.

Además, se hizo medición del desarrollo del halo de los mohos en los tomatillos y se encontró que los hongos fueron selectivos en su ataque, siendo el moho *Colletotrichum gloeosporioides* con el R/L quien demostró más resistencia, mientras que con el hongo *Alternaria*, fue el R/A, el que presentó mejor efecto sobre este.

## 5. Bibliografía

[1] Cruz- Morfin, R., Martínez-Tenorio, Y., López- Malo, A., (2013). “Biopolímeros y su integración con polímeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos”. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Cruz-Morfin-et-al-2013.pdf>

[2] Aguilar M. (2005). Propiedades Físicas Y Mecánicas De Películas Biodegradables y Su Empleo En El Recubrimiento De Frutos De Aguacate. Tesis De Grado Del Instituto Politécnico Nacional. México

[3] Acosta S, Jiménez A, Chafer M, Gonzalez-Martinez Ch, Chiralt A. “Physical properties and stability of starch-gelatin

based films as affected by the addition of esters of fatty acids”. Food Hydrocolloids volume 49, July 2015, Pages 135-143. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.03.015.

[4] Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng N, Nogueira J, Saraiva J, Nunes M. “Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oil”. Industrial Crops and Products. July 2012. 43 (2013) p.587-595. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.07.069

[5] Souza A, GotoG, Mainardi J, Coelho A, TadiniC. “Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties”. LWT-Food Science and Technology. December 2013. Volume 54, Issue 2, pages 346-352. DOI:10.1016/j.lwt.2013.06.017.

[6] Pelissari F, Grossmann M, Yamashita F, Pineda E. “Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch- chitosan films incorporated with oregano essential oil”. Journal Agricultural and chemistry. 2009, 57, 7499-7504. DOI: 10.1021/jf9002363.

[7] Blanco K, y Agudelo A. “Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de *Lippia alba Mill N.E. Brown ex Britton & Wills* cultivado con tres tipos de Compost”. Facultad de Ciencias Escuela de Química. 2007. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.

<http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/infraestructura/cibimol/tesis%20cibimol/Katerine%20y%20Andrea%20Agudelo.pdf>

[8] Gil, E, y Sáez A. “Evaluación a escala de planta piloto del proceso industrial para la obtención del Aceite esencial de *cardamomo*, bajo la filosofía cero emisiones” 2005. Universidad EAFIT. Medellín-Colombia.

[9] Segovia I, y Suarez. L. “Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y anti fúngica. 2010. Facultad de farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de San marco. Lima-Perú. Disponible en:

[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1619/1/Segovia\\_bi.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1619/1/Segovia_bi.pdf)

[10] Sinclair J, Dhingra O. “Basic Plant Pathology Methods”. April 5, 1995 Reference- 448 Pages ISBN 9780873716383-CAT. April 5, 1995 Second Edition. Reference- 448 Pages ISBN 9780873716383- CAT# L638

[11] Castellano G, Jara C, Mosquera G, Guía Práctica de Laboratorio para Manejo de Patógenos, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Aislamiento de *Colletotrichum*, Método de cámara húmeda modificado. 2011, Páginas 3-6, 3-7, 3-8, 3-11

[12] Work with Color (2014). Color Converter. Disponible en: <http://www.workwithcolor.com/color-converter-01.htm>

[13] Serna L, y López S. “Actualización del manual del Laboratorio de Análisis de Alimentos”. 2005. Programa de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira Trabajo de graduación.

Disponible en: [http://www.academia.edu/7379763/Actualizacion de manual](http://www.academia.edu/7379763/Actualizacion_de_manual).

[14] Association of Official Agricultural Chemists. Volumen (II). Método 967.21. Determinación de vitamina C.

[15] Bernstein B, Zehr I, Dean A, Shabi E. "Characteristics of *Colletotrichum* from Peach, Apple, Pecan, and Other Hosts. The American Phytopathological Society. February 1995 478-482/vol. 79 No. 5.

[16] Souza A, Goto G, Mainardi J, Coelhl A, Tadini C. "Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties". June 2013. LWT-Food Science and Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>

[17] Pelissari F, Grossmann M, Yamashita F, Pineda E. .. Antimicrobial, Mechanical and Barrier Properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. July 2009. 57, 7499-7504. DOI:10.1021/jf9002363

[18] Kechichian V, Ditchfield C, Veiga-Santos P, Tadini C. "Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch" February 2010. LWT- Food Science and Technology. 43 – Pag: 1088-1094. doi.10.1016/j.lwt.2010.02.014

[19] Gómez- Estaca J, Montero P, Fernández-Martin F, Alemán A, Gómez- Guillen. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. September 2009. Food Hydrocolloids. Pag: 1334-1341. Doi:10.1016/j.foodhyd.2008.09.013

[20] Bezerra de Aquino a, Fitzgerald A, Lins de Aquino Santana. Impact of edible chitosan-cassava starch coating enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajaba* L.) During storage at room temperature. Food Chemistry 171 (September 2015) Pag 108-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.077>

[21] Atef M, Rezaei M, Behrooz R. Characterization of physical, mechanical and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. Food Hydrocolloids. November 2015 45 pag: 150-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.037>

[22] Ibarguren C, Celiz , Diaz , Bertuzzi M, Daz m, Audisio M. "Gelatin based films added with bacteriocins and a flavonoid ester active against Food-borne pathogens. Innovative Food Science and Emerging Technologies 28 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.01.007> (February 2015) 66-72.

[23] Barco P, Burbano A, Mosquera S, Villada H. Navia D. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yuca modificado sobre la maduración del tomate. Revista Lasallista de Investigación- vol. 8 N°2 Diciembre 2011. (96-103)

[24] Pinargote S, y Gálvez M. "Aplicación de Recubrimientos Biodegradables de Almidón de Yuca y Gelatina con Aceite Esencial de Orégano para la Conservación de Papayas a

Temperatura Ambiente". Informe de proyecto de graduación 2015. Escuela Superior Politécnica del litoral. Guayaquil-Ecuador

[25] Acosta S, Jiménez A, Chafer M, Gonzalez-Martinez Ch, Chiralt A. "Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids". Food Hydrocolloids volume 49, July 2015, Pages 135-143. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.03.015.

[26] Abdelwahab S, Zaman F, Mario A, Yaacob M, Abdelmageed A, Khamis S. "Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etligeria elatior* and *Cinnamomum pubescens* Kochummen". Journal of the Science of food and Agriculture. December 2010; 90(15):2682-8. (DOI:10.1002/jsfa.4140).

[27] De Falco E, Mancini E, Roscigno G, Mignola E, Tagliatalata-Scafati O, Senatore F. "Chemical Composition and Biological Activity of essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Vulgare* L. under different growth conditions". Molecules December 2013, 18, 14948-14960; DOI:10.3390/molecules 181214948.

[28] Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. "In vitro antibacterial activity of some plant essential oils". BMC Complementary & Alternative Medicine. V.6; Nov. 2006. DOI: 10.1186/1472-6882-6-39.

[29] Ruiz A, Parra C, De Graca J. Salas B, Malik N, Kunta M. Molecular characterization and pathogenicity assays of *Colletotrichum acutatum*, causal agent for lime anthracnose in Texas. Revista Mexicana De Fitopatología. Noviembre 2014. Vol. 32 no. 1. Version on line ISSN 2007-8080.

[30] Saavedra N, Algecira N. Evaluacion de peliculas comestibles de almidon de yucca y proteina aislada de soya en la conservacion de fresas. Ciencias Biomedicas. ISSN-1794-2470 Vol. 8 No. 14 Diciembre 2010: 121-240

[31] Almeida A, Reis J, Santos D, Vieira T, Da Costa M. Estudio de la conservacion de la papaya ( *Carica papaya* L.) asociado a la aplicacion de peliculas comestibles. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnologia de Alimentos. Mayo 2011. 2(1):049-060. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

[32] Hernández-Medina M., Torruco-Uco J., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., (2008) Ciencia e Tecnología de Alimentos. Campinas 28 (3): 718:726

[33] Maqbol M., Ali A., Alderson P.G., Mohamed M.T.M., Siddiqui Y., Zahid N. (2011). Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biology and Technology. 62, (71-76).

[34] Lakshmi S.M., Abirami L.S.S., Pushkala r., Srividya. (2011). Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using Aloe Vera Based antimicrobial coating. Indian Journal of Biotechnology vol. 10, (83-89).

[35] Asgar A., Mahmud T. M.M., Kamaruzamana S., Yasmeen S. (2010). Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum Gloeosporiodes* Penz) of Eksotika II Papaya.

International Journal of Food Science and Technology,  
45, 2134-2140.

# Estudio del comportamiento de aceites esenciales en una matriz almidón de yuca y gelatina aplicado en tomatillo (*Solanum betaceum Cav.*) a temperatura ambiente

Carranza A.<sup>1</sup>, Salinas M.<sup>1</sup>, Acosta S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escuela Superior Politécnica Del Litoral, Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Guayaquil-Ecuador  
e-mail: [abcarran@espol.edu.ec](mailto:abcarran@espol.edu.ec); [meyasali@espol.edu.ec](mailto:meyasali@espol.edu.ec); [cacosta@espol.edu.ec](mailto:cacosta@espol.edu.ec)

**Resumen**— Las coberturas sobre las frutas tienen como objetivo que se extienda su tiempo de vida útil, pudiendo utilizarse para ello los derivados del petróleo, que en la actualidad tienen restringido su uso. Esto ha llevado a la búsqueda de alternativas naturales, utilizando materias primas, combinadas para ser aplicadas sobre la fruta. En el presente trabajo se elaboró una cobertura, aplicada por aspersión, formada por almidón de yuca y gelatina bovina en proporción 50:50 (al 2% sólidos totales) y como plastificante el glicerol (1:0,25 polímero:glicerol) y la incorporación a esta matriz de aceites esenciales de limón (R/L) y aloe vera (R/A) (25% p/p). Los ensayos se realizaron en tomatillos (*Solanum betaceum Cav.*) en etapa de post-cosecha a 25°C-80-85%HR, de la misma variedad, origen, peso y grado de maduración. Se comprobó la prolongación del tiempo de vida útil de 9 días sin cobertura a 19 días. Para comprobar la eficacia de los aceites esenciales de (R/L) y (R/A), se caracterizaron los tomatillos en las propiedades de: peso, humedad, acidez, sólidos totales, contenido de vitamina C, color y textura, y se concluyó que no hubo alteraciones en la fruta. También se evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites frente al *Colletotrichum gloeosporioides* (CG) y la *Alternaria* (AL) aislados de los tomatillos y utilizados a los 7 días de sembrados en agar *Patata Dextrosa* (PDA), midiendo el desarrollo del halo del moho en la fruta, determinándose que el crecimiento fue 7,57% menor con el (CG), en los tomatillos con el (R/L), mientras que el desarrollo en la (AL) fue 14,94% menor con el (R/A).

**Palabras clave:** Recubrimiento biodegradable, textura, halo de inhibición, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria*.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los biopolímeros se presentan en la naturaleza en dos grupos: El primer grupo incluye a las proteínas (colágeno, queratina, gelatina, pectina, gluten de maíz o de trigo, proteínas de leche o de soya), polisacáridos (almidón, derivados de celulosa, quitosano, alginatos, carragenatos y pectinas), lípidos (ceras, ácidos grasos y monoglicéridos). Y en el segundo grupo están algunos poliésteres producto del metabolismo de las bacterias (polihidroxialcanoatos, ácido poliláctico) [1].

En este trabajo se utilizó almidón de yuca con un contenido de amilosa aproximado del 17%, con capacidad de hacer geles más resistentes, con mayor poder de hinchamiento y solubilidad que otros almidones de origen tubérculos, su elección también está dada por la facilidad de adquisición y

costos [1]. Las películas elaboradas con este polisacárido son claras, flexibles transparente y presentan excelente barrera al oxígeno, no tienen buenas propiedades al vapor de agua, cuando se realiza una dispersión, la gelatinización está dada por los puentes de hidrogeno, debido a que se establecen puentes entre los grupos hidroxilo [2,32]. El segundo polisacárido usado fue la gelatina por la facilidad para formar films con características como protección a la luz, buena barrera al oxígeno y con buenas propiedades mecánicas [3]. Una de las maneras de conservar a las frutas frescas son los denominados recubrimientos que son dispersiones formadas por materiales comestibles y biodegradables, que se aplican sobre el alimento formando una capa delgada a manera de film con el objetivo de proteger microbiológicamente y de daños mecánicos y de esta manera lograr prolongar su vida útil, debido a que permiten una transferencia selectiva de gases, vapor de agua y compuestos aromáticos, retardando la senescencia [4,25].

Una forma de conseguir que estos recubrimiento obtengan propiedades activas es mediante la incorporación de agentes activos con propiedades antioxidantes como los ácidos ascórbico, cítrico, glutatión, cisteína, entre otros con el fin de retardar o prevenir la oxidación de los compuestos propios de la fruta. Entre los compuestos con propiedades antimicrobianas más comúnmente empleados están los ácidos orgánicos, quitosano, polipéptidos como la nisina, lacto peroxidasa, extractos de plantas y aceites esenciales [5,6]. Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas, mezclas complejas en cuya composición se encuentran los hidrocarburos como terpenos, monoterpénos, sesquiterpenos, diterpenos junto con otros compuestos casi siempre oxigenados como alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos y que son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales [7,28]. Los aceites esenciales se encuentran en diferentes partes de la planta, por ejemplo: en las hojas (albahaca, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (cálamo, valeriana, etc.), en la corteza (canela, cedro, sándalo, etc.), en las flores (jazmín, rosa, etc.), en la cáscara del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, etc.). La

Digital Object Identifier (DOI): <http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2016.1.1.258>

ISBN: 978-0-9822896-9-3

ISSN: 2414-6390

cantidad y composición del aceite esencial varía de una especie a otra, y dentro de un mismo género [8,26,27]. Generalmente los aceites esenciales poseen notables propiedades antimicrobianas, sin embargo, su mecanismo de acción aún no está definido [9]. Hoy en día el mercado opta por el consumo de alimentos más sanos, seguros y respetuosos con el medio ambiente, por lo que la tendencia es a desarrollar tecnologías que cubra la necesidad de conservar los alimentos en buen estado, a bajo costo, a temperatura ambiente y por tiempo prolongado, de fácil aplicación por los productores y comercializadores y a partir de una fórmula sencilla.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1. Materiales

Se utilizó almidón de yuca nativo de marca La Pradera, origen Ecuador, la gelatina es de bovino de 230° Bloom origen Ecuador, el plastificante fue glicerol de marca Merck y los aceites esenciales de limón y aloe vera son de marca Merck. El tomatillo fue de la especie *Solanum Betaceum Cav.*, adquiridos en el centro de abastos de Monte bello Guayaquil-Ecuador, de un solo origen, grado de madurez de 3 a 4 (pintón) como se muestra en la Figura 1, del tamaño 8,5 cm de largo y 18,5 cm de circunferencia.

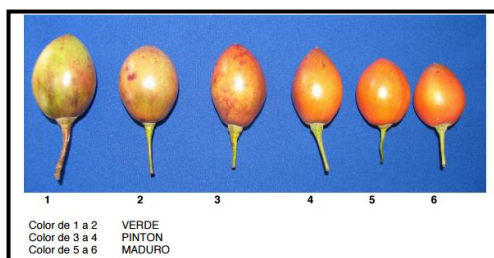


Fig. 1. Grado de Maduración del tomatillo

### 2.2. Metodología

#### 2.2.1 Elaboración de la película biodegradable

Se hicieron dos dispersiones cada una al 2%, el almidón de yuca se disolvió en agua en baño María a 80°C por 30 minutos con agitación y la gelatina en placa calefactora con agitación constante, hasta que las disoluciones den inicio al proceso de gelatinización, posteriormente se procedió a realizar la mezcla en proporción 1:1 y el glicerol al 25% s/s. Los aceites esenciales fueron adicionados después del plastificante, en proporción del 25% s/s. Posteriormente la dispersión fue homogenizada a 2400 rpm x 4 minutos.

#### 2.2.2 Método de aplicación de la película

Los tomatillos fueron colocados sobre canastillas y se procedió a recubrirlos con la dispersión biodegradable sin (blanco) y con aceites esenciales (R/A, R/L) utilizando atomizadores de manera manual por aspersión, como se muestra en la Figura 2. Se hicieron 3 aplicaciones dejando secar cada aplicación con corriente de aire a temperatura ambiente llegando al final a un espesor de 1-1.5  $\mu$ .



Fig. 2. Aplicación por aspersión sobre los tomatillos

#### 2.2.3. Método de aislamiento de los mohos

Se dejaron madurar 36 tomatillos con el método de cámara húmeda modificado para el aislamiento (aplicación del acérvulo o tallo), donde se colocaron 6 tomatillos en una funda estéril que en su interior contenía algodón estéril humedecido con agua, se cerraron las fundas y se esperó 7 días, en un lugar oscuro hasta que llegaron a la etapa de senescencia, con el fin de aislar mohos típicos de la post cosecha. El ensayo se realizó a 20-25°C., y 80-85% de HR. Como se muestra en la figura 3. Pasado ese tiempo con un alfiler flameado se cogió masa de conidio del acérvulo o tallo del tomate y por observación al microscopio se identificaron por mayor número de veces al CG y a la AL. Una vez identificados se sembró en PDA, se incubó a 35°C., por 7 días. Como se muestra en la figura 4 [10,29].



Fig. 3 Método de cámara húmeda

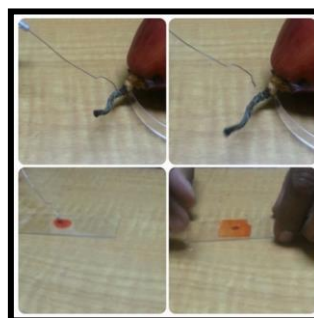


Fig. 4. Toma de muestra del conidio del acérvulo

Este procedimiento se repitió 3 veces cada 7 días para asegurarnos del asilamiento monospórico [11]. Los mohos que se repitieron al observar al microscopio fueron el *CG* y *AL*, como se aprecian en la figura 5 y 6.

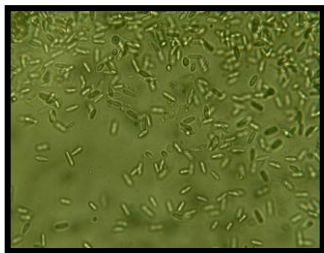


Fig. 5 Observación del moho *CG*

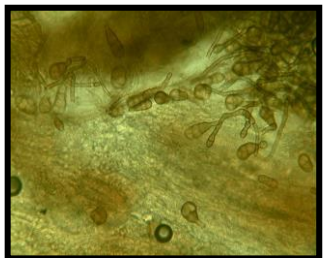


Fig. 6 Observación del moho *AL*

### 2.3. Fases del experimento. Se dividió en 2 fases:

1. Se escogieron 20 tomatillos sin recubrimiento, 20 fueron tratados con R/L y 20 con R/A y se procedió a la validación por características de calidad en la fruta a tiempo inicial ( $T_i$ ) y a tiempo final ( $T_f$ ).
2. En esta fase se tomaron 20 tomatillos se marcaron en dos puntos extremos de la fruta y se procedió a recubrirlo con la cobertura biodegradable con los dos aceites esenciales y una vez seca la cobertura se les hizo una incisión de 2mm de profundidad, con asa estéril se inoculo miscelo del hongo aislado. Una vez iniciado el desarrollo de la infestación del moho se procedió a medir el halo de crecimiento a través del tiempo, a 25°C., y 80% HR. Esto se hizo para cada hongo.

### 2.4. Pruebas de calidad

#### 2.4.1 Medición de peso.

Se verifico la pérdida de peso a un total de 30 tomatillos sin recubrimiento con respecto al tiempo (días), se utilizó una balanza con 3 dígitos de precisión de marca OHAUS. Se aplicacion de la siguiente formula (1):

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{P_0 - P_f}{P_0} \times 100\% \quad (1)$$

$P_0$ : Peso inicial de la fruta  
 $P_f$ : Peso actual de la fruta

#### 2.4.2 Medición de color.

Se registró el cambio de coloración durante el proceso de maduración en los tomatillos utilizando la escala de coordenada CIE  $L^*a^*b^*$  programa Work with Color [12].

### 2.4.3 Análisis de Humedad.

Por el método gravimétrico, AOAC 18th 920.151. Se midió la pérdida de peso ocasionada por la evaporación del agua. Se empleó una estufa con circulación forzada de aire, a presión atmosférica. Se aplicó la formula (2):

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_m} \times 100\% \quad (2)$$

$P_i$ : Peso de la capsula + varilla + arena+ muestra húmeda  
 $P_t$ : peso de la capsula+ varilla+ arena+ muestra seca  
 $P_m$ : peso de la muestra húmeda

### 2.4.4 Solidos Solubles.

El método de análisis fue el Refractómetro Abbé. AOAC Official Methods of Analysis con código AOAC 18TH 932.14C. (°Brix)

### 2.4.5 Acidez.

Se aplicó el método AOAC Official Methods of Analysis con código AOAC 19th 950.15. Los resultados se expresan en gramos de ácido málico con 67 de u.m.a. por 100 ml de jugo. [13]. Se aplicó la siguiente formula (3):

$$\text{Acidez} = \frac{V \times N \times P_{eq}}{m} \quad (3)$$

$V$ : Volumen de la lectura de la titulación  
 $N$ : Normalidad del NaOH (0.1 N o aproximado)  
 $P_{eq}$ : u.m.a. del ácido de muestra (expresado en ácido málico)  
 $m$ : Alícuota en ml de la muestra.

### 2.4.6 Análisis de contenido de vitamina C.

Se aplicó el Método de titulación AOAC 967.21 (2000). Se realizó por volumetría de óxido reducción por valoración con el 2,6 diclorfenolindofenol hasta cambio de coloración a rosado. Los resultados se dan en mg/100g de muestra [14].

### 2.4.7 Medición de la Firmeza o Textura.

Se utilizó un Texturómetro CT Brookfield®. La muestra fue un pedazo del tomatillo con piel (4x4 cms). Los gráficos indican la cantidad de fuerza (N) necesaria para deformar la superficie de la pulpa del tomatillo a una velocidad constante de 0,5 mm/s durante 30 segundos, utilizando el punzón TA 41 de 6,5 mm de diámetro.

### 2.4.8. Medición del halo de crecimiento.

En los tomatillos fueron inoculados por incisión de 2 mm de profundidad el hongo de estudio, se procedió a medir el halo de crecimiento del hongo en forma horizontal y vertical. Las medidas fueron tomadas todos los días desde que se pudo observar el desarrollo hasta la senescencia [15].

### 2.4.9. Método de Análisis Estadístico

El análisis estadístico fue realizado usando Minitab® 17.1.0. Se compararon los tratamientos y el control de las variables con un nivel de confianza del 95%. Cada una de las variables

de respuesta consideradas fueron objeto de análisis de media y desviación estándar; ANOVA análisis de varianza. Diferencias significativas fueron definidas a un valor  $p \leq 0.05$ . Los resultados se dieron:

(a,b, Diferentes superíndices en la misma columna indican diferencias significativas entre los recubrimientos. ( $p < 0.05$ )).

(x,y, Diferentes superíndices en la misma filas indican diferencias significativas entre los tiempos iniciales y finales. ( $p < 0.05$ )).

### 3. Resultados

#### 3.1 Pérdida de Peso

La medición de la pérdida de peso se realizó pesando de manera individual 20 tomatillos por cada ensayo, por diferencia de peso partiendo del peso inicial como lo muestra la Tabla 1 y en la figura 9. Se puede observar la tendencia a la pérdida de peso con respecto al tiempo. Los tomatillos sin recubrimiento se pudieron pesar hasta el día 9, antes de que inicie su etapa de senescencia, mientras que los tomatillos con R/L y R/A pudieron ser pesados hasta el día 19.

Tabla 1. Pérdida de peso vs días de control en tomatillos S/R, R/L y R/A

Días	S/R	R/L	R/A
1	145,13	140,36	135,36
2	143,69	138,70	133,61
3	142,09	138,06	132,39
4	138,04	136,09	130,92
5	136,36	135,54	129,94
6	*	*	*
7	*	*	*
8	135,04	131,6	126,51
9	133,73	130,11	125,18
10	-	128,86	123,98
11	-	127,46	122,51
12	-	126,30	121,34
13	-	*	*
14	-	*	*
15	-	122,83	118,04
16	-	122,35	117,00
17	-	120,98	115,83
18	-	118,85	113,75
19	-	117,23	112,43

\*Días no registrados/ - fruta en etapa de senescencia

Trabajos científicos ya han demostrado que la aplicación de películas o recubrimientos biodegradables en fruta tiene relación directa con la disminución de la pérdida de peso, disminución en la velocidad de los cambios químicos, avance de la maduración, en diferentes condiciones de almacenamiento, todos estos cambios se relacionan con el efecto de barrera al vapor de agua de los recubrimientos aplicados [17,33,34,35]. Otros investigadores en trabajos con

frutas [30,20] utilizaron una película de almidón de yuca y proteína para la conservación de fresas, y la determinación de las pruebas de calidad en la fruta, encontraron que esta fruta con la cobertura mejoraba la pérdida de peso y daba un tiempo de vida útil de 6 días antes de ser atacadas por los hongos.

Los resultados obtenidos en los tomatillos con la cobertura biodegradable, presento un efecto positivo en el incremento del tiempo de vida útil. Demostrado esto se enfocó el presente trabajo, en la respuestas del comportamiento del recubrimiento con aceites esenciales (R/L y R/A), midiendo los parámetros de calidad de la fruta a tiempo inicial ( $T_i=1$  día) y a tiempo final ( $T_f=19$  días), y por duplicado.

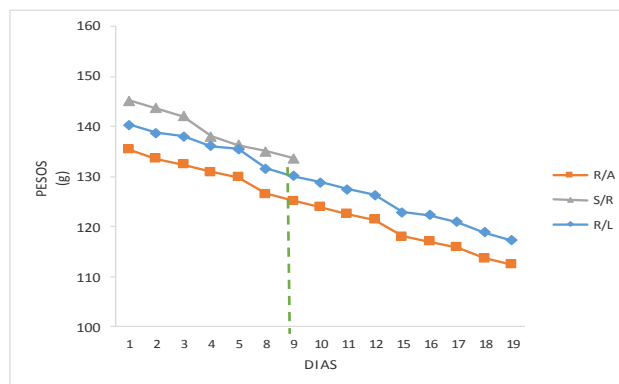


Fig. 9. Tendencia de la pérdida de peso vs días de control en tomatillos S/R, R/L y R/A

#### 3.2. Humedad

Como se muestra en la Tabla 2, con los resultados obtenidos en la pulpa de la fruta se pudo observar que para el  $T_i$  y  $T_f$  no existe diferencias significativas entre los dos recubrimientos, pero si se presentó diferencias significativas en los tomatillos con el R/L entre los  $T_i$  y el  $T_f$  lo que significa, que con este recubrimiento los tomatillos perdieron más agua que los tomatillos con el R/A.

Tabla 2. Humedad de los tomatillos con R/L y R/A a  $T_i$  y  $T_f$

Recubrimientos	$T_i$ (1 día) %	$T_f$ (19 días) %
R/L	90,86 (1,19) <sup>(a)(x)</sup>	81,51 (1,69) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	90,43 (1,51) <sup>(a)(x)</sup>	85,25 (1,35) <sup>(ab)(x)</sup>

#### 3.3 Sólidos Solubles

Como se muestran los datos en la Tabla 3, no existen diferencias significativas entre el recubrimiento a  $T_i$  y a  $T_f$  ni entre ellos, lo que indica que los sólidos solubles no se vieron afectados por el recubrimiento. Además se puede indicar que el valor de °Brix a los 9 días en los tomatillos S/R, fue de 8,81 similar al obtenido en los tomatillos a los 19 días, con R/L y R/A.

Tabla 3. Solidos Solubles de los tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) °BRIX	Tf (19 días) ° BRIX
R/L	11 (1,4) <sup>(a)(x)</sup>	7 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>
R/A	10,5 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>	8,5 (0,7) <sup>(a)(x)</sup>

### 3.4 Acidez Total

Como se muestra en la Tabla 4, por los resultados obtenidos se puede observar que no existe diferencias significativas entre los recubrimientos a Ti y a Tf, pero si hay diferencias significativas entre los recubrimientos a diferentes tiempos. Lo que significa que si hubo cambios en la acidez de los tomatillos a través del tiempo, lo que se relaciona con la maduración de la fruta.

Tabla 4. Acidez de los tomatillos con R/L y con R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) g de ácido málico x 100 ml	Tf (19 días) g de ácido málico x 100 ml
R/L	2,13 (0,52) <sup>(a)(x)</sup>	0,25 (0,01) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	2,05 (0,09) <sup>(a)(x)</sup>	0,26 (0,02) <sup>(a)(y)</sup>

### 3.5 Vitamina C

Como se muestra en la Tabla 5, por los resultados obtenidos se puede observar que no existen diferencias significativas entre los recubrimientos a un mismo tiempo ni entre ellos. Pero el valor encontrado en tomatillo S/R, a los 9 días fue de 27,14(mg/100g de muestra), lo que nos indica que en este parámetro de calidad se perdió 2.76% de vitamina C, esto puede deberse a muchos factores que se degradan en la fruta con el tiempo.

Tabla 5. Vitamina C de los tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) mg/100g de muestra	Tf (19 días) mg/100g de muestra
R/L	24,74 (1,37) <sup>(a)(x)</sup>	26,2 (1,22) <sup>(a)(x)</sup>
R/A	26,18 (1,35) <sup>(a)(x)</sup>	26,39 (1,71) <sup>(a)(x)</sup>

### 3.6 Firmeza

Como se muestra en la Tabla 6, por los resultados obtenidos se puede observar, que no existe diferencia significativa en R/L y R/A a un mismo tiempo de ensayo, pero si existe diferencia significativa entre los dos recubrimientos a diferentes tiempos. Lo que significa que disminuyó la firmeza (N), de los

tomatillos con el tiempo, determinándose que los dos tratamientos tienen iguales comportamientos.

En los ensayos realizados a tomatillos S/R antes de la senescencia, estos dieron valores promedio de 0,63N, lo que nos indica que la cobertura adicionada a los tomatillos si retarda la perdida de la textura en alrededor de un 20%.

Otros investigadores [23], usaron almidón modificado al 4% con ácido cítrico, glicerina, extracto de ajo, aceite esencial de canela, y sal cubriendo tomates por el método de inmersión en condiciones ambientales por 22 días, determinaron que los parámetros de calidad como la pérdida de peso y firmeza no se vieron afectados. Los investigadores [33,34,35], demostraron que el efecto de los recubrimientos sobre las frutas con piel, no presentan efectos notables en los cambios de la firmeza medidos a un tiempo, datos parecidos a los encontrados en esta investigación.

Tabla 6. Firmeza (N) de los tomatillos con piel, con R/L y con R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Ti (1 día) N	Tf (19 días) N
R/L	0,16 (0,04) <sup>(a)(x)</sup>	0,49 (0,07) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	0,18 (0,05) <sup>(a)(x)</sup>	0,50 (0,00) <sup>(a)(y)</sup>

### 3.7 Color

Como se muestra en la Tabla 7, los datos de color están reportados en Coordenadas CIE L\*a\*b\*. Con los resultados obtenidos se puede observar que con respecto a la Luminosidad L\*, existen diferencias significativa entre R/L y R/A y entre los tiempos.

En la coordenada de saturación a\* se pudo determinar que existe diferencia significativa entre los recubrimientos a Ti, no así a Tf. Pero si hay diferencias significativas entre los tratamientos a diferentes tiempos.

Y en la coordenada de brillo b\* se puede observar que existe diferencias significativas entre los tratamientos a Ti y Tf y entre ellos.

Con el R/A, los tomatillos mantuvieron mayor luminosidad o claridad a tiempo final. Pero en las coordenadas saturación a\* y brillo b\* las coberturas no presentaron diferencias entre ellas. Cada una de las coordenadas siguió la misma evolución aumento con el tiempo de almacenamiento en todas los recubrimientos como es lógico por el avance de la maduración de este tipo de frutas como también lo demostró otros científicos [34].



Tabla 7. Coordenadas de CIE L\*a\*b\* en tomatillos con R/L y R/A a Ti y Tf

Recubrimientos	Luminosidad L*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	217 (0) <sup>(a)(x)</sup>	175 (9,6) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	209 (0) <sup>(b)(x)</sup>	185 (10,8) <sup>(ab)(y)</sup>

	Saturación a*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	16 (0) <sup>(a)(x)</sup>	33 (4,4) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	26 (0) <sup>(b)(x)</sup>	33 (5,0) <sup>(a)(y)</sup>

	Brillo b*	
	Ti (1 día)	Tf (19 días).
R/L	46 (0) <sup>(a)(x)</sup>	44 (1,3) <sup>(a)(y)</sup>
R/A	43 (0) <sup>(b)(x)</sup>	45 (1,2) <sup>(b)(y)</sup>

En la tabla 8, se puede observar los valores del análisis de color realizado a los tomatillos S/R a los 9 días antes de su senescencia, estos presentan valores muy parecidos a los obtenidos en los tomatillos con recubrimiento a los 19 días, esto parece indicar, que en la extensión de la vida útil de los tomatillos con el recubrimiento biodegradable y los aceites esenciales, retardaron el cambio de color a pesar de la diferencia de tiempo.

Tabla 8. Coordenadas de color L\*a\*b\* de los tomatillos S/R y a Tf (9 días).

Recubrimientos	Luminosidad L*	Saturación a*	Brillo b*
S/R	180 (8,2)	33 (4,1)	44 (1,8)

### 3.8 Resultados Microbiológicos

A los tomatillos con R/L y R/A, se les realizó pruebas de medición del desarrollo del halo (mm) decrecimiento de los mohos (*Colletotrichum gloeosporioides* y *Alternaria*) aislados de la fruta. Se tomó como referencia el día 9, relacionándolo con el tiempo que tienen de vida útil de los tomatillos S/R.

Los mohos fueron inoculados por método de incisión de 2 mm de profundidad, dos inoculaciones en los extremos en cada tomatillo. Los resultados promedio de las mediciones que se obtuvieron se muestran en la tabla 9, lo que nos indicó que hay menor crecimiento con el hongo CG, en los tomatillo con el R/L, y el menor crecimiento del hongo AL con el R/A, lo que nos indica que los mohos se desarrollaron de manera selectiva a la acción del aceite esencial.

Tabla 9. Medida (mm) del diámetro de los halos de crecimiento de los mohos CG y AL a los 9 días.

Promedio crecimiento de los mohos (mm)			
R/L		R/A	
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Alternaria</i>
0,66	1,0	0,71	0,87

Las observaciones del crecimiento de los mohos inoculados por incisión, se pudo medir a partir del día 6<sup>to</sup> hasta el día 10<sup>mo</sup>, tiempo máximo en el que se pudo manipular los tomatillos, como se observa en la Fig. 10.

Por el resultado de las imágenes podemos indicar que el hongo AL, causa más daño en la fruta invadiendo la pulpa y causando podredumbre que el hongo CG.

Para comprobar la eficiencia de los recubrimiento con los aceites esenciales se comparó con un blanco, donde se escogió 20 tomatillos para cada moho en estudio y se procedió a colocar los mohos en la superficie de la fruta por el método de frotis, obteniéndose como resultado que hasta el día 19 ninguno de ellos presento infestación por hongos u otros patógenos lo que nos indica que la cobertura es una buena protección.

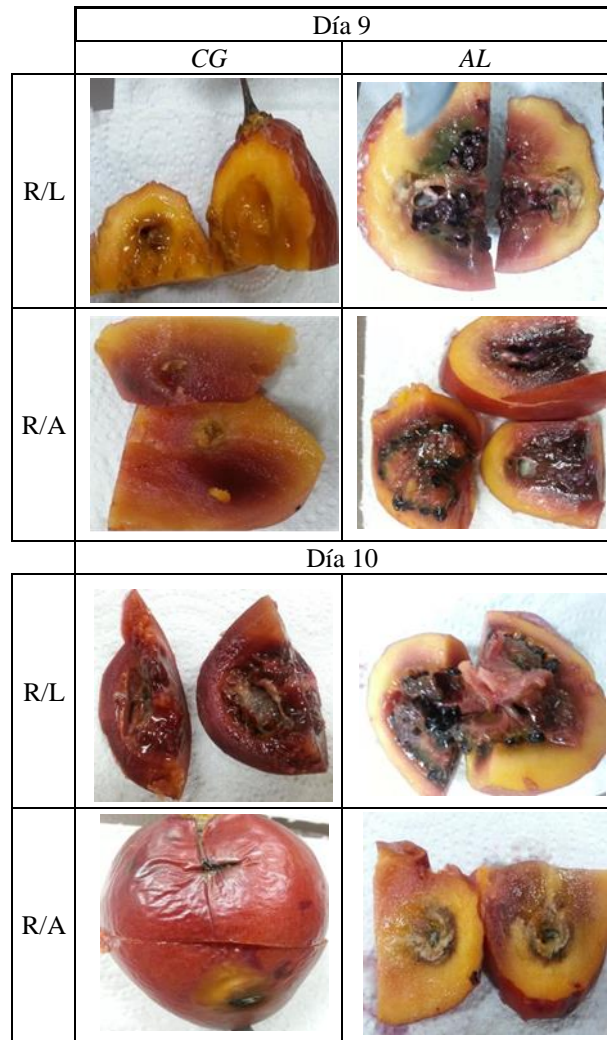
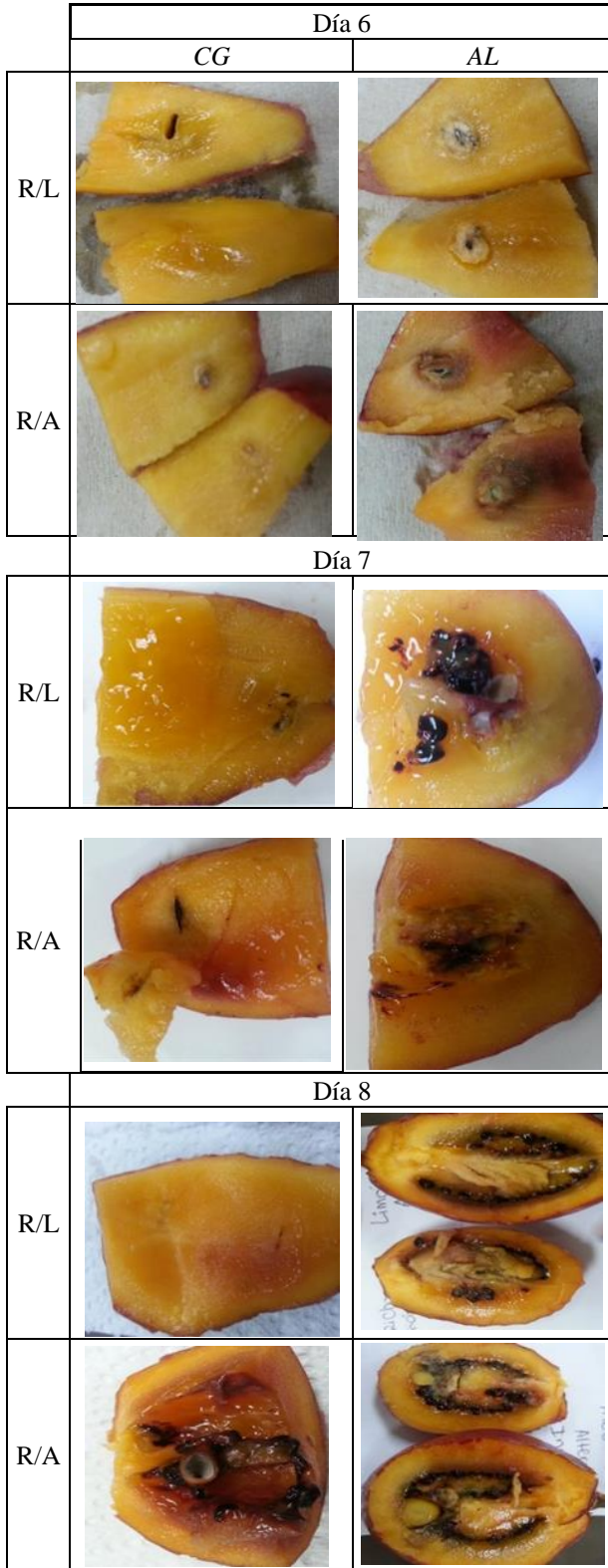
A pesar de que otros investigadores como [18,19,2,21], trabajando con almidones, gelatina y con aceite esenciales de canela, orégano, romero y clavo, demostraron que la adición de estos causo que la permeabilidad al vapor de agua aumentara, por lo que no se pudo medir la respuesta antimicrobiana sobre los alimentos, aunque si en ensayos in vitro, obteniendo una buena respuesta contra el desarrollo de microorganismos.

Otros investigadores como [22] trabajo con films de gelatina al que le añadió bactericidas (e. faecium y laurato de prunina) hizo una aplicación antimicrobiana frente a bacterias como la *listeria*, *estafilococos aureus*, demostrando que estos funcionaron bien como barrera para inhibir el desarrollo de estos microorganismos.

Con anterioridad los investigadores [16] ya habían demostrado que variando el aceite esencial y la cantidad del mismo, los resultados obtenidos eran diferentes.

Otros investigadores [24] quienes trabajaron con una cobertura de almidón de yuca y gelatina con aceite esencial de orégano demostraron que se aumentó el tiempo de vida útil de la papaya, extendiéndose de 10 días a 19 a temperatura ambiente, estos resultados tiene diferencia con lo encontrado por los investigadores [31] quienes hicieron un estudio de conservación de papaya con películas comestibles de yuca, obteniendo buenos resultados pero en papayas refrigeradas no así a temperatura de ambiente.

Fig 10. Desarrollo de los mohos inoculados por incisión desde el día 6 hasta el día 10 en los tomatillos con R/A y R/L.



#### 4. Conclusiones

La cobertura biodegradable a base de almidón de yuca nativo y gelatina de bovino 50:50 al 2% de sólidos totales con glicerol como plastificante, incorporado los aceites esenciales de limón y aloe vera, aplicado por aspersión sobre los tomatillos, dio como resultado un incremento del tiempo de vida útil de 9 días (tiempo máximo que se pudo controlar antes de que presentaran los signos de senescencia), que presentaron los tomatillos sin cobertura a 19 días, almacenados a temperatura ambiente. Este resultado se pudieron relacionar con los valores encontrados en los análisis de calidad como: pérdida de peso, donde los tomatillos con el recubrimiento y los aceites esenciales presentaron una pérdida de alrededor del 7% a los 19 días, mientras que los sin cobertura perdieron 8,5% de su peso al día 9 de ensayo.

Demostrada la eficacia de la cobertura se realizó, una comparación entre los tomatillos con cobertura de aceite

esencial de limón R/L y con aceite esencial de aloe vera R/A, en los parámetros de: sólidos solubles, acidez y vitamina C, donde no presentaron diferencias significativas entre ellas y entre los dos tiempos de estudio (1 día y 19 días). En el parámetro de humedad si se encontró que el R/L presentó una mayor pérdida de humedad, relacionándolo con los resultados obtenidos en el control de pérdida de peso. En cuanto al cambio de color se encontró un cambio al tiempo final (19 días), aunque no presentó valores superiores a los encontrados en los tomatillos S/R a los 9 días. Los R/L y los R/A, si presentaron cambios significativos en la textura de la fruta a los 19 días, obteniéndose como resultado, que los valores promedios fueron de 0,49% con R/L y 0,50% con el R/A, relacionando estos resultados con los obtenidos en los tomatillos S/R donde el valor encontrado fue de 0,63% a los 9 días, se descubrió que no se aceleró el cambio de color con el tiempo en los tomatillos recubiertos. Todos los valores obtenidos en los parámetros de calidad nos indican que la fruta se mantuvo en estado estacionario, durante el tiempo en el que se alargó su vida útil, dando valores a los 19 días parecidos a los observados a los 9 días en los tomatillos sin recubrimiento. En las pruebas microbiológicas se hizo un blanco para verificar el desarrollo de los mohos, haciendo un frotis de estos sobre la superficie de los tomatillos que ya tenían el recubrimiento biodegradable con los aceites esenciales, demostrándose que no se desarrolló ningún moho hasta el día 19, lo que nos indicó que la cobertura si es una protección para los tomatillos frente al desarrollo de mohos propios de la fruta. Además, se hizo medición del desarrollo del halo de los mohos en los tomatillos y se encontró que los hongos fueron selectivos en su ataque, siendo el moho *Colletotrichum gloeosporioides* con el R/L quien demostró más resistencia, mientras que con el hongo *Alternaria*, fue el R/A, el que presentó mejor efecto sobre este.

## 5. Bibliografía

[1] Cruz- Morfin, R., Martínez-Tenorio, Y., López- Malo, A., (2013). “Biopolímeros y su integración con polímeros convencionales como alternativa de empaque de alimentos”. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla. México. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Cruz-Morfin-et-al-2013.pdf>

[2] Aguilar M. (2005). Propiedades Físicas Y Mecánicas De Películas Biodegradables y Su Empleo En El Recubrimiento De Frutos De Aguacate. Tesis De Grado Del Instituto Politécnico Nacional. México

[3] Acosta S, Jiménez A, Chafer M, Gonzalez-Martinez Ch, Chiralt A. “Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids”. Food Hydrocolloids volume 49, July 2015, Pages 135-143. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.03.015.

[4] Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng N, Nogueira J, Saraiva J, Nunes M. “Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oil” . Industrial Crops and Products. July 2012. 43 (2013) p.587-595. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.07.069

[5] Souza A, Goto G, Mainardi J, Coelho A, Tadani C. “Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties”. LWT-Food Science and Technology. December 2013. Volume 54, Issue 2, pages 346-352. DOI:10.1016/j.lwt.2013.06.017.

[6] Pelissari F, Grossmann M, Yamashita F, Pineda E. “Antimicrobial, mechanical, and barrier properties of cassava starch- chitosan films incorporated with oregano essential oil”. Journal Agricultural and chemistry. 2009, 57, 7499-7504. DOI: 10.1021/jf9002363.

[7] Blanco K, y Agudelo A. “Estudio Comparativo de los Aceites Esenciales de *Lippia alba Mill N.E. Brown ex Britton & Wills* cultivado con tres tipos de Compost”. Facultad de Ciencias Escuela de Química. 2007. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. <http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/infraestructura/cibimol/tesi%20cibimol/Katerine%20y%20Andrea%20Agudelo.pdf>

[8] Gil, E, y Sáez A. “Evaluación a escala de planta piloto del proceso industrial para la obtención del Aceite esencial de *cardamomo*, bajo la filosofía cero emisiones” 2005. Universidad EAFIT. Medellín-Colombia.

[9] Segovia I, y Suarez. L. “Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica Smith* “Chincho” y determinación de su actividad antioxidante, antibacteriana y anti fúngica. 2010. Facultad de farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de San marco. Lima-Perú. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1619/1/Segovia\\_bi.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1619/1/Segovia_bi.pdf)

[10] Sinclair J, Dhingra O. “Basic Plant Pathology Methods”. April 5, 1995 Reference- 448 Pages ISBN 9780873716383- CAT. April 5, 1995 Second Edition. Reference- 448 Pages ISBN 9780873716383- CAT# L638

[11] Castellano G, Jara C, Mosquera G, Guía Práctica de Laboratorio para Manejo de Patógenos, Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Aislamiento de *Colletotrichum*, Método de cámara húmeda modificado. 2011, Páginas 3-6, 3-7, 3-8, 3-11

[12] Work with Color (2014). Color Converter. Disponible en: <http://www.workwithcolor.com/color-converter-01.htm>

[13] Serna L, y López S. “Actualización del manual del Laboratorio de Análisis de Alimentos”. 2005. Programa de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira Trabajo de graduación. Disponible en: [http://www.academia.edu/7379763/Actualizacion\\_de\\_manual](http://www.academia.edu/7379763/Actualizacion_de_manual).

[14] Association of Official Agricultural Chemists. Volumen (II). Método 967.21. Determinación de vitamina C.

- [15] Bernstein B, Zehr I, Dean A, Shabi E. "Characteristics of *Colletotrichum* from Peach, Apple, Pecan, and Other Hosts. The American Phytopathological Society. February 1995 478-482/vol. 79 No. 5.
- [16] Souza A, Goto G, Mainardi J, Coelho A, Tadini C. "Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties". June 2013. LWT-Food Science and Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.017>
- [17] Pelissari F, Grossmann M, Yamashita F, Pineda E. .. Antimicrobial, Mechanical and Barrier Properties of cassava starch-chitosan films incorporated with oregano essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. July 2009. 57, 7499-7504. DOI:10.1021/jf9002363
- [18] Kechichian V, Ditchfield C, Veiga-Santos P, Tadini C. "Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch" February 2010. LWT- Food Science and Technology. 43 – Pag: 1088-1094. doi.10.1016/j.lwt.2010.02.014
- [19] Gómez- Estaca J, Montero P, Fernández-Martin F, Alemán A, Gómez- Guillen. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. September 2009. Food Hydrocolloids. Pag: 1334-1341. Doi:10.1016/j.foodhyd.2008.09.013
- [20] Bezerra de Aquino a, Fitzgerald A, Lins de Aquino Santana. Impact of edible chitosan-cassava starch coating enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on the shelf life of guavas (*Psidium guajaba* L.) During storage at room temperature. Food Chemistry 171 (September 2015) Pag 108-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.077>
- [21] Atef M, Rezaei M, Behrooz R. Characterization of physical, mechanical and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. Food Hydrocolloids. November 2015 45 pag: 150-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.037>
- [22] Ibarguren C, Celiz , Diaz , Bertuzzi M, Daz m, Audisio M. "Gelatin based films added with bacteriocins and a flavonoid ester active against Food-borne pathogens. Innovative Food Science and Emerging Technologies 28 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2015.01.007> (February 2015) 66-72.
- [23] Barco P, Burbano A, Mosquera S, Villada H. Navia D. Efecto del recubrimiento a base de almidón de yucca modificado sobre la maduración del tomate. Revista Lasallista de Investigación- vol. 8 N°2 Diciembre 2011. (96-103)
- [24] Pinargote S, y Gálvez M. "Aplicación de Recubrimientos Biodegradables de Almidón de Yuca y Gelatina con Aceite Esencial de Orégano para la Conservación de Papayas a Temperatura Ambiente". Informe de proyecto de graduación 2015. Escuela Superior Politécnica del litoral. Guayaquil-Ecuador
- [25] Acosta S, Jiménez A, Chafer M, Gonzalez-Martinez Ch, Chiralt A. "Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids". Food Hydrocolloids volume 49, July 2015, Pages 135-143. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.03.015.
- [26] Abdelwahab S, Zaman F, Mario A, Yaacob M, Abdelmageed A, Khamis S. "Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of the essential oils of *Etlingera elatior* and *Cinnamomum pubescens* Kochummen". Journal of the Science of food and Agriculture. December 2010; 90(15):2682-8. (DOI:10.1002/jsfa.4140).
- [27] De Falco E, Mancini E, Roscigno G, Mignola E, Tagliatela-Scafati O, Senatore F. "Chemical Composition and Biological Activity of essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *Vulgare* L. under different growth conditions". Molecules December 2013, 18, 14948-14960; DOI:10.3390/molecules 181214948.
- [28] Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. "In vitro antibacterial activity of some plant essential oils". BMC Complementary & Alternative Medicine. V.6; Nov. 2006. DOI: 10.1186/1472-6882-6-39.
- [29] Ruiz A, Parra C, De Graca J. Salas B, Malik N, Kunta M. Molecular characterization and pathogenicity assays of *Colletotrichum acutatum*, causal agent for lime anthracnose in Texas. Revista Mexicana De Fitopatología. Noviembre 2014. Vol. 32 no. 1. Version on line ISSN 2007-8080.
- [30] Saavedra N, Algecira N. Evaluacion de peliculas comestibles de almidon de yucca y proteina aislada de soya en la conservacion de fresas. Ciencias Biomedicas. ISSN-1794-2470 Vol. 8 No. 14 Diciembre 2010: 121-240
- [31] Almeida A, Reis J, Santos D, Vieira T, Da Costa M. Estudio de la conservacion de la papaya ( *Carica papaya* L.) asociado a la aplicacion de peliculas comestibles. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnologia de Alimentos. Mayo 2011. 2(1):049-060. Depósito Legal: ppi201002CA3536.
- [32] Hernández-Medina M., Torruco-Uco J., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., (2008) Ciencia e Tecnología de Alimentos. Campinas 28 (3): 718:726
- [33] Maqbol M., Ali A., Alderson P.G., Mohamed M.T.M., Siddiqui Y., Zahid N. (2011). Postharvest application of gum Arabic and essential oils for controlling anthracnose and quality of banana and papaya during cold storage. Postharvest Biology and Technology. 62, (71-76).
- [34] Lakshmi S.M., Abirami L.S.S., Pushkala r., Srividya. (2011). Enhancement of storage life and quality maintenance of papaya fruits using Aloe Vera Based antimicrobial coating. Indian Journal of Biotechnology vol. 10, (83-89).
- [35] Asgar A., Mahmud T. M.M., Kamaruzamana S., Yasmeen S. (2010). Potential of chitosan coating in delaying the postharvest anthracnose (*Colletotrichum Gloeosporiodes* Penz) of Eksotika II Papaya. International Journal of Food Science and Technology, 45, 2134-2140.