

Encapsulação de compostos bioativos por emulsão Pickering: revisão

Pickering emulsions as encapsulation means of bioactive compounds: review

Carlos Andrés Beltrán^a  cabeltran@unadvirtual.edu.co

Beatriz Guevara-Guerrero^{a,b,c*}  beatriz.guevara@unad.edu.co

Juan Carlos Montero-Montero^a  juan.montero@unad.edu.co

Magda Piedad Valdés-Restrepo^{a,b}  magda.valdes@unad.edu.co

^aUniversidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería. Colombia.

^bGrupo de investigação BIOTICS.

^cUniversidade de São Paulo. Rua Alzira Silveira Pinheiro, Pirassununga, Brasil.

Recebido: 22/08/2022 Aceito: 27/08/2022

Citar, APA: Beltrán, C. A., Guevara-Guerrero, B., Montero-Montero, J.C., y Valdés-Restrepo, M. (2022). Encapsulação de compostos bioativos por emulsão Pickering: revisão. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 1–12. <https://doi.org/10.23850/24220582.5005>

Sumário A seguinte revisão bibliográfica sistemática teve como objetivo identificar os diferentes aspectos técnicos das emulsões Pickering, a importância e aplicação desta técnica na indústria de alimentos, com base nas propriedades mecânicas, físico-químicas e de estabilidade conferidos aos produtos alimentares. Nesta revisão bibliográfica, foram utilizadas diversas bases de dados acadêmicas, como Science Direct, Google Scholar, Scielo, Scopus, Elibro, entre outras. Como critério de seleção, foram considerados artigos científicos, livros, resenhas e todo material acadêmico relacionado ao assunto, e que foram publicados desde o ano de 2000 até o presente. De acordo com as fontes consultadas, verificou-se que este tipo de emulsão tem grande potencial para ser utilizado na produção de laticínios, bebidas, condimentos e da indústria alimentícia. Além disso, há uma crescente demanda por produtos com componentes alimentícios biologicamente ativos, nos quais as referidas emulsões aplicadas como agentes encapsulantes, auxiliam na preservação desses componentes, o que pode trazer benefícios nutricionais e de saúde aos consumidores. Uma investigação mais aprofundada das emulsões Pickering, ainda é necessária para avaliar o mecanismo de entrega, liberação de bioativos e compatibilidade com outros componentes de sistemas alimentares reais.

Palavras-chave: emulsões Pickering, compostos bioativos, encapsulamento, estabilidade.

Abstract TIdentify the different technical aspects of Pickering emulsions, the importance and application of this technique in the food industry is the main objective of this bibliographic review., depending on the mechanical, physicochemical and stability properties that support food products. A variety of academic databases were used in this review such as Science Direct, Google Scholar, Scielo, Scopus, Elibro, amongst others. As a selection criterion, scientific articles, books, reviews and all the academic material related to the subject which were published since the year 2000 to the current year were taken into account. According to the sources consulted, it was found that this type of emulsion has great potential to be used in the production of dairy products, beverages, condiments and other areas of the food industry. In addition, there is a growing demand for products with biologically active food components in which those emulsions can be applied as encapsulating agents to help to preserving these components, which can bring nutritional and health benefits to consumers. However, further investigation of Pickering emulsions is still required to assess the delivery mechanism, release of bioactives and also compatibility with other components of real food systems

Keywords: Pickering emulsions, bioactive compounds, encapsulation, stability.

Introdução

Atualmente, a demanda por compostos alimentares biologicamente ativos e funcionais, imersos no desenvolvimento de produtos alimentícios, tem apresentado um aumento significativo, sendo as emulsões Pickering um dos métodos promissores de conservação e encapsulamento de bioativos na indústria alimentícia, por se tratar de uma emulsão estabilizada por partículas sólidas, além disso, essas propriedades não são tóxicas e permitem um equilíbrio entre as fases oleosa e aquosa (Shi *et al.*, 2016). Este fenômeno foi descoberto pela primeira vez por Ramsden, em 1903, e analisado pela primeira vez na literatura por Pickering, em 1907 (Dickinson, 2012), onde foi descrito de como a estabilidade das emulsões dependia do tamanho e umedecimento das partículas sólidas, tanto no meio aquoso quanto na fase oleosa, mas insolúvel em qualquer uma das duas fases (Dickinson, 2012).

Os compostos presentes nos alimentos podem ser instáveis ou sofrer alguma degradação por incompatibilidade, reduzindo sua eficácia. Daí a importância de desenvolver sistemas que permitam encapsular, proteger e promover a absorção desses compostos, sendo as emulsões Pickering uma opção para cumprir essa função e melhorar consideravelmente a estabilidade mecânica do processo de encapsulamento (González-Ortiz *et al.*, 2020).

O objetivo da revisão a seguir, é identificar as principais aplicações das emulsões Pickering como meio de encapsulamento de compostos bioativos na indústria. Também busca investigar os principais parâmetros que influenciam a estabilidade físico-química de emulsões Pickering incorporadas em produtos alimentícios.

Metodologia

No presente estudo, foi desenvolvida uma revisão da literatura científica. Inicialmente, realizou-se uma pesquisa bibliográfica diretamente

relacionada como as emulsões Pickering, que permitem o encapsulamento e a liberação controlada de compostos bioativos em matrizes alimentícias. Os critérios de busca aplicados foram: 1) definição de emulsões Pickering, 2) produção de emulsões Pickering, 3) Aplicação da Emulsão Pickering no Encapsulamento de Bioativos em Alimentos e 4) Estabilidade Físico-Química de Emulsões Pickering Incorporadas em Produtos Alimentícios. Os meios de informação consultados foram: ScienceDirect, Scopus, Google Acadêmico e Scielo, onde foram encontrados artigos científicos e capítulos de livros relacionados ao tema do trabalho. Os critérios de inclusão da bibliografia foram: 1) publicações científicas entre 2000 e 2022 2) publicações redigidas em inglês, português e espanhol. Posteriormente, a literatura científica que atendeu aos critérios supracitados, foi selecionada e organizada com os pontos mais relevantes de cada publicação.

Resultados e discussão

Emulsão Pickering

Uma emulsão de Pickering aplica partículas sólidas como um estabilizador que cumpre uma função tensoativa. O processo consiste na estabilização de emulsões óleo/água (O/A), através da utilização de partículas sólidas, que são absorvidas na superfície dos glóbulos de óleo, desenvolvendo assim uma estabilidade melhorada de tais emulsões, em relação a emulsões à base de tensoativo. A estabilização por partículas sólidas, confere propriedades específicas como alta resistência à coalescência (sendo este o principal benefício) e livre de tensoativos. As partículas sólidas, morfologicamente, devem ser menores que as da superfície das partículas sólidas pela água e pelo óleo, que origina a forte ancoragem na interface óleo-água (Aveyard *et al.*, 2003).

Vantagens das emulsões Pickering

As emulsões Pickering têm ampla aplicação no campo da biomedicina, cosmética, entre outras. As vantagens mais relevantes das

emulsões Pickering são descritas abaixo (Yang *et al.*, 2017): 1. Utilizam partículas sólidas como emulsificantes como meio de estabilização da emulsão, que têm a possibilidade de absorver de forma irreversível na interface óleo/água. 2. A emulsão não é suscetível ao ambiente externo, como mudança de pH, força iônica, temperatura e estrutura do estágio de óleo do sistema. 3. Em comparação com as emulsões estabilizadas com surfactantes convencionais, as emulsões Pickering requerem menos porções de estabilizantes durante todo o processo de preparação. 4. Os materiais sólidos utilizados como substâncias naturais comestíveis, também apresentam boa biocompatibilidade e têm a

possibilidade de serem utilizados como veículos para o fornecimento de substâncias bioativas.

Classificação de emulsões de Pickering

Em emulsões estabilizadas por partículas, a decisão sobre o tipo de emulsão depende daquela que é quantificada pelo ângulo de contato (Figura 1). De acordo com a regra de Bancroft, partículas hidrofílicas (ou seja, com ângulo de contato de 90°) são mais adequadas para estabilizar emulsões água/óleo (A/O). As partículas que são completamente umedecidas pela água ou óleo permanecem dispersas nessa fase e não podem formar uma emulsão (Aveyard *et al.*, 2003).

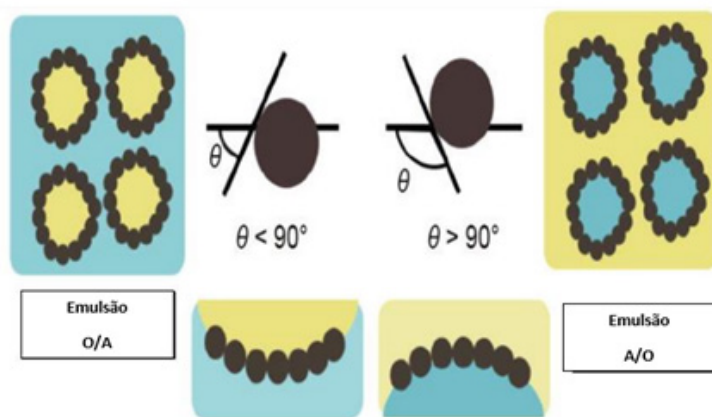


Figura 1

Relação do ângulo da partícula (θ) e tipo de emulsão

Nota. Aveyard et al. (2003).

Emulsões Pickering podem ser classificadas em dois tipos (Berton-Carabin & Shroën, 2015):

Emulsões de óleo em água (O/A). Emulsões estabilizadas por partículas hidrofílicas. Se o ângulo (θ) (medido através da fase aquosa) for menor que 90° , as partículas são preferencialmente umedecidas com água, permitindo a estabilização desse tipo de emulsão (Figura 1) (Aveyard *et al.*, 2003).

Emulsões de água em óleo (A / O). Emulsões estabilizadas por partículas hidrofóbicas. Se as partículas estiverem impregnadas pelo óleo, o ângulo de contato será maior que 90° , sendo uma emulsão (A/O) (Figura 1) (Aveyard *et al.*, 2003)

Funções das Nanopartículas na Emulsão Pickering

As nanopartículas sólidas, que substituem o surfactante convencional, desempenham um papel importante na preparação de emulsões de Pickering, por isso devem ter características particulares para atuar como estabilizador de emulsões. As características incluem o grau de umedecimento, que pode ser caracterizado pelo ângulo de contato na interface óleo-partícula-água (Aveyard *et al.*, 2003). Outra característica importante que deve estar presente é o tamanho das partículas, que tem um efeito profundo em sua energia de dessorção. Além disso, o tamanho das partículas também afeta o mecanismo de estabilização das emulsões Pickering (Wu & Ma, 2016).

As partículas que são comumente usadas para estabilizar emulsões de Pickering, são partículas de polissacarídeos, partículas de proteínas, partículas lipídicas e partículas inorgânicas (Rodrigues *et al.*, 2020). Dentre alguns tipos de partículas sólidas, temos partículas de amido, quitosana, nanocristais de celulose, proteína de soro de leite, cristais de gordura, proteínas de soja, hidroxiapatita, partículas de Janus (Tavernier *et al.*, 2016).

Processo de encapsulação de compostos bioativos em emulsões de Pickering

O tamanho e as propriedades físico-químicas das partículas sólidas que são usadas como estabilizantes em uma emulsão, desempenham um papel importante na preparação de tais emulsões (González-Ortiz *et al.*, 2020). Atualmente, existe uma diversidade de partículas sólidas utilizadas na preparação de emulsões Pickering, onde os seguintes métodos devem ser levados em consideração de acordo com o tipo de partícula.

Decomposição Mecânica ou Química.

As partículas sólidas de grau alimentício são em sua maioria de tamanho grande, mas podem ser reduzidas por métodos mecânicos ou químicos; Entre essas partículas estão o amido natural e a celulose. Os métodos mecânicos mais comumente usados para redução de tamanho são, moagem criogênica, moagem úmida e homogeneização de alta pressão e alto cisalhamento, e o método químico mais comumente aplicado na indústria é a hidrólise ácida, reduzindo o tamanho das partículas insolúveis em água (Lu *et al.*, 2019).

Preparação de partículas de gel. As partículas de gel geralmente incluem proteínas e complexos de proteína-polissacarídeos, que são conectados a outros por meio de ligações covalentes, para formar um polímero de rede espacial sob certas condições. As partículas de gel de proteína são anfífilas e têm atividade

superficial na interface entre óleo e água (Guo *et al.*, 2016)

Método de Elaboração

O método de preparação das biopartículas sólidas, definir o método de preparação da emulsão de Pickering. Dentre os métodos mais comuns, temos:

Homogeneização rotor-estator. Um homogeneizador que é composto por um rotor e um estator. Devido à aceleração causada pela rotação de alta velocidade do líquido no dispositivo e a força de cisalhamento entre o rotor e o estator, o tamanho da gota de emulsão é reduzido. Além disso, para reduzir o tamanho médio das partículas de produtos homogêneos, o espaço entre o estator e o rotor deve ser reduzido. O tamanho da gota de emulsão é afetado pelo tempo de homogeneização e pela velocidade de rotação (Albert *et al.*, 2019).

Homogeneização de alta pressão e emulsificação ultrassônica. O método de homogeneização de alta pressão é um processo de emulsificação contínua mais comumente usados para preparar emulsões de Pickering. Seus principais equipamentos incluem bombas de alta pressão e bicos homogêneos (Dumay *et al.*, 2013). Os parâmetros de processamento UHPH, como o nível de pressão de homogeneização, reciclagem, homogeneização de um ou dois estágios, temperatura inicial do fluido processado e alguns aspectos da formulação da emulsão que foram investigados nos últimos estudos (Dumay *et al.*, 2013).

Emulsificação de Membrana. É um método prensado a fase dispersa pura ou emulsão primária em uma membrana microporosa, controlando a velocidade de injeção e as condições de cisalhamento. Esse método pode ser classificado em dois tipos: emulsificação

direta por membrana e emulsificação por membrana pré-misturada (Manga *et al.*, 2012).

Mecanismo de Estabilidade de Emulsões Pickering

Para entender melhor os mecanismos de estabilidade em emulsões Pickering, as seguintes definições são apresentadas a seguir:

Sedimentação. Gotas com densidade maior que a fase contínua tendem a afundar e formar uma camada no fundo da emulsão. (Saari *et al.*, 2016).

Creme. Gotículas com densidade menor que a fase contínua tendem a subir e formar uma camada de gotículas no topo da emulsão. (Saari *et al.*, 2016).

Floculação. Ocorre quando duas ou mais partículas ou gotículas se associam para formar um agregado maior, mantendo seu tamanho inicial. (Whitby *et al.*, 2016).

Coalescência. Descreve a fusão de duas ou mais gotículas em gotículas maiores após afinamento e ruptura do filme líquido entre as gotículas (Wu *et al.*, 2015).

O amadurecimento de Ostwald é outro mecanismo de estabilização de emulsões de Pickering, no qual gotículas menores crescem gradualmente para gotículas maiores, devido à difusão massiva de moléculas da fase dispersa para a fase contínua. (Thompson *et al.*, 2018).

O mecanismo de estabilização das emulsões Pickering é baseado no acúmulo de partículas sólidas na interface óleo-água em uma camada densamente compactada, o que

impede a floculação e coalescência da emulsão por repulsão eletrostática (Dickinson, 2012).

Os estudos da estabilidade mecânica das emulsões Pickering, focam na eficácia das partículas sólidas como emulsificantes no efeito do umedecimento e morfologia (tamanho médio de gotículas e índice de polidispersidade). Parâmetros críticos adicionais são a natureza do óleo, a concentração de partículas, a fração de volume da fase e a ordem de adição durante a fabricação (González-Ortiz *et al.*, 2020). Além disso, a microestrutura da camada interfacial absorvida, desempenha um papel crítico na investigação da estabilidade física das emulsões, onde a resistência à coalescência e amadurecimento de Ostwald e a espessura da camada interfacial que se forma ao redor das emulsões, podem ser examinadas (Ho *et al.*, 2016).

Teoria do filme de interface de partículas sólidas

A Interface de partículas sólidas se produz, devido à força capilar nas partículas sólidas parcialmente umedecidas em duas fases que podem ser adsorvidas na interface para formar um filme de partículas denso de camada única ou multicamada. Assim, o filme de partículas é uma barreira física que pode impedir que as gotículas se toquem e se agreguem umas às outras, o que aumenta o impedimento estérico e melhora a reologia e as propriedades de cisalhamento do filme de interface (Linke & Drusch, 2018).

Mecanismo de rede de partículas viscoelásticas tridimensionais

Refere-se à formação de uma estrutura de rede tridimensional entre partículas e partículas, e entre partículas e gotículas sob a força de Van Der Waals, que também é um fator importante na estabilização de emulsões de Pickering. Estudos mostraram que essa estrutura pode

aumentar a viscosidade da emulsão, reduzem a velocidade de migração das partículas e reduzem a velocidade de fusão das gotículas, o que retarda a delaminação da emulsão e evita a agregação das gotículas, outros aspectos como mol habilidade, concentração de partículas sólidas e a concentração de eletrólitos, o valor de pH da fase aquosa. Todos têm efeitos sobre a estabilidade de Pickering emulsões (Abend *et al.*, 1998)

Aplicação da Emulsão Pickering no Encapsulamento de Bioativos em Alimentos

Atualmente, existem duas categorias principais de partículas de grau alimentício que são utilizadas para a preparação de emulsões Pickering, sendo a primeira os polissacarídeos, dos quais temos o amido e a celulose como os mais comuns. Além disso, estudos estão sendo realizados com outros polissacarídeos pouco comuns como ciclodextrina, alginato, quitosana e derivados de celulose (Duffus, 2016).

Entre as proteínas temos a prolamina (proteína solúvel em álcool) que se tornou importante porque pode ser montada em partículas coloidais, zeína, isolado de proteína de soro de leite, isolado de proteína de soja e partículas de microgel à base de proteína de soja (Guo, 2021).

Tabela 1

Compostos bioativos encapsulados pela Emulsão Pickering

Tipo de emulsão Pickering	Nanopartícula estabilizadora	Composto bioativo	Referência
O/A	Amido de quinua	Trans-reveratrol	(Matos <i>et al.</i> , 2018)
	Amido de arroz	Licopeno	(Jain <i>et al.</i> , 2020)
	Amido de milho	Curcumina	(Lu <i>et al.</i> , 2019)
	Celulose	Vitamina D	(Winuprasith <i>et al.</i> , 2018)
	Quitosana-alginato	Tocotrienóis	(Tan <i>et al.</i> , 2018)
	Fitoesteróis	Isolado protéico de soro	(Zhou <i>et al.</i> , 2022)
	Carboximetilcurdlano octadecilaminado	óleo essencial de cravo	(Li <i>et al.</i> , 2022)
	Amido de milho	Indol-3-carbinol	(Zheng <i>et al.</i> , 2022)
	Glucano octenil succinato de tipo dendrímero de milho açucarado	B-caroteno	(Shi <i>et al.</i> , 2022)

Nota. Elaboração própria.

Gu *et al.* (2022) relataram nanopartículas híbridas de proteína/polissacarídeos naturais, originárias de soro de queijo fermentado com *Lactobacillus plantarum*. As emulsões obtidas apresentaram comportamento tipo gel com excelente estabilidade frente a variações de pH, força iônica e temperatura.

As propriedades das partículas têm um grande efeito nas propriedades da interface e nas características de fluxo da emulsão. Em emulsões de Pickering, devido à camada sólida interfacial única e seu efeito de impedimento estérico.

Os materiais ativos são difíceis de transbordar através da interface se estiverem encapsulados na fase dispersa. Entretanto, a emulsão possui alta estabilidade de encapsulamento e pode ser utilizada para estabilizar substâncias biologicamente ativas em sistemas alimentícios. Além disso, em comparação com as emulsões convencionais, a emulsão Pickering reduz os riscos potenciais de segurança alimentar, pois evita o uso de surfactantes sintéticos de pequenas moléculas (Guo, 2021). Abaixo, são listados alguns biocompostos encapsulados por meio da emulsão de Pickering, principalmente para fins alimentícios (Tabela 1).

Com relação ao uso das emulsões Pickering para encapsulamento e liberação de bioativos em matrizes alimentícias, é necessário aprofundar o estudo das nanopartículas e seus efeitos no corpo humano. A biodegradação de nanopartículas deve ser pesquisada, uma vez que para melhorar o umedecimento das partículas, elas precisam ser modificadas por absorção ou enxerto químico. Este tipo de emulsão tem potencial

para ser amplamente utilizado em produtos lácteos, bebidas, condimentos, entre outras áreas alimentícias, sendo um ponto chave de pesquisas que permitem o desenvolvimento de alimentos funcionais com ênfase na segurança e saúde alimentar. As principais características comparativas entre uma emulsão convencional e Pickering são descritas a seguir (**Tabela 2**).

Tabela 2

Comparação dos fatores que afetam a estabilidade das emulsões

Fator que afeta a estabilidade	Emulsão Pickering	Emulsão convencional
Concentração de partículas	As partículas sólidas devem ser absorvidas na interface óleo-água para atuar como emulsificantes. A estabilidade da emulsão tende a aumentar proporcionalmente com a concentração de partículas, à medida que a concentração de partículas aumenta, a emulsão é estável contra coalescência por mais tempo, devido ao fato de mais partículas poderem ir para a interface e melhorar a estabilidade da emulsão (Aveyard <i>et al.</i> , 2003).	São utilizadas moléculas de surfactantes: Os surfactantes são compostos de natureza anfifílica, sendo formados por uma parte hidrofílica e uma parte hidrofóbica. Essa dupla afinidade permite que eles se localizem na interface, reduzindo a tensão superficial e aumentando a estabilidade da emulsão (Matos <i>et al.</i> , 2020).
Umedecimento	É quantificado pelo ângulo de contato. De acordo com a regra de Bancroft, partículas hidrofílicas (ou seja, com um ângulo de contato < 90° medido através da fase aquosa), são melhores para estabilizar emulsões O/A. Em contraste, partículas hidrofóbicas (ou seja, com ângulo de contato > 90°), são mais adequadas para estabilizar emulsões A/O (Aveyard <i>et al.</i> , 2003). As variações de pH podem alterar a hidrofobicidade e, consequentemente, o umedecimento das partículas (He <i>et al.</i> , 2013)	Devido à sua dupla afinidade por moléculas tensoativas, a parte hidrofílica é atraída pela fase aquosa, enquanto a parte lipofílica é atraída pela fase oleosa. Esse fenômeno, chamado de absorção, faz com que a tensão interfacial entre água e óleo diminua, o que aumenta a estabilidade da emulsão (Matos <i>et al.</i> , 2020).
Emulsão Pickering	Através do uso de partículas sólidas, o fenômeno de coalescência é reduzido desde que seja feita uma formulação correta (Matos <i>et al.</i> , 2020).	O sistema HLB (Balanço hidrofílico-lipofílico) é um método semiempírico para prever que tipo de propriedades tensoativas uma estrutura molecular irá fornecer (Matos <i>et al.</i> , 2020).
Fator que afeta a estabilidade	A forma das partículas governa seu comportamento na interface e, consequentemente, sua capacidade de estabilizar a emulsão. A emulsificação ótima é alcançada em água razoavelmente pura (pH 6,4); qualquer variação importante do pH leva à supressão ou mesmo à não formação de uma emulsão (Saari <i>et al.</i> , 2016)	A morfologia não afeta a estabilidade da emulsão, pois são usados tensoativos sintéticos (Saari <i>et al.</i> , 2016).

Nota. Elaboração própria.

Estabilidade Físico-Química de Emulsões Pickering Incorporadas em Produtos Alimentícios

Estabilidade Física. Em estudos realizados, as emulsões Pickering apresentam maior resistência à coalescência e amadurecimento de

Ostwald em comparação às emulsões clássicas estabilizadas por surfactantes ou biopolímeros, devido à ancoragem irreversível das partículas na interface e à formação de uma rede 3D como resultado específico de interações entre partículas (Shi *et al.*, 2016).

As emulsões Pickering estabilizadas por partículas de grau alimentício, como partículas de amido de quinoa, foram estáveis à coalescência mesmo após um período de armazenamento de mais de dois anos (Timgren *et al.*, 2011). Segundo os autores, essa notável estabilidade, impossível de ser alcançada em emulsões estabilizadas por tensoativos, deve-se à espessa camada de grânulos de amido de quinoa que recobre as gotículas.

Excelente estabilidade a longo prazo também foi obtida usando outros tipos de partículas de grau alimentício, como nanopartículas lipídicas sólidas (Gupta & Rousseau, 2012), partículas de microgel à base de soja (Guo *et al.*, 2016), partículas de celulose à base de soja (Tang *et al.*, 2014) e partículas de quitosana (Liu *et al.*, 2012).

Os resultados indicam que as emulsões Pickering podem ser compatíveis com o sistema alimentar, se a emulsão apropriada for utilizada, uma vez que sua estabilidade a longo prazo as torna atraentes para o encapsulamento e entrega de bioativos, embora sejam necessários mais estudos de compatibilidade dessas emulsões em vários tipos de sistemas alimentícios reais.

Estabilidade oxidativa. Foi verificado que as emulsões Pickering têm melhor estabilidade química quando comparadas com as emulsões convencionais (Kargar *et al.*, 2011). Esses autores descobriram que as partículas de sílica poderiam reduzir o grau de oxidação lipídica muito mais do que dois surfactantes. Essa estabilidade oxidativa melhorada, deve-se à formação de uma camada interfacial mais espessa pelas partículas de sílica (Zhao *et al.*, 2013). A estabilidade oxidativa de emulsões estabilizadas usando partículas de grau alimentício, como celulose cristalina e partículas de amido, também foi comparada (Kargar *et al.*, 2011).

Como as partículas de celulose microcristalina podem formar camadas interfaciais mais espessas e eliminar os radicais livres, elas foram mais eficazes em retardar a taxa de deterioração oxidativa do que as partículas de amido (Xiao *et al.*, 2015). Observações semelhantes foram obtidas usando outras partículas com propriedades antioxidantes intrínsecas, como partículas do complexo zeína/quitosana (Wang *et al.*, 2015).

Foi demonstrado que a estabilidade da curcumina pode ser melhorada encapsulando-a em uma emulsão estabilizada com agregados de sílica de carga oposta, devido à formação de uma espessa camada interfacial (Zhao *et al.* 2014). Recentemente, a emulsão Pickering composta por nanopartículas de glúten de trigo e goma xantana, também foi utilizada para estabilizar esta emulsão, que continha betacaroteno, encontrando uma alta capacidade de retenção de bioativos, pois 90% do betacaroteno pode ser detectado mesmo após um período de armazenamento de 30 dias (Fu *et al.*, 2019).

Outro estudo importante, com foco na eficácia da emulsão Pickering estabilizada por partículas à base de celulose na preservação da atividade antibacteriana de óleos essenciais, foi recentemente relatado para cinamaldeído, eugenol e limoneno (Mikulcová *et al.*, 2016).

As emulsões Pickering, conforme detalhado nesta revisão de literatura, caracterizam-se por conter partículas sólidas que podem estabilizar sua estrutura. As partículas sólidas de grau alimentício, possuem um alto grau de segurança, mas possuem pouco umedecimento na fase oleosa e aquosa. Portanto, eles precisam ser modificados por absorção ou enxerto químico, pois as emulsões estabilizadas por uma única partícula não são muito estáveis, o que com o tempo causará a degradação da emulsão.

Caracterização Físico-Química da Emulsão Pickering

As propriedades das emulsões, em particular sua persistência ou estabilidade, dependem de fenômenos diferentes daqueles produzidos pelos tensoativos, em algumas ocasiões as partículas podem produzir casos muito interessantes nas aplicações, mas extremamente complexos nos fenômenos produzidos pela presença de partículas na interface de emulsões contendo água e óleo.

Coalescência. É definido como um processo físico de fusão de dois ou mais glóbulos de óleo em um glóbulo maior. Processo de separação das fases de uma emulsão, por efeitos de atração. A instabilidade pode ser observada nas mudanças na distribuição dos glóbulos de óleo e na reorganização das moléculas que participam da emulsão (Figura 2) (Álvarez *et al.*, 2009).

Agregação. A agregação ocorre quando os glóbulos da fase interna da emulsão formam pequenos grupos sem ainda se fundirem em

vários grupos maiores. Esse estado pode ser definido como pré-instabilidade, evidenciado pela diminuição da viscosidade (Figura 2) (Álvarez *et al.*, 2009).

Cremado. Pode ser descrito como o movimento das células sanguíneas em direção ao topo do sistema, sob o efeito da gravidade. Geralmente, a formação de creme ocorre basicamente devido a dois efeitos principais, o tamanho do glóbulo de óleo e a diferença de densidade entre as fases envolvidas (Figura 2) (Dukhin *et al.*, 2006).

Quebra. É a separação de uma emulsão em fases oleosa e aquosa. (Figura 2) (Álvarez *et al.*, 2009).

Emulsão estável. São eles que, uma vez formados, os líquidos permanecem unidos e não se separam (Figura 2) (Álvarez *et al.*, 2009).

A seguir, são descritas, brevemente, as principais características físico-químicas de uma Emulsão Pickering:

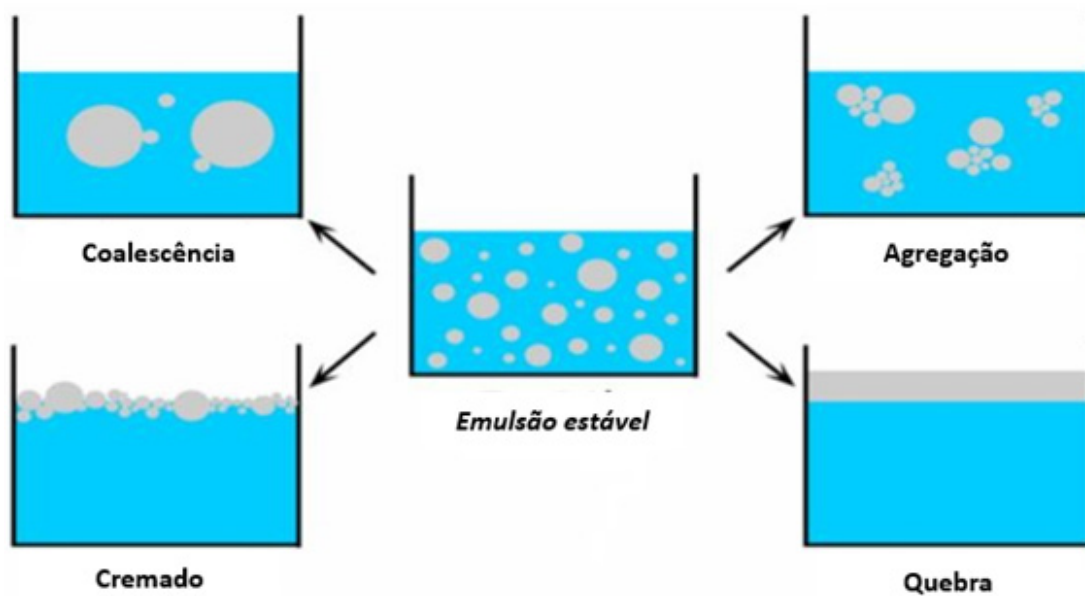


Figura 2

Fenômenos físicos que podem ocorrer na emulsão Pickering

Nota. Incuve (2022).

Conclusões

As emulsões Pickering são um sistema de mistura que usa partículas sólidas como estabilizador. Os dois tipos mais comuns são emulsões Pickering água/óleo (A/O) e óleo/água (O/A). Quando comparada às emulsões convencionais, a emulsão Pickering apresenta diversas vantagens como segurança e boa estabilidade, por isso é cada vez mais utilizada na indústria alimentícia. As emulsões Pickering tem potencial para ser amplamente utilizada em produtos lácteos, bebidas, condimentos e outras áreas alimentícias. Além disso, atualmente, devido à crescente demanda por produtos com componentes alimentares biologicamente ativos e funcionais está aumentando, já que esses ingredientes podem potencializar os efeitos da maioria das doenças crônicas e de estilo de vida, como obesidade, diabetes e câncer, tornando a emulsão de Pickering um foco de pesquisa. Entretanto, mais pesquisas ainda são necessárias para avaliar o mecanismo de entrega e liberação de bioativos, e também a compatibilidade com sistemas alimentares reais.

Referências

- Abend, S., Bonnke, N., Gutschner, U., & Lagaly, G. (1998). Stabilization of emulsions by heterocoagulation of clay minerals and layered double hydroxides. *Colloid and Polymer Science*, 276 (8), 730–737. <https://doi.org/10.1007/s003960050303>
- Albert, C., Beladjine, M., Tsapis, N., Fattal, E., Agnely, F., & Huang, N. (2019). Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release*, 309 (1), 302–332. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.07.003>
- Álvarez, R., Liendo, L., Vargas, J., & López, de R., Aura. (2009). Estudio de la coalescencia de burbujas en sistemas electrolíticos. *Revista de la Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 24 (3), 33–39. <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0798-40652009000300003&lng=es&lng=es>
- Aranberri, I., Binks, B., Clint, J., & Fletcher, P. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7 (3). <https://reviberpol.files.wordpress.com/2019/08/2006-aranberri.pdf>
- Arditty, S., Whitby, C. P., Binks, B. P., Schmitt, V., & Leal-Calderon, F. (2003). Some general features of limited coalescence in solid-stabilized emulsions. *The European physical journal. E*, 11 (3), 273–281. <https://doi.org/10.1140/epje/i2003-10018-6>
- Aveyard, R., Binks, B. P., & Clint, J. H. (2003). Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 503–546. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(02\)00069-6](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(02)00069-6)
- Berton-Carabin, C. C., & Schroën, K. (2015). Pickering Emulsions for Food Applications: Background, Trends, and Challenges. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6 (1), 263–297. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-081114-110822>
- Dickinson, E. (2012). Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 24 (1), 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.006>
- Duffus, L. J., Norton, J. E., Smith, P., Norton, I. T., & Spyropoulos, F. (2016). A comparative study on the capacity of a range of food-grade particles to form stable O/W and W/O Pickering emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 473, 9–21. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.03.060>
- Dukhin, S., Sjöblom, J., & Sæther, Ø. (2006). An Experimental and Theoretical Approach to the Dynamic Behavior of Emulsions. En Sjöblom, J. (Ed.), *Emulsions and Emulsion Stability*, 106. Second Edition. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028089>
- Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaría, A., Gracia-Juliá, A., & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31 (1), 13–26. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.03.005>
- Fu, D., Deng, S., McClements, D. J., Zhou, L., Zou, L., Yi, J., Liu, C., & Liu, W. (2019). Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: Enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 89, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.032>
- González-Ortiz, D., Pochat-Bohatier, C., Cambedouzou, J., Bechelany, M., & Miele, P. (2020). Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications. *Engineering*, 6 (4), 468–482. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.08.017>
- Gu, R., Li, C., Shi, X., & Xiao, H. (2022). Naturally occurring protein/polysaccharide hybrid nanoparticles for stabilizing oil-in-water Pickering emulsions and the formation mechanism. *Food Chemistry*, 395, 133641. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133641>
- Guo, J., Zhou, Q., Liu, Y.-C., Yang, X.-Q., Wang, J.-M., Yin, S.-W., & Qi, J.-R. (2016). Preparation of soy protein-based microgel particles using a hydrogel homogenizing strategy and their interfacial properties. *Food Hydrocolloids*, 58, 324–334. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.008>
- Guo, Q. (2021). Progress in the preparation, stability and functional applications of Pickering emulsion. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 639 (1), 12028. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/639/1/012028>

- Gupta, R., & Rousseau, D. (2012). Surface-active solid lipid nanoparticles as Pickering stabilizers for oil-in-water emulsions. *Food & Function*, 3 (3), 302–311. <https://doi.org/10.1039/C2FO10203j>
- He, Y., Wu, F., Sun, X., Li, R., Guo, Y., Li, C., Zhang, L., Xing, F., Wang, W., & Gao, J. (2013). Factors that affect Pickering emulsions stabilized by graphene oxide. *ACS applied materials & interfaces*, 5 (11), 4843–4855. <https://doi.org/10.1021/am400582n>
- Ho, K. W., Ooi, C. W., Mwangi, W. W., Leong, W. F., Tey, B. T., & Chan, E. S. (2016). Comparison of self-aggregated chitosan particles prepared with and without ultrasonication pretreatment as Pickering emulsifier. *Food Hydrocolloids*, 52, 827–837. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.019>
- Horozov, T., Aveyard, R., Clint, J. y Neumann, B. (2005). Particle Zips: Vertical Emulsion Films with Particle Monolayers at Their Surfaces. *Langmuir*, 21 (6), 2330–2341. <https://doi.org/10.1021/la047993p>
- Jain, S., Winuprasith, T., & Suphantharika, M. (2020). Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. *Food Hydrocolloids*, 104, 105730. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105730>
- Kargar, M., Spyropoulos, F., & Norton, I. (2011). The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 357 (2), 527–533. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.02.019>
- Li, H., Wu, C., Yin, Z., Wu, J., Zhu, L., Gao, M., & Zhan, X. (2022). Emulsifying properties and bioavailability of clove essential oil Pickering emulsions stabilized by octadecylaminated carboxymethyl curdlan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 216, 629–642. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.029>
- Linke, C., & Drusch, S. (2018). Pickering emulsions in foods - opportunities and limitations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58 (12), 1971–1985. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1290578>
- Liu, H., Wang, C., Zou, S., Wei, Z., & Tong, Z. (2012). Simple, Reversible Emulsion System Switched by pH on the Basis of Chitosan without Any Hydrophobic Modification. *Langmuir*, 28, 11017–11024. <https://doi.org/10.1021/la302111j>
- Lu, X., Li, C., & Huang, Q. (2019). Combining in vitro digestion model with cell culture model: Assessment of encapsulation and delivery of curcumin in milled starch particle stabilized Pickering emulsions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 917–924. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.078>
- Manga, M. S., Cayre, O. J., Williams, R. A., Biggs, S., & York, D. W. (2012). Production of solid-stabilised emulsions through rotational membrane emulsification: influence of particle adsorption kinetics. *Soft Matter*, 8 (5), 1532–1538. <https://doi.org/10.1039/C1SM06547E>
- Matos, M., Laca, A., Rea, F., Iglesias, O., Rayner, M., & Gutiérrez, G. (2018). O/W emulsions stabilized by OSA-modified starch granules versus non-ionic surfactant: Stability, rheological behaviour and resveratrol encapsulation. *Journal of Food Engineering*, 222, 207–217. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.009>
- Matos, M., Luque, S., & Gutiérrez, G. (2020). Formulación y estabilidad de emulsiones para encapsulación de biocompuestos. *Anales de Química*, 116 (2), 69–80. <https://analesdequimica.es/index.php/AnalesQuimica/article/view/1184>
- Mikulcová, V., Bordes, R., & Kašpárková, V. (2016). On the preparation and antibacterial activity of emulsions stabilized with nanocellulose particles. *Food Hydrocolloids*, 61, 780–792. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.031>
- Persson, K. H., Blute, I. A., Mira, I. C. (2014). Gustafsson, J. Creation of well-defined particle stabilized oil-in-water nanoemulsions. *Colloids Surfaces A*, 459, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.06.034>
- Rodrigues, C. A. L., Gomes, A., de Figueiredo, F. G., Tibolla, H., Menegalli, F. C., & Lopes, C. R. (2020). Modulating in vitro digestibility of Pickering emulsions stabilized by food-grade polysaccharides particles. *Carbohydrate Polymers*, 227 (1), 115344. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115344>
- Saari, H., Heravifar, K., Rayner, M., Wahlgren, M. and Sjöo, M. (2016). Preparation and Characterization of Starch Particles for Use in Pickering Emulsions. *Cereal Chemistry* 93 (2), 116–124. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-05-15-0107-R>
- Shi, W., Tang, C., Yin, S., Yin, Y., Yang, X., Wu, L., Zhao, Z. (2016). Development and characterization of novel chitosan emulsion films via Pickering emulsions incorporation approach. *Food Hydrocolloids*, 52 (1), 253–264. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.008>
- Shi, Y., Ye, F., Zhu, Y., & Miao, M. (2022). Development of dendrimer-like glucan-stabilized Pickering emulsions incorporated with β -carotene. *Food Chemistry*, 385, 132626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132626>
- Tan, P. Y., Tan, T. B., Chang, H. W., Tey, B. T., Chan, E. S., Lai, O. M., Baharin, B. S., Nehdi, I. A. & Tan, C. P. (2018). Effects of storage and yogurt matrix on the stability of tocotrienols encapsulated in chitosan-alginate microcapsules. *Food Chemistry*, 241, 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.075>
- Tang, Y., Yang, S., Zhang, N., & Zhang, J. (2014). Preparation and characterization of nanocrystalline cellulose via low-intensity ultrasonic-assisted sulfuric acid hydrolysis. *Célulose*, 21, 335–346. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0158-2>
- Tavernier, I., Wijaya, W., Van der Meeren, P., Dewettinck, K., & Patel, A. R. (2016). Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends in Food Science & Technology*, 50, 159–174. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.023>
- Thompson, K. L., Derry, M. J., Hatton, F. L., & Armes, S. P. (2018). Long-term stability of n-alkane-in-water pickering nanoemulsions: Effect of aqueous solubility of droplet phase on Ostwald ripening. *Langmuir*, 34 (31), 9289–9297. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01835>

Timgren, A., Rayner, M., Sjö, M., & Dejme, P. (2011). Starch particles for food-based Pickering emulsions. *Procedia Food Science*, 1, 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.016>

Wang, L. J., Hu, Y. Q., Yin, S. W., Yang, X. Q., Lai, F. R., & Wang, S. Q. (2015). Fabrication and characterization of antioxidant Pickering emulsions stabilized by zein/chitosan complex particles (ZCPs). *Journal of agricultural and food chemistry*, 63 (9), 2514–2524. <https://doi.org/10.1021/jf505227a>

Whitby, C. P., Khairul, A. H., & Hughes, J. (2016). Destabilising Pickering emulsions by drop flocculation and adhesion. *Journal of colloid and interface science*, 465 (1), 158–164. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.11.063>

Winuprasith, T., Khomein, P., Mitbunrung, W., Suphantharika, M., Nitithamying, A., & McClements, D. J. (2018). Encapsulation of vitamin D3 in pickering emulsions stabilized by nanofibrillated mangosteen cellulose: Impact on in vitro digestion and bioaccessibility. *Food Hydrocolloids*, 83, 153–164. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.047>

Wu, J., & Ma, G.-H. (2016). Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference. *Small*, 12 (34), 4633–4648. <https://doi.org/10.1002/smll.201600877>

Wu, T., Wang, H., Jing, B., Liu, F., Burns, P. C., & Na, C. (2015). Multi-body coalescence in Pickering emulsions. *Nature Communications*, 6 (1), 5929. <https://doi.org/10.1038/ncomms6929>

Xiao, J., Li, C., & Huang, Q. (2015). Kafirin Nanoparticle-Stabilized Pickering Emulsions as Oral Delivery Vehicles: Physicochemical Stability and in Vitro Digestion Profile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (47), 10263–10270. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04385>

Yang, Y., Fang, Z., Chen, X., Zhang, W., Xie, Y., Chen, Y., Liu, Z., & Yuan, W. (2017). An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications. *Frontiers in Pharmacology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>

Zhao, Y., Dan, N., Pan, Y., Nitin, N., & Tikekar, R. V. (2013). Enhancing the barrier properties of colloidosomes using silica nanoparticle aggregates. *Journal of Food Engineering*, 118 (4), 421–425. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.030>

Zhao, Y., Pan, Y., Nitin, N., & Tikekar, R. V. (2014). Enhanced stability of curcumin in colloidosomes stabilized by silica aggregates. *LWT - Food Science and Technology*, 58 (2), 667–671. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.03.017>

Zheng, W., Ren, L., Hao, W., Wang, L., Liu, C., & Zheng, L. (2022). Encapsulation of indole-3-carbinol in Pickering emulsions stabilized by OSA-modified high amylose corn starch: Preparation, characterization and storage stability properties. *Food Chemistry*, 386, 132846. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132846>

Zhou, S., Han, L., Lu, K., Qi, B., Du, X., Liu, G., Tang, Y., Zhang, S., & Li, Y. (2022). Whey protein isolate-phytosterols nanoparticles: Preparation, characterization, and stabilized food-grade pickering emulsions. *Food Chemistry*, 384, 132486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132486>

Humedad crítica, transición vítrea, y propiedades cromáticas de confites duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto y tintura de *Hibiscus sabdariffa* L.

Critical humidity, glass transition, and chromatic properties of hard candies enriched with eucalyptus essential oil and *Hibiscus sabdariffa* L. tincture

Guillermo Salamanca-Grosso^{a*}  gsalamanc@ut.edu.co

José Libardo Tapiero-Cuellar^b  jtapiero@sena.edu.co

^aGrupo de Investigaciones Mellitopalínológicas y Propiedades Físicoquímicas de Alimento [GIMELLIFISTO], Laboratorio de Investigaciones Propiedades Físicoquímicas de Alimentos [LIPFA], Universidad del Tolima, 730006299. Ibagué, Tolima, Colombia.

^bGrupo de Investigaciones en Ciencias & Tecnologías Agroindustriales [GITACAB], Centro Agropecuario de Buga, Servicio Nacional de Aprendizaje. Guadalajara de Buga, Valle del Cauca, Colombia.

Recibido: 18/10/2022 Aceptado: 25/10/2022

Citar, APA: Salamanca-Grosso, G., y Tapiero-Cuellar, J. L. (2023). Humedad crítica, transición vítrea, y propiedades cromáticas de confites duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto y tintura de *Hibiscus sabdariffa* L. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 13–25. <https://doi.org/10.23850/24220582.5212>

Resumen El objetivo de este trabajo se centró en el desarrollo de caramelos duros coloreados con sacarosa cristalizada, glucosa y ácido cítrico, adicionando aromas de fresa, cereza y uva. Se usó como colorante natural el extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae: Hybiscus) y aceite esencial de eucalipto, manteniendo el contenido de humedad en 13,6 g/100 g y los azúcares en 41,5 g/100 g, con un nivel de ácido cítrico de 0,80 g/100 g. Los aromas fueron incorporados a tres niveles distintos (0,1; 0,2 y 0,3), el colorante natural de *H. sabdariffa* (0,8; 1,6 y 2,5) g/100 g, y el aceite esencial de eucalipto en 300 mg/kg. En la evaluación de las formulaciones resultantes se consideraron los parámetros de humedad, humedad en el equilibrio e isoterma de sorción a 15, 25 y 35 °C que fueron a su vez proyectados a través del modelo de Gordon y Taylor, que a la postre se evidenció como una relación lineal. Se evalúan de forma general las relaciones entre humedad crítica, temperatura de transición vítrea y actividad de agua y los parámetros de cromaticidad (CIELab) en función de los componentes adicionados.

Palabras clave: caramelos, isotermas, cromaticidad, transición vítrea.

Abstract The aim of this work was focused on the development of colored hard candies using crystallized sucrose, glucose and citric acid, adding strawberry, cherry and grape flavors that were incorporated at three different levels. Extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae: Hybiscus) were used as natural colorants and essential oil of *Eucalyptus* sp (Myrtaceae: Eucalyptus), keeping the moisture content at 13,6 g/100 g and the sugars at 41,5 g/100 g with a citric acid level of 0,80 g/100 g. Flavorings were incorporated at three different levels (0,1; 0,2 and 0,3) and natural coloring of *H. sabdariffa* (0,8; 1,6 and 2,5) g/100 g and eucalyptus essential oil at 300 mg/kg. In the evaluation of the resulting formulations, the parameters of moisture and sorption isotherm at 15, 25 and 35 °C were considered, which in turn were projected through the Gordon and Taylor model, which in the end was shown to be a linear relationship. The relationships between critical humidity, glass transition temperature and water activity and the chromaticity parameters (CIELab) as a function of the added components are evaluated in general.

Keywords: candies, isotherms, chromaticity, glass transition.

Introducción

Los caramelos forman parte de la dieta humana desde siempre, y hoy día hacen parte de la gastronomía popular, son productos de confitería elaborados a partir de la cristalización de azúcares, y se clasifican en cristalinos y blandos. La producción de azúcar en la actualidad y los aumentos en su comercio y consumo, en relación con estándares de calidad y desarrollo tecnológico, han permitido la evaluación de productos de confitería (Archaina *et al.*, 2018; Edwards, 2003). En los países desarrollados, el consumo de azúcar es cercano a los 7 kg persona/año.

Los caramelos duros poseen una estructura amorfa, donde las moléculas permanecen en la matriz en condiciones aleatorias. Los productos con estructura amorfa tienen formación diversa; una de ellas es la disminución de temperatura por debajo del punto de fusión, y otra a partir de la evaporación del agua que contienen. La preparación de los productos de confitería se basa en la elaboración de jarabes concentrados de azúcar, que se someten a una operación de cocción hasta concentrar la mezcla (Campo *et al.*, 2018; Lesme, 2013; Hartel *et al.*, 2010; Ergun y Hartel, 2009).

Hay muchos factores que afectan la calidad en la producción de confitería. La formulación, la temperatura, el tiempo del proceso, y el contenido de humedad del producto final; son los factores más importantes. El uso de las soluciones azucaradas en la elaboración de caramelos duros genera que estos sean sólidos, brillantes, sobresaturados, superenfriados, y de consistencia vítrea (Cardoso y Abreu, 2004; Chung *et al.*, 1999).

En la formulación de los azúcares duros se pueden incluir sacarosa, glucosa, fructosa, sorbitol y maltosa. Se añaden ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico, y láctico para proporcionar inversión hacia el final de la etapa de cocción en calderas abiertas o al vacío. Preferiblemente, se añade sabor; se obtiene el

producto al amasarlo, doblarlo, darle forma y enfriarlo (Sánchez-Orozco *et al.*, 2022).

El contenido de humedad de los caramelos duros usualmente es al 2 %. Las mezclas usadas en la preparación se someten a elevadas temperaturas para su concentración y eliminación de agua. Una vez concentrada la mezcla se agregan los colorantes, saborizantes y ácidos, para finalmente troquelar, enfriar, y envolver el producto. Mientras que los caramelos blandos son elaborados básicamente de azúcar, glucosa, leche condensada, y grasa. A estos caramelos se les conocen como frutales, *toffees* y *fudge* cuya principal característica es la de ser cristalizados, y no necesitan refrigeración durante el almacenamiento (Ergun *et al.*, 2010).

El color es un parámetro de calidad en la elaboración y presentación de los alimentos (Zellner *et al.*, 2018). En cuanto al uso de pigmentos naturales, las antocianinas son preferentes en relación con otros colorantes de fuentes vegetales, por presentar mayor estabilidad a los cambios térmicos y de pH, debido a la acilación de estas antocianinas. El consumo de alimentos nutraceuticos, como los extractos de cálices de jamaica (*H. sabdariffa* L.), mejoran la salud y previenen varias enfermedades, esto atribuido en parte a la actividad de sus antocianinas. Como fuente importante de antocianinas destacan los cálices de la flor de jamaica (*H. sabdariffa* L.), que se consumen principalmente como bebidas refrescantes.

En los estudios de estabilidad de caramelos duros, el punto de inflexión de la curva de sorción se utiliza en la determinación de la humedad relativa crítica que induce la transición vítrea, considerada como un cambio reversible de un material que pasa del estado sólido vítreo al estado líquido gomoso al cambiar su temperatura o su contenido de humedad (Ergun y Hartel, 2009). La temperatura de transición vítrea (T_g) de carbohidratos de bajo peso molecular como glucosa, fructosa, y sacarosa ha sido estudiada como factor crítico para predecir la estabilidad de confites y caramelos (Saavedra-Leos *et al.*, 2012). En los productos de confitería con bajo contenido

de humedad, los azúcares presentan estructura vítrea y amorfa, que aseguran las condiciones de (T_g) para que tengan un aspecto transparente y claro (Tan y Kerr, 2017).

Caramelos duros almacenados por debajo de la (T_g), generalmente, presentan estabilidad durante mucho tiempo a lo largo del almacenamiento. No obstante, cuando la temperatura de almacenamiento es superior a la (T_g), se pierde la estructura vítrea, adoptando caracteres pegajosos, que afectan negativamente su calidad fisicoquímica y sensorial (Carpenter *et al.*, 2012). La (T_g) es una propiedad única de la porción amorfa del sólido. Las estructuras amorfas cuya (T_g) es baja, se encuentran en un estado estable, por encima de esta condición, están en un estado cauchoso.

Si el producto se encuentra por encima de la (T_g), las propiedades de movilidad del agua se verán incrementadas, la viscosidad se reducirá, y con ello, desarrollará pegajosidad no característica. Cuando ocurren cambios del estado vítreo a estado cauchoso, hay una transición de fases que provocan cambios en las propiedades fisicoquímicas del material. Los factores que se debe controlar en procesos de formulación y elaboración de confites; redundan en la temperatura del proceso, dureza del agua utilizada, y porcentaje de sólidos (Khaddour *et al.*, 2010; Hartel *et al.*, 2010).

Los caramelos duros también pueden mostrar propiedades higroscópicas altas o bajas, en función de la formulación, pueden ganar rápidamente humedad del medio, y cambiar las propiedades de transición vítrea de los azúcares. Para la elaboración de productos de confitería, es importante considerar el parámetro de humedad relativa de equilibrio (X_{eq}), que permite predecir el comportamiento del producto y su estabilidad. Cuando la (X_{eq}) del caramelo es superior a la del medio ambiente, el producto cederá su humedad, para finalmente, cristalizarse. Por el contrario, si la (X_{eq}) es inferior a la humedad relativa del aire, entonces, la tendencia es a la hidratación (Ergun *et al.*, 2010). Los caramelos duros son en general productos estables por tener un bajo contenido de agua.

Una condición específica de (T_g) permite evaluar la vida útil de los productos, evitando la pegajosidad de los caramelos terminados. Este parámetro se puede determinar haciendo uso de distintos métodos como la calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis dinámico termo-mecánico (DMTA) y técnicas de expansión térmica (TGA). El método teórico para la determinación de (T_g) procede mediante la aplicación de la ecuación de Gordon Taylor, para lo cual se tienen en cuenta los pesos de la fracción de azúcares y sus correspondientes temperaturas de transición vítrea (Ergun *et al.*, 2010).

El contenido de humedad es un parámetro crítico en la manufactura de confites duros y amorfos; su disponibilidad y estado físico influye en las propiedades físicas, la estabilidad química, las características sensoriales de los alimentos, y está ligado a la actividad de agua (a_w) (Salamanca, 2012; Ouiazzane *et al.*, 2008). La movilidad molecular en estado vítreo es baja, debido a la alta viscosidad de la matriz, por lo que no se esperan reacciones difusionales. La (T_g) puede tomarse como parámetro de referencia para caracterizar propiedades, calidad, estabilidad, y seguridad de sistemas de alimentos. En virtud de lo expuesto, el objetivo de este trabajo se ha orientado a la generación de caramelos duros, enriquecidos con aceite esencial de eucalipto (AEE), y extracto de tintura de flor de jamaica; evaluando el efecto de la composición en los parámetros de humedad relativa crítica, isoterma de sorción, transición vítrea, y propiedades cromáticas.

Materiales y métodos

Materias primas

En la elaboración de los caramelos duros enriquecidos con (AEE) se usó sacarosa purificada y cristalizada de alta calidad (densidad de 1,588 g/cm³, pH 6,95 ± 0,15 y punto de fusión 160 – 186 °C), glucosa (Globe 43 °Be), y ácido cítrico grado alimenticio. La extracción del (AEE) se obtuvo mediante operaciones de hidrodestilación asistida por microondas con arrastre con vapor (MWHHD), en un equipo cleverger modificado con capacidad para 500 g, operando el sistema durante 45 min. con 3 pulsos de 15 min. a 600 – 700 y 800 Watts, sobre una masa de 100 g de

hojas frescas. El (AEE) se almacenó en viales ámbar a 4 °C.

En cuanto al color, se utilizó un concentrado del 80 % del colorante natural de flor de Jamaica (*H. saldarifa*) obtenido por hidrodestilación en un sistema soxhlet e incorporado en tres concentraciones (8 - 16 - 25 %) a la mezcla de proceso. Las determinaciones finales se hicieron evaluando lecturas espectrales a 520 y 700 nm, en un espectrofotómetro UV-Visible Genesys 180 Thermo Scientific. El contenido de antocianinas monoméricas se estimó como cianidina-3-glucósido usando las relaciones que se indican en la Ecuación 1.

Ecuación 1

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH\ 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{pH\ 4.5}$$

$$AT(mg/kg) = \frac{A * PM * FD * 1000}{\epsilon * l}$$

Dónde: A es el cambio en la absorbancia, AT corresponde al contenido de antocianinas (mg/L), para cianidina-3-glucósido (PM masa molecular de 449,2 g/mol), y ϵ coeficiente de extinción molar para (26900 l/mol.cm) en celda de 10 mm, con factor de dilución (FD).

Formulaciones

En la formulación de los confites duros se mantuvo constante el contenido de agua, 13,6 % g/100 g de mezcla y la fracción de 41,5 g/100 g para cada uno de los azúcares de glucosa y sacarosa. Mientras que el ácido cítrico se mantuvo en 0,8 g/100 g. Las concentraciones de aromas de fresa (C_F), cereza (C_C), y uva (C_U) fueron incorporadas a tres niveles distintos para cada uno de los componentes nivel uno (0,1), segundo nivel (0,2), y tercero en (0,3) g/100 g. El colorante natural de flor de *H. saldariffa* L., se adicionó a 0,8; 1,6 y 2,5 g/100 g, y el aceite esencial de hojas de *Eucalyptus* sp en 300 mg/kg.

Proceso

Los caramelos fueron elaborados en el laboratorio de procesos de la Escuela Nacional de Confitería del Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA),

en el Centro Agropecuario de Buga. La fracción de glúcidos en cada una de las formulaciones se disolvieron en agua, se sometieron a cocción lenta hasta alcanzar 130 °C y un porcentaje de humedad de 2 a 3 %. La mezcla resultante, inmediatamente, se dispuso en mesa de enfriamiento hasta 90 °C, y se le adicionó ácido cítrico, lo que permite la iniciación de la transición vítrea del producto.

Los colorantes naturales fueron adicionados con el AEE, se propicia la microencapsulación en la masa que fue procesada en una abastonadora a 65 °C, y se facilita la formación de hilos de caramelo a través del legalizador, en dirección a la troqueladora y el túnel de secado a 35 °C, donde se completó la transición vítrea del confite.

Parámetros fisicoquímicos

Humedad. Una fracción de 30 g de muestra de cada una de las formulaciones de caramelos fueron sometidos a desecación permitiendo estimar el contenido de humedad, por pérdida de peso en un horno al vacío a 60 °C y 30 milibares, por 24 h siguiendo el método de la AOAC 934.01 (AOAC, 2006). El contenido de humedad se determinó por triplicado para cada muestra y corresponde a la cantidad de agua perdida por la evaporación. Las determinaciones permitieron estimar el contenido de humedad inicial de las muestras, que luego fueron evaluadas en la determinación de isotermas de sorción.

Color. Las evaluaciones de color de los confites elaborados se realizaron en la unidad Color Flex EZ M - 45/0 en relación con los parámetros del sistema CIELab (1976) sobre la cromaticidad rojo/verde (a^*), amarillo/azul (b^*), el croma (C) y el ángulo de tono (h).

Isoterma de sorción. La humedad crítica de cada una de las formulaciones se evaluó a partir de las isotermas de sorción a 15, 25 y 35 °C con el uso de sistemas herméticos de desecación; dispuestos con sales saturadas de cloruro de litio (LiCl), acetato de potasio (AcK), carbonato de potasio (K_2CO_3), cloruro de magnesio ($MgCl_2$), cloruro de sodio (NaCl), nitrato de potasio

(KNO₃), y sulfato de potasio (K₂SO₄). Las sales empleadas fueron grado reactivo (Merck). En el interior de las unidades de desecado se dispusieron cinco unidades de caramelo seco, estimando el peso de agua retenida (P_o), (Wolf, 1985). Las isotermas de sorción, relacionan el contenido de humedad de equilibrio alcanzado en relación con la actividad termodinámica del agua, en el producto a temperatura constante en el intervalo (a_w) de 0,700 a 0,906.

Humedad relativa crítica (HRC). Este parámetro se determinó mediante operaciones matemáticas de extrapolación a través de relaciones lineales e intersección de las porciones lineales extrapoladas, antes y después del punto crítico. Teniendo en cuenta la temperatura de transición vítrea que se considera como la transición entre adsorción en la superficie, y la absorción en la matriz para el contenido de humedad marginal, que en consecuencia, permite dividir la isoterma en dos porciones: antes y después del punto crítico.

Calor isostérico. Se estimó el calor isostérico neto de sorción (q_{st}) a partir del calor de vaporización del agua como función del calor total de sorción (Q_{st}), con los datos experimentales de a_w y la temperatura mediante la Ecuación 2 de Clausius-Clayperon, suponiendo que el calor isostérico neto de sorción (q_{st}) sea independiente de la temperatura (Ecuación 2).

Ecuación 2

$$\ln(a_w) = -\frac{q_{st}}{R} \left[\frac{1}{T} \right] + K$$

Aquí $q_{st} = Q_{st} - \lambda$ (kJ/kg), (a_w) es la actividad de agua. λ Calor latente de vaporización de agua pura (kJ/kg), T la temperatura absoluta, K es una constante y R constante de los gases (0,4618 kJ/kg). El calor de vaporización del agua pura (λ) se estimó de la relación $\lambda = [6887 - 5,31 T]$, (Silva *et al.*, 2002).

Transición vítrea (T_g): El modelo propuesto por Gordon y Taylor (GT) forma lineal permite estimar la temperatura de transición vítrea asumiendo un enfoque de disolución entre los

azúcares y la fracción de agua en los caramelos enriquecidos con aceite esencial de eucalipto. En la temperatura de transición vítrea de los componentes agua (T_{gw}) y glucosa (T_g) en °Kson (138) y 311,8 °K, respectivamente, y de 315,5 °K para la sacarosa. (Yilmaz y Gökmen, 2019). X_w representa a fracción húmeda en las muestras. En la variación de (T_g) con la humedad, los valores estimados usando el modelo, (GT), corresponden a 5,0886 para k y 49,375 (T_{gs}) de los sólidos anhidros (Tan y Kerr, 2017; Hartel *et al.*, 2010).

Ecuación 3

$$T_g = \frac{((1-X_w)T_{gs}) + (kX_w - T_{gw})}{(1-X_w) + (kX_w)}$$

La humedad en el equilibrio (X_{eq}) tras las mediciones de ganancia de peso al finalizar las evaluaciones de isotermas de sorción se estimó a partir de la relación que se indica en la Ecuación 4, donde P_o y W_o , representan el peso y fracción de humedad inicial del confite y ΔP es la ganancia de peso al finalizar la evaluación de las isotermas de sorción.

Ecuación 4

$$X_{eq} = \frac{P_o W_o + \Delta P}{P_o (1 - W_o)}$$

Análisis estadístico

La evaluación estadística de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). En los datos obtenidos, el efecto de los parámetros sobre los resultados se determinó mediante el análisis de la varianza y las diferencias entre las medias ($p < 0,05$) se determinaron mediante la prueba de comparación múltiple de Duncan.

Resultados y discusión

Las isotermas del equilibrio en jarabes o siropes usados en la elaboración de caramelos duros permiten evaluar el efecto del agua sobre la matriz que la contiene. La composición de los caramelos duros y la retención de agua, tienen un efecto crucial sobre las propiedades

de adsorción y velocidad de difusión de los componentes añadidos. La cantidad de ingredientes en el material de partida de los caramelos duros tiene una influencia importante en la higroscopicidad del producto. La humedad en el equilibrio y el contenido de agua de los confites duros, luego de permanecer expuestos al ambiente (temperatura y humedad relativa), presentan valores significativamente diferentes en las isothermas evaluadas (0,041 a 0,314 a 15 °C), (0,037 a 0,321 a 25 °C) y (0,032 a 0,341 a 35 °C), que a la poste se consolidan como valores equivalentes a la humedad relativa crítica, representan el efecto de los jarabes usados en las formulaciones de glucosa y sacarosa evaluadas, y presentan puntos de inflexión en las isothermas de sorción en ambientes de humedad relativa (54,9 % ; 52,7 a 50,7 %).

La forma de la curva de sorción es indicativa de la forma como el agua permanece ligada o adherida. En las isothermas de los caramelos duros se presenta agua de monocapa (zona I), con elevada estabilidad, y se le puede considerar como parte constituyente del alimento, ya que no es congelable a ninguna

temperatura. El agua de la zona II permanece débilmente ligada, actuando como una agente plastificante que promueve el hinchamiento de la matriz sólida; y en la zona III se presenta como agua libre contenida en los microporos, disponible para las reacciones metabólicas, y de crecimiento microbiano. La sacarosa en estado cristalino exhibe una isoterma tipo III, mientras que en el estado amorfo tiene un comportamiento tipo II. De otra parte, el jarabe de glucosa se presenta con efectos plastificantes que permiten la retención de agua, además de su leve efecto anticristalización.

Las relaciones distan de la linealidad y se presentan de forma exponencial (Tabla 1, Figura 1). La humedad en el equilibrio (X_{eq}) en relación a la actividad de agua (a_w) como límite de transición entre las zonas I y II a 15 °C; se presenta a 0,130 g de agua/g de sólidos secos y 0,6069 de (a_w), a 25 y 35 °C, con valores ligeramente más bajos (0,100 g de agua/g de sólidos secos y 0,5456 (a_w); 0,07950 g de agua/g de sólidos secos y 0,5456 (a_w), respectivamente) como se evidencia en la (Tabla 2, Figura 2).

Tabla 1

Relaciones generalizadas para las isothermas de sorción de caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto y colorante de H. sabdariffa

Temperatura °C	Expresiones	R ²
15	$X_{eq} = 10,392(a_w)^6 - 28,114(a_w)^5 + 29,5(a_w)^4 - 14,48(a_w)^3 + 3,36(a_w)^2 - 0,193(a_w) + 0,043$	0,999
25	$X_{eq} = -4,360(a_w)^6 + 12,2(a_w)^5 - 13,3(a_w)^4 + 8,091(a_w)^3 - 2,749(a_w)^2 + 0,5651(a_w) + 0,0085$	0,999
35	$X_{eq} = 4,915(a_w)^6 - 16,0(a_w)^5 + 19,7(a_w)^4 - 10,35(a_w)^3 + 2,276(a_w)^2 - 0,0460(a_w) + 0,028$	0,998

Nota. X_{eq} : humedad en el equilibrio; a_w : actividad de agua. Elaboración propia.

Generalmente, las confituras se presentan como estructuras amorfas donde los azúcares, inicialmente presentes como soluciones viscosas, se deshidratan hasta alcanzar la temperatura de transición vítrea (T_g). Los colorantes naturales,

que fueron adicionados con el aceite esencial de eucalipto, propician la microencapsulación en la masa, también, ejercen un efecto plastificante. El contenido en *H. sabdariffa* como cianidina-3-glucósido es del orden de 1250 ± 25 mg/kg.

Tabla 2

Actividad de agua y humedad en el equilibrio de caramelos duros enriquecidos con aceite enriquecidos con aceite esencial de eucalipto y colorante de H. sabdariffa

Sales	Temperatura					
	15°C		25°C		35°C	
	a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}	a_w	X_{eq}
LiCl	0,071	0,041	0,070	0,037	0,067	0,032
CH ₃ CO ₂ K	0,115	0,049	0,113	0,047	0,112	0,041
MgCl ₂ *6H ₂ O	0,244	0,065	0,224	0,061	0,208	0,055
K ₂ CO ₃	0,332	0,081	0,322	0,069	0,321	0,062
NaBr	0,445	0,092	0,441	0,087	0,433	0,082
CoCl ₂	0,549	0,112	0,527	0,098	0,507	0,084
NaCl	0,655	0,152	0,634	0,139	0,614	0,122
KCl	0,753	0,187	0,758	0,202	0,752	0,213
KNO ₃	0,852	0,257	0,835	0,264	0,821	0,262
K ₂ SO ₄	0,906	0,314	0,901	0,321	0,894	0,341

Nota. a_w : Actividad de agua. X_{eq} : Humedad en el equilibrio. Elaboración propia.

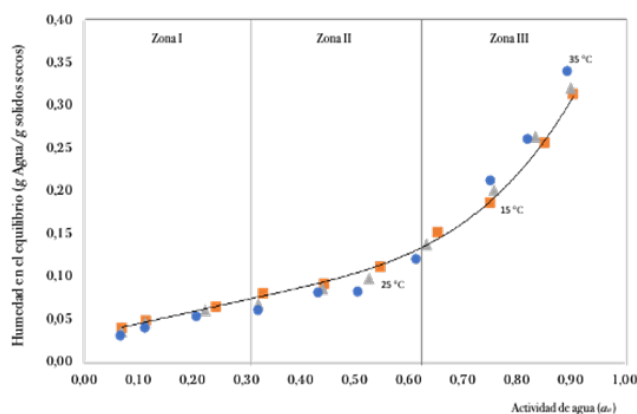


Figura 1

Isotermas de sorción de caramelos duros a 15, 25 y 35 °C

Nota. Elaboración propia.

Los jarabes de azúcar son soluciones saturadas que incrementan la concentración durante el proceso de elaboración de los caramelos, con el incremento del punto de ebullición de la solución. El efecto térmico se traduce en espesamiento, reducción del tamaño de burbujas, y modificación de las propiedades reológicas; donde la viscosidad se transforma

en consistencia, luego en textura, y los azúcares adicionados están en función del contenido de humedad. La adición de fructosa y sacarosa propician las sensaciones de dulzor y un efecto estabilizante. Los valores estimados para (T_g) son del orden de 23 y 30 °C a las temperaturas de 15, 25 y 35 °C, que son consistentes con (a_w) de 0,40, y (X_{eq}) de 0,08 y 0,10.

La evaluación del calor isostérico de sorción (Q_{st}), como propiedad del sistema, es un indicativo de la magnitud y del estado del agua adsorbida; por tanto, es una medida de la estabilidad fisicoquímica de las matrices alimentarias, que indica la fuerza de enlace entre las moléculas de agua y la superficie de los caramelos. Para el caso de los caramelos duros, el (Q_{st}) disminuye con el incremento de la humedad en equilibrio. Al aumentar la fracción húmeda, se reduce el valor del parámetro, debido a que el

agua ocupa menos sitios activos (Figura 3). Las humedades de equilibrio se mantienen hasta los 21 días de almacenamiento. El valor estimado para (Q_{st}) es del orden de 4915 kJ/kg, el calor isostérico neto de sorción (q_{st}) de 76 a 327 kJ/kg, y las relaciones entre $\ln(a_w)$ y $1/T$ son lineales (r^2 0,995). Las relaciones entre (X_{eq}), (a_w) y (Tg) de cada una de las temperaturas evaluadas en este trabajo para los caramelos enriquecidos con aceite esencial y colorante natural se recogen en la Figura 4.

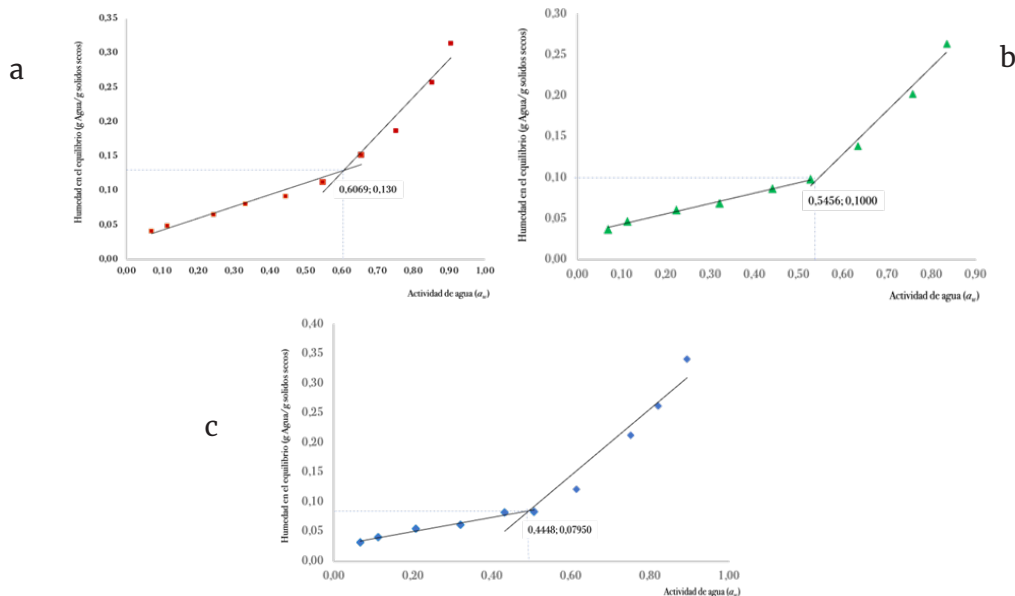


Figura 2

Perfil de las isotermas de sorción y humedad crítica de caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto colorante de y tintura de H. sabdariffa a tres temperaturas.

Nota. a) 15 °C; b) 25 °C; c) 35 °C. Elaboración propia.

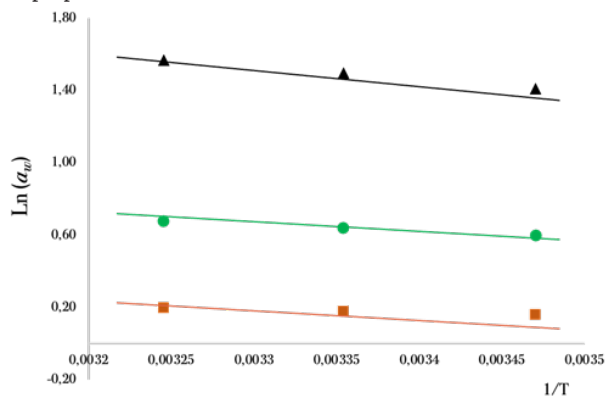


Figura 3

Representación lineal de $\ln(a_w)$ frente a $1/T$ de la ecuación de Clausius-Clayperon para la estimación de calor esotérico de sorción

Nota. Elaboración propia.

El efecto de (X_{eq}) sobre (T_g), considerando el modelo de Gordon y Taylor, se presenta como

una relación lineal de la forma $T_g = [-145,98(aw) + 64,8]$ con $r^2 (0,987)$.

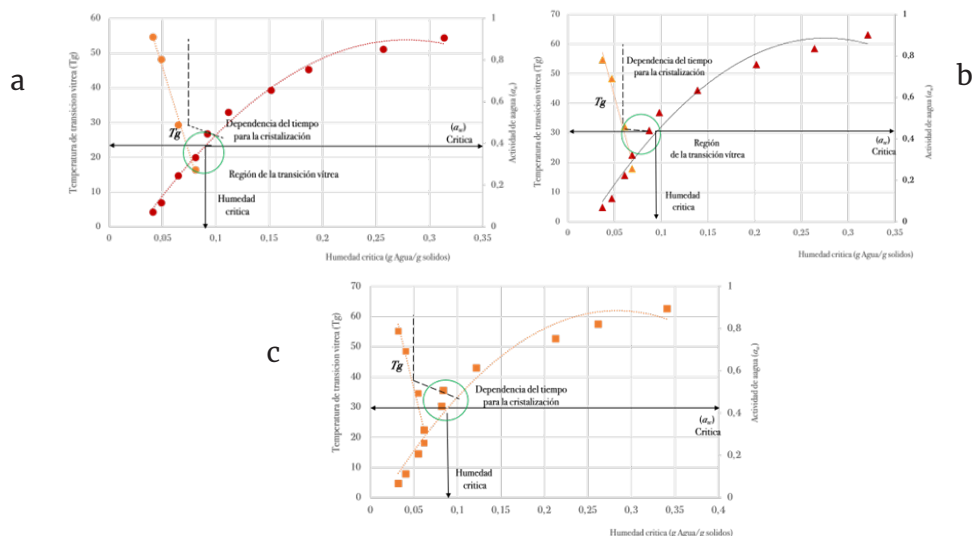


Figura 4

Efecto de la actividad de agua la humedad en el equilibrio y la temperatura de transición vítrea de caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto

Nota. a) 15 °C; b) 25 °C; c) 35 °C. Elaboración propia.

La temperatura de transición vítrea (T_g) queda definida por el contenido de sólidos y la humedad retenida al final del proceso de preparación, y se consolida como un parámetro determinante de la estabilidad para almacenamiento, por estar relacionada con las transiciones de fase. En un sistema de componentes (agua/solutos) ocurre una transición de fase cuando se reduce la temperatura del entorno. El punto de congelación de la mezcla se retrasa en relación con el solvente puro. El agua es el plastificante principal de carbohidratos amorfos y de otros sistemas biológicos, a baja concentración disminuye significativamente los valores de (T_g). También, interactúa con los grupos hidrofílicos en la matriz y su efecto plastificante se traduce en el incremento del volumen libre y del movimiento molecular. Entonces, entre más agua presente, los valores de (T_g) del sistema se acercan al valor (T_{gw}) del agua.

En el descenso térmico se va generando una fase sólida cuyo punto de fusión depende de la proporción y tipo de componentes inmersos en la matriz. Cuando la fracción total de solutos es

mayoritaria, y el agua es el segundo componente, se genera la reducción del punto de congelación. Las curvas para (T_g) en un diagrama de estado están en función de la fracción másica sólida del contenido de humedad, la cual principalmente, delimita los dos posibles estados físicos que puede tener un material amorfo con bajo contenido de humedad. Por encima de la (T_g) se encontrará en estado cauchoso y por debajo de esta, en estado vítreo. Las curvas para (T_g) adquieren valores bajos cuando la matriz tiene un elevado contenido de agua; lo que representa la vitrificación de una solución, a causa del efecto de la disminución instantánea de la temperatura por debajo de la temperatura de transición vítrea del agua pura (T_{gw} a -135 °K) (Salamanca, 2012).

En relación a los parámetros de cromaticidad y teniendo en cuenta los componentes adicionados como aroma de fresa (C_F), cereza (C_C) y uva (C_U) y que fueron incorporados a tres niveles (0,1; 0,2 y 0,3) g/100 g; junto al aceite de eucalipto y el colorante natural de flor de *Hibiscus* se recogen en la Tabla 3. La formulación proyectada con aroma de

fresa C1F1 a 0,1 g/100 g presentó valores más elevados para el parámetro de luminancia (L), seguida de la formulación de cereza (C1C2) a 0,2 g/100 g y uva (C1U3) con 0,3 g/100 g. En las demás formulaciones los valores de (L) se distribuyeron

entre $21,7 \pm 0,20$ y $28,5 \pm 3,20$. Los valores de cromaticidad rojo/verde (a^*) fueron más bajos en las formulaciones con mayores valores de (L) y más elevados en las formulaciones restantes.

Tabla 3

Parámetros de cromaticidad de caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto y colorante natural de flor de Jamaica

Formulaciones	Parámetros de cromaticidad				
	L	a^*	b^*	C_{ab}	h_{ab}
C1F1	$42,3 \pm 3,40^a$	$3,60 \pm 0,30^a$	$8,55 \pm 0,90$	$9,30 \pm 1,00$	$67,3 \pm 0,1$
C1C2	$31,7 \pm 4,00^b$	$3,50 \pm 0,20^a$	$8,40 \pm 0,90$	$9,06 \pm 0,80$	$67,2 \pm 3,3$
C1U3	$30,7 \pm 3,30^b$	$3,65 \pm 0,20^a$	$8,34 \pm 0,60$	$9,10 \pm 0,60$	$66,3 \pm 0,60$
C2F	$26,7 \pm 4,40^b$	$6,34 \pm 2,20^b$	$8,00 \pm 2,20$	$10,2 \pm 3,10$	$52,3 \pm 2,90$
C2C	$25,7 \pm 1,70^b$	$7,25 \pm 0,90^b$	$8,98 \pm 0,40$	$11,6 \pm 0,91$	$51,2 \pm 3,10$
C2U	$28,5 \pm 3,20^b$	$7,60 \pm 0,70^b$	$9,80 \pm 0,30$	$12,4 \pm 0,10$	$52,2 \pm 3,60$
C3F	$21,7 \pm 0,20^d$	$8,10 \pm 1,30^b$	$6,60 \pm 1,10$	$10,4 \pm 1,71$	$38,9 \pm 0,80$
C3C	$24,3 \pm 1,^b$	$8,18 \pm 0,41^b$	$6,85 \pm 0,70$	$10,7 \pm 0,70$	$39,8 \pm 1,40$
C3EU	$26,2 \pm 0,3^b$	$8,85 \pm 0,10^a$	$6,90 \pm 0,10$	$9,78 \pm 2,60$	$37,9 \pm 0,50$

Nota. ^{a, b, c, d}: niveles de significancia. L: luminancia; a^* : cromaticidad rojo/verde; b^* : cromaticidad amarillo/azul. Elaboración propia.

El perfil de la relación (a^* , b^*) permite discriminar los valores de cromaticidad de los caramelos elaborado en función del colorante añadido entres grupos: Caramelos con fresa (C1F1) añadida a 0,1 g/100 g, cereza (C1C2) a 0,20

y uva (C1U3) 0,30 (Figura 5). El segundo para caramelos de formulación (C3F), (C3C) y (C2F), con un tercer grupo heterogéneo (C2F), (C2C) y (C2U), estas diferencias se pueden explicar teniendo en cuenta las adiciones a 0,8; 1,6 y 2,5 g de *Hibiscus*.

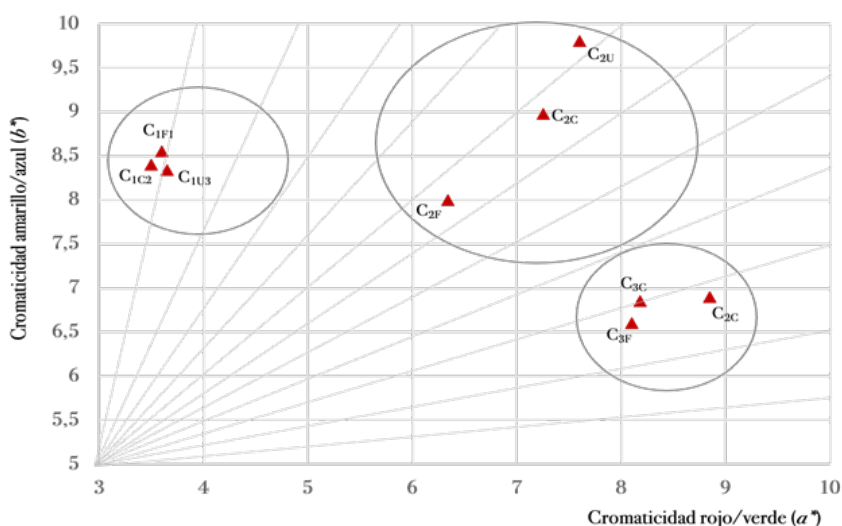


Figura 5

Distribución de los valores de cromaticidad de caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto, colorante natural y aromas añadidos

Nota. Elaboración propia.

Conclusiones

El trabajo que se relaciona permitió elaborar caramelos duros a base de sacarosa, glucosa y ácido cítrico, adicionando un colorante natural de *H. sabdariffa* y aromas de fresa, cereza y uva, evaluando y proyectando las relaciones generalizadas entre la humedad crítica y la actividad de agua a través de isotermas de sorción y que se estimaron como funcionales polinómicas.

El uso de colorantes naturales y aceites esenciales en el sector confitero permite incorporar metabolitos secundarios que además presentan como una tendencia de consumo como alimentos funcionales. Los caramelos con mayor concentración de colorante mostraron una mayor intensidad en el color rojo, y los elaborados a menor concentración presentaron valores más elevados en luminosidad y tonalidad.

En las isotermas de sorción se evaluó el efecto del agua ligada y libre presente en los caramelos funcionalizados, en virtud del contenido de agua y el efecto plastificante junto a los aromas y colorante adicionado, identificando tres zonas definidas.

Adicionalmente, se hicieron estimativos para el calor isostérico neto de sorción y calor total de sorción considerando los parámetros de actividad de agua y la temperatura a través de la ecuación de Clausius-Clayperon.

Se evaluó la dependencia entre el contenido de humedad crítica, la actividad de agua, y la temperatura de transición vítrea; estimadas a partir de la relación lineal del modelo de Gordon y Taylor para los caramelos duros enriquecidos con aceite esencial de eucalipto, en una aproximación que se hace válida, que se constituye como herramienta de diagnóstico

para estimar temperaturas de transición vítrea cuando no se dispone de otras técnicas de medición de este parámetro de estabilidad.

Los datos de la literatura sobre las isotermas de sorción y transiciones vítreas de diferentes productos se presentan como brecha que plantea la forma en que los dos procesos moleculares perciben la estabilidad a nivel molecular. Se percibe una relación inversa entre la temperatura de transición vítrea y la humedad retenida, cuanto mayor es la humedad menores valores de la transición.

El estudio de la temperatura de transición vítrea planteado define regiones de estabilidad de caramelos duros, elaborados a partir de los componentes agua-carbohidratos que revisten gran interés para optimizar el procesamiento y el almacenamiento que permitan mantengan características texturales aceptadas por el consumidor.

Los parámetros de cromaticidad en virtud a los componentes adicionados como aromas junto al colorante natural presentan valores significativamente diferentes en relación a todos los grupos evaluados y los valores de cromaticidad rojo/verde, fueron más bajos en las formulaciones con mayor luminancia.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses con respecto al trabajo realizado. El apoyo financiero para la investigación se reconoció apropiadamente.

Agradecimientos

Los autores agradecen ala Escuela Nacional de Confitería y al Grupo de Investigaciones en Ciencias & Tecnologías Agroindustriales (GITACAB)del Servicio Nacional de Aprendizaje

(SENA), en el Centro Agropecuario de Buga (Colombia), por el apoyo el apoyo técnico durante la fase de elaboración de los productos de confitería.

Al Departamento de Química por el habitual apoyo y al grupo de Investigaciones Mellitolalínológicas y Propiedades Fisicoquímicas de Alimentos de la Universidad del Tolima, por el acompañamiento en el proceso de preparación del manuscrito.

Referencias

- AOAC. (2006). Official Method 934.01. AOAC INTERNATIONAL. <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis-21st-edition-2019/>
- Archaina, D., Sosa, N., Rivero, R., Schebor, C. (2018). Freeze-dried candies from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and yoghurt. Physicochemical and sensorial characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 100, 444–449. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.049>
- Campo, V. Y., Gélvez, O. V. M., y Restrepo, J. L. (2018). Elaboración y estandarización de un confite (caramelo duro) a base de panela. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 5 (2), 74–79. <https://doi.org/10.23850/24220582.1414>
- Cardoso, A.V., y Abreu, W.M. (2004). Water and the glass transition temperature of organic(caramel) glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 348, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2004.08.125>
- Carpenter, R.P., Lyon, D.H., y Hasdell, T.A. (2012). *Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control*. 2nd Edition, Springer Science & Business Media, 201 p. ISBN: 0-8342-1642-6. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4615-4447-0>
- Chung, M-S., Ruan, R. R., Chen, P. L, y Xiaolan W. (1999). Physical and chemical properties of caramel systems. *LWT - Food Science and Technology*, 32 (3), 162–6. <https://doi.org/10.1006/fstl.1998.0521>
- Edwards, W. P. (2003). Sweets and Candies-Sugar Confectionery. En Caballero, B. (Ed.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition B*, 5703–5710. Academic Press: Oxford. p.
- Ergun, R., y Hartel, R.W. (2009). Phase transitions in confections: the graining factor approach. *Manufacturing Confectioner*, 89 (10), 51–5. <https://gomc.com/index.php/manufacturing-confectioner-subscriptions/>
- Ergun, R., Lietha, R., y Hartel, R.W. (2010). Moisture and shelf life in sugar confections. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50 (2): 162–192. <https://doi.org/10.1080/10408390802248833>
- Hartel, R. W., Ergun, R., y Vogel, S. (2010). Phase/ State Transitions of Confectionery Sweeteners: Thermodynamic and Kinetic Aspects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10 (1), 17–32. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00136.x>
- Khaddour, I.A., Bento, L.S.M., Ferreira, A.M.A., y Rocha, F.A.N. (2010). Kinetics and thermodynamics of sucrose crystallization from pure solution at different initial supersaturations. *Surface Science*, 604 (13–14), 1208–1214. <https://doi.org/10.1016/j.susc.2010.04.005>
- Lesme, C. (2013). *Creación de una confitería “Dulce Sabor”* [Tesis de pregrado, Universidad Tecnológica Intercontinental, Asunción, Paraguay]. Repositorio institucional.
- Ouiazane, S., Messnaoui, B., Abderafi, S., Wouters, J., y Bounahmidi, T. (2008). Modeling of sucrose crystallization kinetics: the influence of glucose and fructose. *Journal of Crystal Growth*, 310 (15), 3498–3503.
- Saavedra-Leos, M. Z., Alvarez-Salas, C., Esneider-Alcalá, M. A., Toxqui-Terán, A., Pérez-García, S. A., y Ruiz-Cabrera, M. A. (2012). Towards an improved calorimetric methodology for glass transition temperature determination in amorphous sugars. *CyTA - Journal of Food*, 10 (4), 258–267. <https://doi.org/10.1080/19476337.2011.639960>
- Salamanca, G. G. (2012). *Estudo analítico das propriedades térmicas e reológicas do mel floral e monofloral da Colômbia*. [Trabalho de pós-doutoramen., Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo].
- Sánchez-Orozco, M. D., Gomez-Daza, J. C., Giraldo, C. J. (2022). Efecto de la incorporación de polialcoholes, fructooligosacáridos y péptidos antihipertensivos en un masmelo depositado. *Revista Colombiana De Investigaciones Agroindustriales*, 9 (2), 1–14. <https://doi.org/10.23850/24220582.4174>
- Silva, F., Carvajal, M., Eslava, T., y Abugaber, F. (2002). Diseño térmico y mecánico de un intercambio de calor en base a tubos termosifones bifásicos. *Información Tecnológica*, 12, 63–70. <https://www.citrevistas.cl/revista/volumenes.htm>
- Tan, J., y Kerr, W. L. (2017). Determination of glass transitions in boiled candies by capacitance based thermal analysis (CTA) and genetic algorithm (GA). *Journal of Food Engineering*, 193, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.08.010>
- Wolf, W., Spiess, W.E.L., y Jung, G. (1985). Standardization of Isotherm Measurements (Cost-Project 90 and 90 BIS). En: Simatos, D., y Multon, J. L. (Eds), *Properties of Water in Foods*, p 661 – 679. NATO ASI Series, vol 90. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-5103-7_40
- Yilmaz, C., y Gökmen, V. (2019). Neuroactive Compounds in Foods: Occurrence, Mechanism and Potential Health Effects. *Food Research International*, 128, 108744. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108744>
- Zellner, D., Greene, N., Jimenez, M., Calderon, A., Diaz, Y., y Sheraton, M. (2018). The effect of wrapper

color on candy flavor expectations and perceptions.
Food Quality and Preference, 68, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.02.011>

Uso de propóleo y ϵ -polilisina como agentes preservantes en yogurt batido

Use of propolis and ϵ -polylysine as preservative agents in beaten yogurt

Nieve Esther Lectong-Cusmea^a  nieveslectongcusme@gmail.com

Isaac Leonel López-Pinargote^b  leoellopezpi@hotmail.com

Vicky Yuliana Parrales-Mendoza^a  rickyparrales1988@gmail.com

Neiva Marcela Quiñonez-Becerra^a  neiva_quinonez@espam.edu.ec

Beatriz María Bravo-Zamora^a  beatrizmariabz@hotmail.com

Arnaldo Narcizo Cevallos-Mendoza^c  cevallos-arnaldo3484@unesum.edu.ec

^aEscuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López", ESPAM MFL. Ecuador.

^bUnidad Educativa Fiscal Portoviejo. Ecuador.

^cUniversidad Estatal del Sur de Manabí, UNESUM. Portoviejo, Ecuador.

Recibido: 20/07/2022 Aceptado: 15/12/2022

Citar, APA: Lectong-Cusme, N. E., López-Pinargote, I. L., Parrales-Mendoza, V. Y., Quiñonez-Becerra, N. M., Bravo-Zamora, B. M., y Cevallos-Mendoza, A. N. (2023). Uso de propóleo y ϵ -polilisina como agentes preservantes en yogurt batido. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 26–40. <https://doi.org/10.23850/24220582.4980>

Resumen Este trabajo estudió alternativas para sustituir conservantes convencionales utilizados en la industria alimentaria. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la mezcla propóleo y ϵ -polilisina, a través del análisis estadístico, para identificar variaciones en la estabilidad del yogurt, desarrollo microbiano, cambios en las propiedades fisicoquímicas, vida útil, aceptabilidad sensorial y determinar las mejores concentraciones de conservantes. Se realizaron cinco tratamientos (T1: 5 mg ϵ -polilisina – 1 mL Propóleo, T2: 10 mg de ϵ -polilisina – 0,9 mL de propóleo, T3: 15 mg de ϵ -polilisina – 0,8 mL de propóleo, T4: 20 mg de ϵ -polilisina – 0,7 mL de propóleo, y T5: 25 mg de ϵ -polilisina – 0,6 mL de propóleo) con una mezcla de propóleo y ϵ -polilisina en un diseño completo al azar con 3 repeticiones. Se analizó las propiedades del preservante en la mezcla en términos de pH, acidez, recuento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, mohos y levaduras en yogurt almacenado durante 30 días a 4 °C. Se observó reducción significativa en el pH debido a los conservantes: los valores de T4 - T5 (4,69; 4,63) superiores a los valores de T3 - T1 - T2 (4,39; 4,24; 4,39)) se consideran más adecuados para los estándares internacionales. En las muestras analizadas no se evidenció presencia de *S. aureus*, y *E. coli*. La estabilidad del producto se calculó utilizando como indicador la cantidad de mohos y levaduras según la ecuación de Labuza. El análisis sensorial se llevó a cabo con 75 participantes sin entrenamiento los cuales indicaron que el tratamiento T2 y T3 tienen la aceptabilidad general más alta.

Palabras clave: conservación, industria alimentaria, preservante, microorganismos, propóleo, ϵ -polilisina.

Abstract This work studied alternatives to replace conventional preservatives used in the food industry. The objective of this research was to evaluate the effect of the mixture of propolis and ϵ -polylysine, through statistical analysis, to identify variations in yogurt stability, microbial development, changes in physicochemical properties, shelf life, sensory acceptability and determine the better concentrations of preservatives. Five treatments (T1: 5 mg ϵ -polylysine – 1 mL Propolis, T2: 10 mg de ϵ -polylysine – 0,9 mL de propolis, T3: 15 mg de ϵ -polylysine – 0,8 mL de propolis, T4: 20 mg de ϵ -polylysine – 0,7 mL de propolis, y T5: 25 mg de ϵ -polylysine – 0,6 mL de propolis) were carried out with a mixture of propolis and ϵ -polylysine in a completely randomized design with 3 replications. The properties of the preservative in the mixture were analyzed in terms of pH, acidity, count of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, molds and yeasts in yogurt stored for 30 days at 4 °C. Significant reduction in pH due to preservatives was observed: T4 - T5 values (4,69; 4,63) higher than T3 - T1 - T2 values (4,39; 4,24; 4,39) are considered more suitable for international standards. In the samples analyzed there was no evidence of the presence of *S. aureus*, and *E. coli*. The stability of the product was calculated using the amount of molds and yeasts as an indicator according to the Labuza equation. The sensory analysis was carried out with 75 participants without training, which indicated that the treatment T2 and T3 have the highest overall acceptability.

Keywords: conservation, food industry, preservative, microorganisms, propolis, ϵ -polylysine.

Introducción

El yogurt es uno de los productos lácteos más comunes y consumidos en gran parte del mundo; la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011 (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2011), lo define como el producto coagulado obtenido por fermentación láctica de la leche o mezcla de esta con derivados lácteos, mediante la acción de bacterias lácticas *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus salivaris subsp. thermophilus*, que pueden estar acompañadas de otras bacterias benéficas, que por su actividad le confieren las características al producto terminado; estas bacterias deben ser viables y activas desde su inicio y durante toda la vida útil del producto (Alvarado-Carrasco *et al.*, 2011).

Durante los últimos años, el consumidor a nivel mundial ha desarrollado una marcada tendencia por los productos naturales y saludables (Perdigón *et al.* 2002), tal y como es el caso del yogurt (Norat y Riboli, 2003; Crawford, 2004), que es el más popular de los productos acidificados de la leche (Buttriss, 1997). El consumo del yogurt implica de hecho importantes beneficios para la salud, entre los cuales pueden citarse: el ser una buena fuente de vitamina B12, ácido fólico y potasio (Crawford, 2004); el incremento en la biodisponibilidad de nutrientes como el magnesio, el zinc, calcio y fósforo (Palencia, 2004); la mejor absorción de la lactosa hidrolizada (Perdigón *et al.*, 2002); así como una excelente digestibilidad derivada de lo fácilmente metabolizable que es su fino coágulo por las enzimas digestivas (Palencia 2004) que es fuente de proteínas de excelente calidad (Mora-Newcomer, 1993).

En particular, el yogur muestra problemas durante la etapa de preservación, con desventajas como una acidez excesiva y sabores extraños debido a la presencia de microorganismos deteriorativos, sabor picante derivado de la aplicación de sorbato de potasio (Iriberry, 2014). Un elemento significativo para determinar los posibles orígenes del deterioro en los alimentos son sus características fisicoquímicas, que determinan la capacidad de desarrollo o

proliferación de los microorganismos (Clayton *et al.*, 2016).

Para la conservación de los alimentos se utilizan una amplia gama de métodos (atmosferas modificadas, aplicación de conservantes químicos, pasteuricen, entre otros), cuyo principal objetivo, como se ha demostrado, es prolongar la vida útil y mejorar la estabilidad de los alimentos para el consumo (Carrera, 2016). El deterioro o la pérdida de la calidad de los alimentos puede ser causada por la presencia de microorganismos y/o reacciones fisicoquímicas que ocurren después de la finalización de las etapas de preparación y acondicionamiento del alimento.

Actualmente, existe gran demanda de productos con etiquetas limpias, es decir, que presenten cantidades mínimas de conservantes de origen artificial, ya que estos se relacionan con intoxicaciones y enfermedades como el cáncer y la diabetes por condiciones no controladas de uso (Carrera, 2016). Lo antes indicado ha provocado que la parte industrial investigue nuevas opciones de conservación de alimentos, pero que estas desempeñen funciones semejantes que los conservantes artificiales y que sean compatibles, presentándose como una alternativa viable, el uso de conservador biológico (Gálvez *et al.*, 2011).

La ϵ -polilisina es obtenida mediante la fermentación de la bacteria aeróbica *Streptomyces albulus*. Es un compuesto de origen natural muy estable a temperaturas altas, en medios alcalinos y ácidos, y tiene un amplio espectro de actividad antibacteriana. Las cualidades favorables de la ϵ -polilisina la hacen apropiada para ser utilizada en la producción de recubrimientos comestibles con propiedades antibacterianas (Zhang *et al.*, 2015).

Otro conservador biológico es el propóleo, ampliamente conocido por sus propiedades como sustancia antioxidante en el organismo, también se le atribuyen características importantes como promotor de la salud; existe documentación donde se informa que ha sido empleado desde la antigüedad por los egipcios para embalsamar

cadáveres; en Grecia y Roma era empleada por los médicos como agente antiséptico y cicatrizante. Entre las culturas precolombinas, los Incas lo utilizaron como sustancia antipirética (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2011). Además, presenta actividad antimicrobiana (Gutiérrez-Cortés y Suarez-Mahecha, 2014), el potencial conservador biológico del propóleo se asocia a la presencia de ciertos compuestos, incluyendo a los flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres (Carrera, 2016). A través de los flavonoides, tiene actividad contra: *Bacillus subtilis*, *Bacillus de Koch*, *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces sobrinus*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus cricetus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Giardia lamblia*, *Bacteroides nodosos*, *Klebsiella pneumoniae*, incluso, contra *Streptococcus pyogenes*, que es resistente a los antibióticos (Mirzoeva *et al.*, 1997). Los flavonoides del propóleo, además de destruir las células bacterianas y micóticas, contrarrestan el efecto de la propagación de las toxinas bacterianas (Harborne *et al.*, 1976). El objetivo del estudio fue evaluar el efecto como conservante de una mezcla de propóleo y ϵ -polilisina sobre la estabilidad en el yogurt batido.

Tabla 1

Ingredientes y conservadores utilizados para la elaboración del Yogurt batido

Componentes	Unidad	T1	T2	T3	T4	T5
Leche semidescremada	G	907,20	907,20	907,20	907,20	907,20
Azúcar	G	90,8	90,8	90,8	90,8	90,8
Yoflex - YF-L812	G	2	2	2	2	2
Total	G	1000	1000	1000	1000	1000
ϵ -Polilisina	Mg	5	10	15	20	25
Propóleo	G	1	0,9	0,8	0,7	0,6

Nota. Elaboración propia.

El yogurt batido que se elaboró muestra una composición de leche semidescremada 90 %, y azúcar 10 %. Se utilizó YOFLEX YF-L812 (CHR HANSEN) liofilizado como fermento láctico, este se adicionó siguiendo la dosificación recomendada por el fabricante (aproximadamente 0,1 - 0,2 %) en correlación con la mezcla anterior (Tabla 1).

La obtención del propóleo se realizó a partir de un producto comercial de propóleo de Nature's Garden, S.A., el cual se comercializa con 20 % de concentración p/v. La ϵ -polilisina

Materiales y Métodos

El desarrollo de esta investigación se efectuó en la Universidad Técnica de Manabí, Extensión Chone Km 2 1/2 Vía Chone Boyacá, (17 m 597469,14 m E 9923947,68 m S) en el Laboratorio de procesos Agroindustriales y en la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Avenida Circunvalación, Vía San Mateo en la ciudad de Manta, Manabí, Ecuador (17 M 528298,46 m E 9894841,59 m S), en el Laboratorio de Investigación de Alimentos de la Facultad de Ciencias Agropecuarias.

La variable independiente utilizada como conservante del yogurt fue la mezcla de propóleo y ϵ -polilisina para formular 5 tratamientos (Tabla 1). Las variables dependientes evaluadas fueron (pH, acidez, recuento de mohos y levaduras, *S. aureus* y *E. coli*) y la evaluación sensorial. Se manejó un diseño completamente al azar con 3 repeticiones de cada tratamiento, las muestras fueron evaluadas en tres intervalos de tiempo 0, 15 y 30 días. Las muestras fueron colocadas en recipientes plásticos de 50 mL y almacenadas a 4 °C.

utilizada fue un producto comercial de Zhengzhou Binafo Bioengineering Co., Ltd, China, polvo de color amarillo claro de pureza ≥ 95 %, la extracción proveniente de cepas de *S. albulus* extracto, soluble en agua.

Producción del yogurt

La leche utilizada en la elaboración del yogurt fue proporcionada por la Universidad Técnica de Manabí, Extensión Chone, la materia prima fue almacenada en tanques de acero inoxidable

de 8 L. Posteriormente, se efectuó un proceso de precalentamiento a 35 ± 1 °C. El descremado de la leche se realizó en una descremadora (CENAPATOP, SICH 100, República Checa), para obtener la materia prima con alrededor del 2 % de grasa aproximadamente. En el proceso de pasteurización, la leche se calentó hasta llegar a 75 ± 1 °C/10 min, y el proceso de enfriamiento se llevó a cabo a una temperatura de 45 ± 1 °C. Enseguida, se agregaron 2 g/L (16 g) de iniciador YOFLEX YF-L812 CHR HANSEN (fermento láctico). Después de la adición del inóculo, la leche se conservó a 43 ± 1 °C hasta alcanzar un pH de 4.6, esta medición se realizó utilizando un potenciómetro (modelo 2221, HANNA, Alemania).

Una vez obtenido el pH óptimo, el yogurt se colocó en tanques de acero inoxidable de 80 L y se refrigeró a 4 ± 1 °C para evitar la fermentación del ácido láctico y reducir su oxidación. Posteriormente, el producto fue colocado en envases de 50 mL y se agregaron los conservadores biológicos en las proporciones indicadas en la Tabla 1. Los conservantes se mezclaron con el yogurt utilizando un batidor de varillas de acero inoxidable (200 rpm durante 4 minutos) hasta obtener una mezcla homogénea. Finalmente, el producto se almacenó durante 30 días a 4 ± 1 °C, tiempo que duró el ensayo.

Mediciones experimentales

Los parámetros fisicoquímicos (pH y acidez), microbiológicos (recuento de mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*) y la evaluación sensorial (sabor, olor, color, textura y evaluación general) se analizaron los días 0, 15 y 30 de almacenamiento.

El análisis de pH se realizó con un potenciómetro de acuerdo con el método 973,41 (AOAC International, 2005). Mientras que, el análisis acidez se realizó siguiendo el método 16267 (AOAC International, 2000), en el cual se utilizó NaOH 0,1 N y como indicador fenolftaleína para la titulación, los resultados fueron expresados como % de ácido láctico.

Para la determinación cuantitativa de hongos y levaduras se realizó el método de acuerdo con la en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 529-10:2013 (INEN, 2013a) mediante recuento en placa profunda en agar Sabouraud. Para establecer la presencia/ausencia de *Staphylococcus aureus* se manejó el método establecido por la en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1 529-14:2013 (INEN, 2013b). Mientras que, para evaluar la presencia de *E. coli* se utilizó la metodología especificada en la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1529-8:2016 (INEN, 2016).

Análisis sensorial

Para determinar el efecto de los conservadores en las propiedades sensoriales del yogurt (sabor, olor, color, textura y evaluación general), se eligieron 75 participantes no entrenados mediante la prueba hedónica de 9 puntos. Las muestras se expusieron utilizando vasos transparentes de 50 mL a 4 ± 2 °C, todas las muestras fueron codificadas aleatoriamente (Parra, 2013).

Estudio de vida útil

La vida útil del yogurt se estimó en base a la densidad de mohos y levaduras, utilizando un análisis de regresión lineal simple, enunciado en la Ecuación 1 (Labuza, 1982):

$$\text{Ecu. 1} \quad \ln(A) = \ln(A_0) - k * t$$

Dónde:

A: representa la calidad del yogurt al tiempo t,

A_0 : representa la calidad a tiempo cero,

k: es la constante que representa la velocidad de la reacción, y

t: indica el tiempo de almacenado.

Se realiza despeje de la incógnita tiempo, se obtiene el tiempo de vida útil del yogurt para conservar las características de calidad siendo estas mejores o iguales que A, siendo este el valor estándar mínimo para determinar la calidad admisible para ser consumido (Ecuación 2).

Ecu. 2
$$t = \frac{\ln(A) - \ln(A_0)}{k}$$

Se estimó en 10 UP/g de mohos y levaduras el valor límite de la calidad del yogurt para ser comercializado (A). Este valor corresponde al extremo inferior del intervalo para el contenido de mohos o levaduras en la Norma Venezolana de Yogurt 293.2001 (Comisión Venezolana de Normas Industriales [COVENIN], 2001).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en la evaluación de las características del yogurt (acidez, pH, presencia de mohos y levaduras) de cada tratamiento, fueron evaluadas utilizando la prueba ANOVA de una vía. Se verificó que los datos cumplieran con el supuesto de normalidad según las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, para verificar el de homogeneidad de varianzas se realizó usando la prueba de Levene.

Cuando no se cumplía alguna de estas suposiciones, se intentó corregir los sesgos convirtiendo los datos a base logarítmica 10 (pH y acidez) y a raíz cuadrada (recuento microbiano). Si al realizar este proceso no se corregía la desviación estándar, se utilizó la prueba (no paramétrica) de Kruskal-Wallis (K - W) con su respectiva prueba a posteriori.

Se utilizó regresión lineal simple para estudiar el modelo cinético de las variables acidez y pH, así también se evaluó la variabilidad del conteo de mohos y levaduras durante el tiempo de almacenado, empleando el modelo matemático de Labuza (1982).

Los cambios en los recuentos de mohos y levaduras en las muestras de los tratamientos y el tiempo de almacenado se valoraron mediante el análisis de varianza bidireccional y la prueba post hoc de Tukey-Kramer. La valoración de los resultados del análisis sensorial se efectuó utilizando el coeficiente de conformidad de Kendall. Los datos se procesaron con la versión gratuita de Infostat (Infostat, 2020), SPSS (IBM, 2020) y el paquete estadístico Microsoft Excel.

Resultados y Discusión

Tanto la variable de pH como la de acidez no cumplieron con la normalidad (Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov, $p < 0,05$) (datos no mostrados). Sin embargo, la varianza de la variable pH entre tratamientos fue heterogénea (Levene, $p < 0,001$), y la varianza de acidez ($p = 0,23$). Se realizó la conversión de los datos de pH y acidez a logaritmos decimales, y este no logró corregir los defectos presentados en los supuestos de normalidad y la heterogeneidad de las varianzas. Por lo tanto, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar las variables de pH y la acidez entre tratamientos.

Efecto de los preservantes sobre las variables pH y acidez

El pH presentó diferencia significativa entre los tratamientos (K - W, $p = 0,042$). T1, T2, y T3 mostraron los valores más bajos de pH, con respecto a los tratamientos T4 - T5, los cuales no presentaron diferencias entre sí (Figura 1).

Los valores de pH para los tratamientos T1, T2 y T3 son los más acordes a los especificados en las normativas internacionales mencionadas a continuación: Norma Técnica Peruana [NTP] 202.092 de 2014 (Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias -Perú, 2014), y el Real Decreto 271/2014 (Ministerio de la Presidencia de España, 2014), las cuales indican como requisito un $\text{pH} \leq 4,6$. Varias muestras en los tratamientos T4 y T5 sobrepasaron este valor de referencia.

Los datos reportados en la variable acidez no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (K - W, $p = 0,749$) (Figura 2).

En este estudio se encontró que el pH no fue estable en las muestras adicionadas con los conservadores. Los tratamientos T1 y T2, adicionados con el porcentaje más alto de propóleo, reportaron los niveles de pH más bajos.

Este comportamiento propone que el propóleo causa una caída significativa en el pH el primer día de mezclarlo con el yogurt, lo que puede deberse a algunas interacciones químicas de sus componentes (flavonoides, ácidos aromáticos y diterpenoides). Sin embargo, es difícil atribuir

esta propiedad a uno de los ingredientes, debido a la gran variabilidad en la composición de los propóleos y al predominio de determinados ingredientes entre ellos (Guaraca y Palomino, 2018; Barreto y Constantino, 2019).

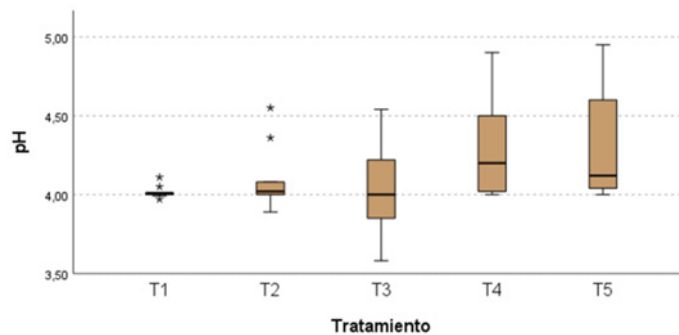


Figura 1

Efecto de la adición de propóleo y ϵ -polilisina sobre el pH de yogurt batido almacenado durante 30 días a 4 ± 1 °C

*Nota. *Mayor diferencia estadística. Elaboración propia.*

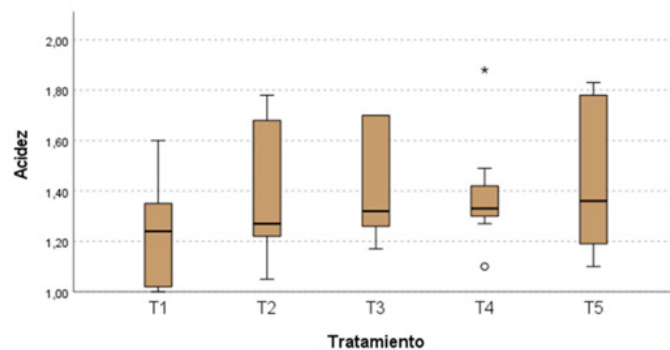


Figura 2

Efecto de la adición de propóleo y ϵ -polilisina sobre la acidez de yogurt batido almacenado durante 30 días a 4 ± 1 °C

Nota. Elaboración propia

Por el contrario, los tratamientos con niveles altos de ϵ -polilisina T4 y T5 mostraron un efecto bacteriostático fuerte, lo que contribuiría a que se presente una ligera disminución del pH del yogurt en relación con el inicial. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Lafta (2019) quien reportó que la adición de 0,007 % de ϵ -polilisina en una bebida de yogurt incrementó los valores de pH y redujo la acidez titulable.

Efectos del tiempo de almacenado sobre las variables pH y acidez

En la Figura 3, se muestra el comportamiento cinético del pH de yogurt adicionado con propóleo y ϵ -polilisina. Los valores en el tratamiento T3 indican que el pH disminuyó significativamente con el tiempo de almacenamiento (K - W, $p < 0,001$). El valor del pH promedio inicial (4,3)

difirió significativamente de los valores a los 15 días (4,16) y 30 días (3,95), pero estos últimos no difirieron entre sí, por lo que el pH del yogurt parece estabilizarse luego de 15 días de almacenamiento (Figura 3).

En la Tabla 2 se presentan los resultados del ajuste a dicho modelo para cada tratamiento. En esta, se registra la demostración de que el pH en los tratamientos T4 y T5 concordó mejor con el modelo lineal (r^2 : 0,9305 y 0,9842, respectivamente). De la misma forma, los valores

iniciales de pH, reflejados por el intercepto en cada tratamiento, siendo T3 (pH = 4,1564), T2 (pH = 4,2478) y T1 (pH= 4,1564), estos resultados se encuentran dentro de los niveles determinados en las normas internacionales: Norma Técnica Peruana [NTP] 202.092 de 2014 (Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias –Perú, 2014) y el Real Decreto 271/2014 (Ministerio de la Presidencia de España, 2014), las mismas requieren un $\text{pH} \leq 4,6$, en discrepancia con los tratamientos T5 y T4 que sobrepasan ese valor.

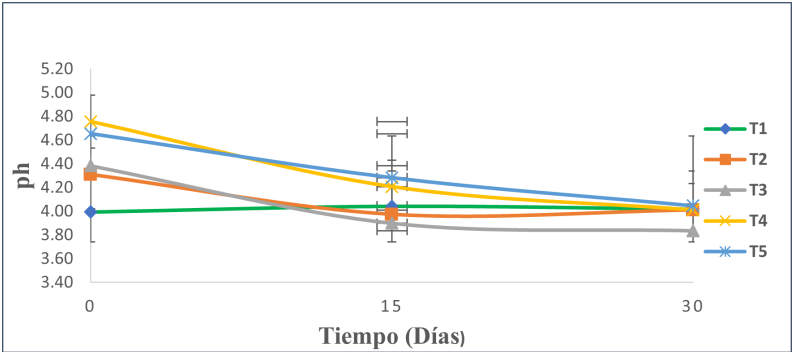


Figura 3

Efecto de la adición de propóleo y ϵ -polilisina sobre el pH de yogurt batido almacenado durante 30 días a $4 \pm 1^\circ\text{C}$

Nota. Elaboración propia

Tabla 2

Valores para el modelo cinético de pH del yogurt batido adicionado con propóleo y ϵ -polilisina en relación al tiempo de almacenamiento

TRATAMIENTOS	CONSTANTE	INTERCEPTO	r^2
T1	0,0008	4,005	0,25
T2	-0,01	4,2478	0,6595
T3	-0,0182	4,3078	0,8135
T4	-0,0249	4,6978	0,9305
T5	-0,0202	4,6311	0,9842

Nota. Elaboración propia.

Con referencia a lo que se ha expresado anteriormente, el pH y la acidez han cambiado durante el tiempo debido a la presencia de bacterias ácido-lácticas. De esta forma, se confirma que los conservantes tienen efectos bacteriostáticos y antifúngicos. Barreto y Constantino (2019) adicionó un extracto etanólico de propóleo como preservante de yogurt, a concentraciones de 0,4 y 1,6 %, se

observó una disminución gradual del pH a los 42 días de almacenamiento a una temperatura de $4 - 5^\circ\text{C}$. Este autor señala que la disminución del pH llegó a alcanzar un rango de pH de 3,75 donde se observó una estabilización de este parámetro; la disminución del pH fue más marcada en las concentraciones más bajas de propóleo, por lo que atribuye este comportamiento como conservante, por su actividad bacteriostática en

los microorganismos que transforman la lactosa en ácido láctico.

sin conservantes, lo que indica que prolongaría la vida útil del yogurt.

Por otro lado, en el presente estudio, se encontró que el pH alcanzó valores más altos en tratamientos con menor concentración de propóleo, pero alta de ϵ -polilisina. En acuerdo, otros estudios en los que utilizan preservantes naturales en yogurt (Rajapaksha *et al.*, 2013; Cedeño-Carpio, 2018; Lafta, 2019; Barreto y Constantino, 2019), sugieren que estos no evitan la caída del pH durante el almacenamiento, pero si logran mantener un pH más alto que el yogurt

La Tabla 3 resume los resultados referentes al modelo cinético de acidez en el que los tratamientos T1, T2 y T3 se adaptan mejor al modelo lineal (r^2 : 0,82; 0,39; 0,69) (Figura 4), donde los valores de los tratamientos T1 (% acidez = 1,008), T2 (% acidez = 1,19) y T3 (% acidez = 1,21) mostraron la acidez durante los 30 días de almacenamiento, y confirmaron la similitud entre tratamientos en la prueba de Kruskal-Wallis (Figura 5).

Tabla 3

Valores para el modelo cinético de acidez del yogurt batido adicionado con propóleo y ϵ -polilisina en relación al tiempo de almacenamiento

TRATAMIENTOS	CONSTANTE	INTERCEPTO	r^2
T1	0,015	1,008	0,818
T2	0,014	1,190	0,385
T3	0,015	1,210	0,689
T4	0,0003	1,384	0,002
T5	0,014	1,218	0,337

Nota. Elaboración propia.

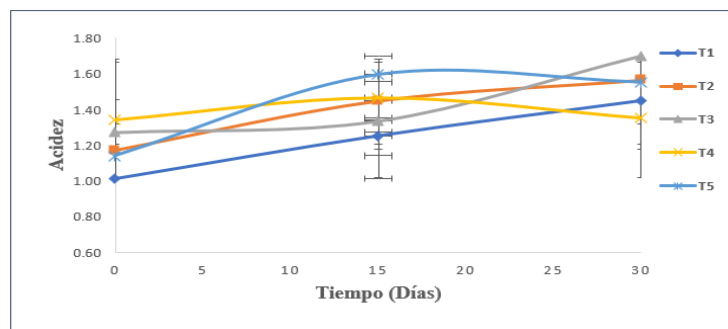


Figura 4

Efecto de la adición de propóleo y ϵ -polilisina sobre la acidez de yogurt batido almacenado durante 30 días a $4 \pm 1^\circ\text{C}$

Nota. Elaboración propia.

Recuento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

En las muestras evaluadas en el estudio no se detectó la presencia de *S. aureus* y *E. coli*. Esto puede estar asociado a que los conservantes empleados inhibieron el crecimiento de dichas bacterias, aunque su ausencia en las muestras al inicio del estudio (día 0) revela que el inóculo no estuvo presente en la materia prima con la cual se elaboró el yogurt.

La no presencia de microorganismos contaminantes en las muestras puede ser atribuida a la composición química de los propóleos, numerosas investigaciones han demostrado su complejidad, se reportan más de trescientos diferentes constituyentes químicos, tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres), terpenoides, esteroides, aminoácidos, etc. (Li *et al.*, 2016); se considera a los flavonoides, ácidos aromáticos,

diterpenoides y compuestos fenólicos como los principales constituyentes químicos responsables de las propiedades biológicas del propóleo (Siripatrawan *et al.*, 2012).

El propóleo es una mezcla compleja de sustancias naturales que contiene una gran variedad de compuestos químicos (Chaillou *et al.*, 2004); entre las moléculas farmacológicamente activas se destacan flavonoides y ácidos fenólicos y sus ésteres (Kalogeropoulos *et al.*, 2009). No obstante, en muestras provenientes de países del trópico, que también presentan una actividad biológica similar, se han encontrado moléculas del tipo terpenoide, derivados prenilados de ácidos r-cumáricos, lignanos, y benzofenonas

Tabla 4

Número de UP de mohos y levaduras (promedio) en los tratamientos con propóleo y ϵ -polilisina durante el tiempo de almacenamiento a 4 °C

TRATAMIENTOS	Días de almacenamiento a 4 °C		
	0	15	30
T1	51,3	39,3	34,7
T2	51,7	47,3	15,7
T3	50,7	29,3	27,7
T4	52,7	37,3	28,0
T5	51,0	32,7	25,7

Nota. Elaboración propia.

Todos los estudios predictivos superaron los 30 días de vida útil que con normalidad sustenta el yogurt comercial a una temperatura de 4 °C. Cabe indicar que este estudio se lo realizó solamente con UP de mohos, debido a la ausencia de *E. coli* y *S. aureus* en las muestras evaluadas.

preniladas, lo cual sugiere que la actividad es debida a la combinación y sinergias de diferentes compuestos (Londoño-Orozco *et al.*, 2008).

Período de validez del yogurt

El estudio de determinación de la vida útil del yogurt con conservantes naturales ϵ -polilisina – propóleo se realizó a partir del recuento de mohos y levaduras como indicador de deterioro progresivo en 30 días a 4 °C de temperatura de almacenamiento (Tabla 4). Se observa como el número de UP de mohos y levaduras en el yogurt disminuye de manera significativa (ANOVA 1 vía, $p < 0,001$) durante el almacenamiento para el conjunto de todos los tratamientos.

Se observó el decrecimiento de las UP de mohos durante la etapa de almacenamiento en el tratamiento T1 y se determinó que el tiempo de vida útil del producto alcanzaría 123 días (Ecuación 3), cuando se tengan 10 UP/g (Figura 5).

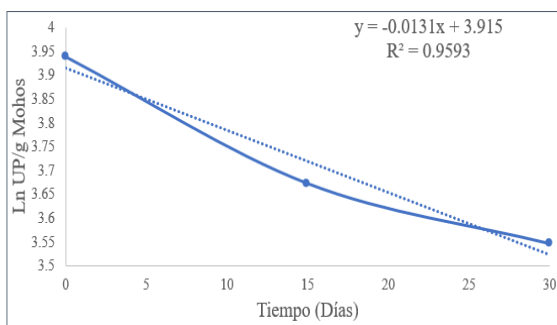


Figura 5

Comportamiento de las UP/g de mohos en el tratamiento 1 de yogurt con conservantes naturales de ϵ -polilisina y propóleo

Nota. Elaboración propia.

Ecuación 3

$$t = \frac{\ln A - \ln A_0}{k}$$

$$t = \frac{\ln(10) - 3,915}{-0,0131} = 123 \text{ días}$$

En el tratamiento T2 se observó el decrecimiento de las UP de mohos durante la etapa de almacenamiento, y se determinó que el tiempo de vida útil del producto sería de 83 días (Ecuación 4), para alcanzar 10 UP/g (Figura 6).

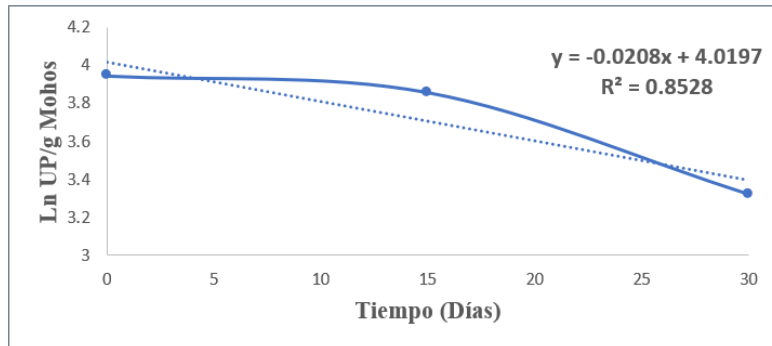


Figura 6

Comportamiento de las UP/g de mohos en el tratamiento 2 de yogurt con conservantes naturales de ϵ -polilisina y propóleo

Nota. Elaboración propia.

Ecuación 4

$$t = \frac{\ln A - \ln A_0}{k}$$

$$t = \frac{\ln(10) - 4,0197}{-0,0208} = 83 \text{ días}$$

En el tratamiento T3 se observó un decrecimiento de las UP de mohos durante la etapa de almacenamiento, estimándose el tiempo de vida útil del producto en 76 días (Ecuación 5), para que se alcancen las 10 UP/g (Figura 7).

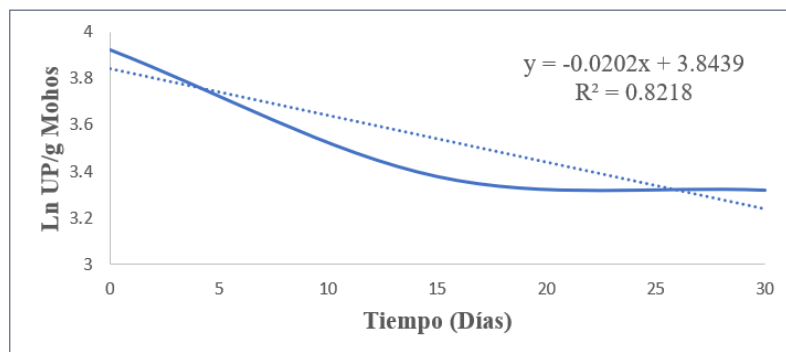


Figura 7

Comportamiento de las UP/g de mohos en el tratamiento 3 de yogurt con conservantes naturales de ϵ -polilisina y propóleo

Nota. Elaboración propia.

Ecuación 5

$$t = \frac{\ln A - \ln A_0}{k}$$

$$t = \frac{\ln(10) - 3,8439}{-0,0202} = 76 \text{ días}$$

En el tratamiento T4 se observó un decrecimiento de las UP de mohos durante la etapa de almacenamiento, estimándose el tiempo de vida útil del producto en 78 días (Ecuación 6), para que se alcancen las 10 UP/g (Figura 8).

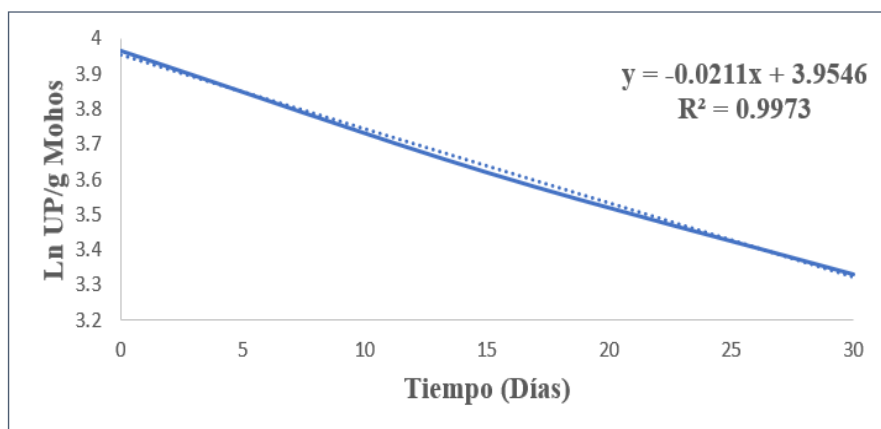


Figura 8

Comportamiento de las UP/g de mohos en el tratamiento 4 de yogurt con conservantes naturales de ε-polilisina y propóleo

Nota. Elaboración propia.

Ecu. 6

$$t = \frac{\ln A - \ln A_0}{k}$$

$$t = \frac{\ln(10) - 3.9546}{-0.0211} = 78 \text{ días}$$

En el tratamiento T5 se observó un decrecimiento de las UP de mohos durante la etapa de almacenamiento, estimándose el tiempo de vida útil del producto en 70 días (Ecuación 7), para que se alcancen las 10 UP/g (Figura 9).

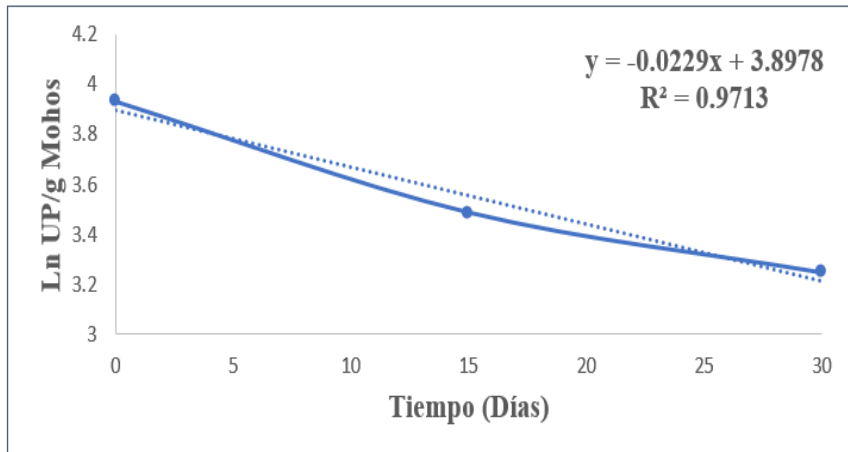


Figura 9

Comportamiento de las UP/g de mohos en el tratamiento 5 de yogurt con conservantes naturales de ε-polilisina y propóleo

Nota. Elaboración propia.

Ecu. 7

$$t = \frac{\ln A - \ln A_0}{k}$$

$$t = \frac{\ln(10) - 3.8978}{-0.0229} = 70 \text{ días}$$

Se evidencia que las combinaciones de los conservantes evaluados en el presente estudio lograron reducir el crecimiento de mohos y elevar substancialmente el tiempo de vida útil del yogurt, entre 70 y 123 días, en comparación con el tiempo esperado de anaquel de un yogurt (30 días).

Valoración sensorial

Los panelistas evaluadores consideraron que las muestras de yogurt correspondientes a tres tratamientos con combinación de distintas proporciones de conservantes (T1, T2 y T3) y almacenadas durante 30 días a 4 ± 1 °C, mostraron diferencias significativas en cuanto a las cinco características evaluadas (Tabla 5).

Análisis de los resultados de la evaluación de expertos no capacitados sobre muestras de yogurt que se sometieron a 3 tratamientos

con una combinación de conservantes de ϵ -polilisina y propóleos después de 30 días de almacenamiento a 4 °C.

En la prueba no paramétrica de Kendall, se estableció que todas las características organolépticas en estudio presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos, siendo los tratamientos T2 y T3 los mejores; T3 presentó mejores características en cuanto a color, olor, textura y aceptabilidad general, mientras que el T2 mostró mejores propiedades en cuanto a olor y sabor.

Tabla 5

Valores para el modelo cinético de pH del yogurt batido adicionado con propóleo y ϵ -polilisina en relación al tiempo de almacenamiento

Característica	WK	Tratamiento*			
		p	T1	T2	T3
Color	0,304	0,0001	1,81a	1,72a	2,47b
Olor	0,874	0,0001	1,39a	2,26b	2,35b
Sabor	0,169	0,0001	1,94b	2,32c	1,74a
Textura	0,264	0,0001	1,51a	2,09b	2,29c
Aceptabilidad general	0,169	0,0001	1,83a	1,93a	2,23b

Nota. Elaboración propia.

El uso de propóleo podría atribuir cambios en las características sensoriales del producto final, debido a la cantidad y al tipo de compuestos fenólicos de que está constituido, los que pueden estar representados por las agliconas de flavonoides, ácidos fenólicos o sus ésteres (Adellman, 2005; Modak *et al.*, 2002; Samara-Ortega *et al.*, 2011). Numerosas investigaciones han demostrado su complejidad, se reportan más de trescientos diferentes constituyentes químicos, tales como polifenoles (flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres), terpenoides, esteroides, aminoácidos, etc. (Li *et al.*, 2016); se considera a los flavonoides, ácidos aromáticos, diterpenoides y compuestos fenólicos como los principales constituyentes químicos responsables de las propiedades biológicas del propóleo (Siripatrawan *et al.*, 2012).

Debido a su constitución química, el propóleo tiene en general un sabor amargo y astringente, desagradable al gusto de los consumidores, en especial en los niños, incrementándose su rechazo cuando sus extractos están basados en solventes como el etanol. Disfrazar su sabor ha sido el objetivo de algunos investigadores, proponiendo mezclas con otros ingredientes tales como la miel de abeja (Osés *et al.*, 2016), o bien realizando extractos acuosos en lugar de los tradicionales etanólicos, buscando en todo caso que las propiedades antimicrobianas no se pierdan (Bucio y Martínez, 2017).

Desde su aprobación como aditivo seguro ha aumentado su demanda en alimentos, en Japón se utiliza para conservar carnes y

pescados para sushi (15 mg/g), arroz y vegetales cocidos (0,01 – 0,5 mg/g) (Zhang *et al.*, 2015), en arroz de sushi (550 ppm) y en leche condensada (Paredes-Pantoja, 2017).

Conclusiones

El tratamiento 1 (5 mg de ϵ -polilisina y 1 mL de propóleo) proporcionó el tiempo de vida útil más largo (123 días). Cabe señalar que todas las muestras de los tratamientos superaron los (30 días) de vida útil del yogurt comercial. La acidez y el pH se correlacionaron inversamente en el yogurt, siendo los tratamientos (T1: 5 mg ϵ -polilisina – 1 mL Propóleo, T2: 10 mg de ϵ -polilisina – 0,9 mL de propóleo y T3: 15 mg de ϵ -polilisina – 0,8 mL de propóleo) en términos de pH y acidez los de mejor adaptación a los estándares internacionales. La aceptabilidad sensorial del yogurt conservado mediante la combinación de propóleo + ϵ -polilisina valorada por 75 catadores no capacitados, mostró que los mejores tratamientos fueron T2 (sabor y olor) y T3 (olor, color, aceptabilidad general y textura).

Referencias

- Adellman, J. (2005). *Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioatividade antimicrobiana/ antioxidante*. [Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Federal de Paraná]. Curitiba, Brasil, 176 p. <https://hdl.handle.net/1884/1249>
- Alvarado-Carrasco, C. E. A., Coronado, M., Prósperi, F., y Guerra, M. (2011). Desarrollo de yogurt con capacidad antioxidante elaborado con leche de cabra (*Capra hircus*) y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendtn.). *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2 (2), 293–312. <https://sites.google.com/site/1rvcta/v2-n2-2011/r5>
- Association of Official Analytical Chemistry [AOAC] International. (2005). *Dairy Products*. En Horwitz, W., y Latimer, G. (Eds.) *Official methods of analysis*. AOAC International, Washington D.C.
- Association of Official Analytical Chemistry [AOAC] International. (2005). *Official methods of analysis*. Association of Official Analytical Chemistry, Washington D.C. capítulo 33:844.
- Barreto, I. y Constantino, J. (2019). *Caracterización de los propóleos del distrito de Huaraz y su efecto conservante en yogurt frutado*. [Tesis doctoral, Universidad Nacional Federico Villareal]. Repositorio Institucional, Lima Perú. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/3732>
- Bucio-Villalobos, C. M., y Martínez-Jaime, O. A. (2017). Actividad antibacteriana de un extracto acuoso de propóleo del municipio de Irapuato, Guanajuato, México. *Agronomía Mesoamericana*, 28 (1), 223–227. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v28i1.24253>
- Buttriss, J.L. (1997). Alimentación y nutrición: actitudes, creencias y conocimientos en el Reino Unido. *Revista Americana de Nutrición Clínica*, 65 (6), 1985S–1995S.
- Carrera, Q. R. (2016). *Evaluación del extracto etanólico de propóleo como conservante en queso cabaña*. [Tesis de pregrado, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/913c8004-5f67-498c-85e4-164318d5feaf/content>
- Cedeño-Carpio, X.A. (2018). *Evaluación de propóleo como conservante natural en la leche chocolatada*. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico de Leiria]. Repositorio Institucional. España. <https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/3476/1/Evaluaci%C3%B3n%20de%20prop%C3%B3leo%20como%20conservante%20natural%20en%20la%20leche%20chocolatada.pdf>
- Chaillou, L. L., Herrera, H. A., y Maidana, J. F. (2004). Estudio del propóleo de Santiago del Estero, Argentina. *Food Science and Technology*, 24 (1), 11–15. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000100003>
- Clayton, K., Bush, D. y Keener, K. (2016). *Emprendimientos alimentarios: Métodos para la conservación de alimentos*. Purdue Extension Education. <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/FS/FS-15-S-W.pdf>
- Crawford, F. (2004). *Yogurt: alimento poderoso (en línea)*. Cuernavaca, México. www.williams-cuernavaca.edu.mx
- Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias –Perú. (2014). Norma Técnica Peruana NTP 202.092 2014. Leche y Productos Lácteos. Leches fermentadas. Yogurt. Requisitos. 5a. ed. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual [INDECOPI].
- Comisión Venezolana de Normas Industriales [COVENIN]. (2001). Norma Venezolana de Yogurt 2393. Servicio Desconcentrado de Normalización, Calidad, Metrología y Reglamentos Técnicos [SENCAMER], Ministerio del Poder Popular de Comercio Nacional, Caracas, Venezuela. <http://www.sencamer.gob.ve/sencamer/normas/2393-01.pdf>
- Gálvez, H. J., Montalvo, R. C., Ramírez, T. C. R., y Bolívar, G. (2011). Efecto de bioconservación de carne molida de cerdo, tipo hamburguesa con *Lactobacillus acidophilus* cepa ATCC 4356 y *Staphylococcus carnosus* NRRL02. *Alimentos Hoy*, 16 (16), 33–42. <https://alimentos.hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/90/84>
- Guaraca, M. A. L., y Palomino, C. D. L. (2018). *Estudio de la composición química y actividad antibacteriana de muestras de propóleos de diferente localización geográfica*. [Tesis de Maestría, Universidad Politécnica Salesiana, Unidad de Posgrados]. Cuenca, Ecuador. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15371/1/UPS-CT007559.pdf>

- Gutiérrez-Cortés, C., y Suarez-Mahecha, H. (2014). Antimicrobial Activity of Propolis and its Effect On The Physicochemical And Sensorial Characteristics In Sausages. *Vitae*, 21 (2), 90-96. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v21n2/v21n2a3.pdf>
- Harborne, J. (1976). La isopentenil isoflavona luteona como agente antifúngico preinfeccioso en el género *Lupinus*. *Fitoquímica* 15 (10), 1485-1487.
- IBM (2020). IBM SPSS Statistics. <https://www.ibm.com/products/spss-statistics>.
- Infostat. (2020). Infostat software estadístico. <https://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=37>.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2011). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2395:2011. Leches fermentadas. Requisitos. 2da revisión. Servicio Ecuatoriano de Normalización, Quito, Ecuador. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte-inen-2395-2r.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2013a). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-10:2013. Primera revisión. Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad. Servicio Ecuatoriano de Normalización, Quito, Ecuador. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-10-1.pdf
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2013b). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-14:2013. Primera revisión. Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie. Servicio Ecuatoriano de Normalización, Quito, Ecuador. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-14-1R.pdf>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2016). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529-8:2016. Primera revisión. Control microbiológico de los alimentos. detección y recuento de *Escherichia coli* presumtiva por la técnica del número más probable. Servicio Ecuatoriano de Normalización, Quito, Ecuador. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1529-8-1.pdf
- Iriberry, A. (2014). Los Defectos más comunes en los Yogures y sus posibles soluciones. Chr. Hansen. <http://www.tecnocarnicos.com/project/tecnocarnicos/resumen/vortrag/Defectos%20en%20yogures%20-%20Tecnolacteos%202014.pdf>
- Kalogeropoulos, N., Konteles, S.J., Troullidou, E., Mourtziinos, I. y Karathanos, V.T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food chemistry*, 116 (2), 452-461. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.060>
- Labuza, T. P. (1982). *Shell-life dating of foods*. Food & Nutrition Press. ISBN: 0917678141, 9780917678141.
- Lafta, S. S. (2019). Effect of the ϵ -polylysine utilization on the physicochemical, microbiological, and rheological properties of the drinking yogurt. *Plant Archives*, 19 (1), 870-874. [http://plantarchives.org/PDF%2019-1/870-874%20\(4889\).pdf](http://plantarchives.org/PDF%2019-1/870-874%20(4889).pdf)
- Li, A., Xuan, H., Sun, A., Liu, R. y Cui, J. (2016). Separación preparativa de polifenoles de la fracción soluble en agua de propóleo chino utilizando resina absorbente macroporosa junto con cromatografía líquida preparativa de alta resolución. *Revista de cromatografía B*, 1012, 42 - 49.
- Londoño-Orozco, A., Pinieres-Carrillo, J. G., García-Tovar, C. G., Carrillo, L., Quintero-Mora, M. L., García-Vásquez, S. E., Mendoza-Saavedra, M. A., y Cruz-Sánchez, To N. A. (2008). Estudio de la actividad antifúngica de un extracto de propóleo de la abeja *Apis mellifera* proveniente del Estado de México. *Revista Tecnología en Marcha*, 21 (1), 49-55. https://revistas.tec.ac.cr/index.php/tec_marcha/article/view/1338
- Ministerio de la Presidencia de España (abril 11 de 2014). Real Decreto 271/2014, por el que se aprueba la Norma de Calidad para el yogur o yoghurt. *Boletín Oficial del Estado*, 102 (BOE-A-2014-4515). <https://www.boe.es/boe/dias/2014/04/28/pdfs/BOE-A-2014-4515.pdf>
- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N., y Calder, P.C. (1997). Antimicrobial Action of Propolis and Some of Its Components: The Effects on Growth, Membrane Potential and Motility of Bacteria. *Microbiological Research*, 152, 239-246. [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80034-1](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80034-1)
- Modak, B., Arrieta, A., Torres, R., y Urzua, A. (2002). Actividad antibacteriana de flavonoides aislados del exudado resinoso de *Heliotropium sinuatum*: efecto del tipo de estructura. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 47 (1), 19-23. <http://dx.doi.org/10.4067/S0366-16442002000100005>
- Mora-Newcomer, L. (1993). Evaluación del efecto del contenido de sólidos lácteos y de la velocidad de enfriamiento sobre las características del yogurt natural batido (No. 637.1476 M827e). Sistema Integrado de Información Documental Centroamericano (SIIDCA). San José, Costa Rica. <https://catalogosiidca.csuca.org/Record/UCR.000020514>
- Muñoz-Rodríguez, L. C., Linares-Villalba, S. E., y Narváez-Solarte, W. (2011). Propiedades del propóleo como aditivo natural funcional en la nutrición animal. *Biosalud* 10 (2), 101-111. <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v10n2/v10n2a10.pdf>
- Norat, T. y Riboli, E. (2003). Dairy products and colorectal cancer. A review of possible mechanisms and epidemiological evidence. *Revista europea de nutrición clínica*, 57 (1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601522>
- Osés, S. M., Pascual-Maté, A., Fernández-Muiño, M., López-Díaz, T. M., y Sancho, M. T. (2016). Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chemistry*, 196, 1215-1223. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.050>. PMID:26593609
- Paredes-Pantoja, V. E. (2017). Efecto de un recubrimiento comestible de gelatina y epsilon-polilisina en la calidad microbiológica de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.). (Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato). Repositorio Institucional. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/25294>

Parra, H. R. A. (2013). Efecto del té verde (*Camellia sinensis* L.) en las características físicoquímicas, microbiológicas, proximales y sensoriales de yogurt durante el almacenamiento bajo refrigeración. @limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria, 11 (1), 56-64. <http://dx.doi.org/10.24054/16927125.v1.n1.2013.383>

Perdigon, G., De Moreno de LeBlanc, A., Valdez, J., y Rachid, M. (2002). Role of yoghurt in the prevention of colon cancer.. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 (3), S65-S68. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601490>

Rajapaksha, D. S. W., Kodithuwakku, K. H. T., Silva, K. S. T., y Rupasinghe, R. J. L. (2013). Evaluation of potassium sorbate and ε-polylysine for their inhibitory activity on post-acidification of set yoghurt under cold storage for 20 days. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 3, 6, 16–20. <https://www.ijsrp.org/research-paper-0613/ijsrp-p1814.pdf>

Samara-Ortega, N. S., Benitez-Campo, N. E., y Cabezas-Fajardo, F.A. (2011). Actividad antibacterial y composición cualitativa de propóleos provenientes de dos zonas climáticas del Departamento del Cauca. *Biotechnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9 (1), 8-16. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v9n1/v9n1a02.pdf>

Siripatrawan, U., Vitchayakitti, W., y Sanguandeeikul, R. (2012). Antioxidant and antimicrobial properties of T hai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science & Technology*, 48 (1), 22-27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03152.x>

Zhang, L., Li, R., Dong, F., Tiang, A., Li, Z. & Dai, Y. (2015). Physical, mechanical and antimicrobial properties of starch films incorporated with ε-poly-l-lysine. *Food Chemistry*, 166, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.008>

Efecto de la goma del muyuyo (*Cordia lutea*) como agente estabilizante y en la vida útil del néctar de naranja (*Citrus x sinensis*)

Effect of muyuyo gum (*Cordia lutea*) as a stabilizing agent and on the shelf life of orange nectar (*Citrus x sinensis*)

Alex Alberto Dueñas-Rivadeneira^a  alex.duenas@utm.edu.ec

Plinio Abelardo Vargas-Zambrano^a  plinio.vargas@utm.edu.ec

Jaime Fabián Vera-Chang^{b,c}  jverac@uteq.edu.ecm

Luis Humberto Vásquez-Cortez^b  lvazquez7265@utm.edu.ec

Wilfrido Xavier Viteri-Andrade^a  wviteri4421@utm.edu.ec

Jorge Ignacio García-Mejía^a  garciamejiajorge9@gmail.com

Kerly Estefanía Alvarado-Vásquez^{a,b}  kalvarado6940@utm.edu.ec

Alexandra Andreina Meza-Cool^a  ameza0927@utm.edu.ec

^aUniversidad Técnica de Manabí.

^bUniversidad Técnica Estatal de Quevedo.

^cUniversidad Americana de Europa México– Cancún.

Recibido: 25/07/2022 Aceptado: 28/09/2022

Citar, APA: Dueñas-Rivadeneira, A. A., Vargas-Zambrano, P. A., Vera-Chang, J. F., Vásquez-Cortez, L. H., Viteri-Andrade, W. J., García-Mejía, J. I., Alvarado-Vásquez, K. E. y Meza-Cool, A. A. (2023). Efecto de la goma del muyuyo (*Cordia lutea*) como agente estabilizante y en la vida útil del néctar de naranja (*Citrus x sinensis*). *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 41–51. <https://doi.org/10.23850/24220582.4981>

Resumen La goma del muyuyo (*Cordia lutea*) representa una buena oportunidad para reemplazar estabilizantes de síntesis química que son muy utilizados y traen consecuencias a futuro. Por lo tanto, el objetivo principal de la presente investigación fue evaluar el efecto de la goma del muyuyo (*Cordia lutea*) como agente estabilizante y en la vida útil del néctar de naranja (*Citrus X sinensis*). Se aplicó un diseño experimental completamente al azar, de cuatro tratamientos con tres repeticiones que consto de tres concentraciones más un control (T₀ – 0 % T₁– 2 %, T₂ – 4 % y T₃ – 6 %). En cada una de las formulaciones elaboradas se realizó una evaluación sensorial. Las variables evaluadas fueron dulzor, acidez y apariencia general, para ello se empleó una escala hedónica. Los datos fueron procesados en el programa estadístico InfoStat, aplicando la estadística no paramétrica y prueba de Kruskal Wallis al 0,05 % de significancia. En la prueba de turbidez se obtuvo un valor de 1506,66 NTU (Unidad de Turbidez Nefelométrica), en el tratamiento 1 y 2 1085,33 NTU. En el análisis físico químico se obtuvieron los siguientes resultados: un pH de 3,37; 12,65 ° Brix y una acidez titulable de 0,39. Se evaluó el comportamiento microbiológico, en el que T₂ dio como adecuado por estar dentro de la norma NTE 2 337:2008. Se estableció que las variables dulzor, acidez y apariencia general estaban dentro del rango permitido. Es necesario considerar que el T₂ (4 % muyuyo) es el tratamiento que mejor se comporta frente al T₀ (control). En lo que corresponde al análisis de viscosidad se obtuvo un rango de 5,23 Pa.s que se encuentra dentro del rango establecido. Por lo cual, se insta que la goma del muyuyo posee propiedades estabilizantes y nutricionales que lo hacen un insumo alimenticio natural prometedor.

Palabras clave: fruta, goma de muyuyo, néctar, naranja, vida útil.

Abstract Muyuyo gum represents a good opportunity to replace chemical synthesis stabilizers that are widely used and bring future consequences. Therefore, the main objective of the research was to evaluate the effect of muyuyo gum (*Cordia lutea*) as a stabilizing agent and on the shelf life of orange nectar (*Citrus X sinensis*). A completely randomized experimental design of four treatments with three repeats consisting of three concentrations plus a control (T₀ – 0 % T₁– 2 %, T₂ – 4 % and T₃ – 6 %) was applied. In each of the formulations elaborated, a sensory evaluation was carried out. The variables evaluated were sweetness, acidity and general appearance, for which a hedonic scale was used. The data were processed in the statistical program InfoStat, applying the non-parametric statistics and Kruskal Wallis test at 0,05 % significance, in the turbidity test a value of 1506,66 NTU (Nephelometric Turbidity Unit) was obtained, in treatment 1 and in treatment 2 1085,33 NTU, in the results of the physical-chemical analysis the following results were obtained; a pH of 3,37, 12.65 °Brix and a titratable acidity of 0,39. The microbiological behavior was evaluated in which T₂ is the one that was given as adequate within the NTE 2 337:2008 standard. It was established that the variables Sweetness, Acidity and General Appearance were within the allowed range. It is necessary to consider that T₂ (4 % muyuyo) in general is the treatment that behaves best compared to T₀ (control). In what corresponds to the viscosity analysis, a range of 5,23 Pa.s was obtained which is within the established range. Therefore, it is established that muyuyo gum has stabilizing and nutritional properties which make it a promising natural food input.

Keywords: fruit, muyuyo gum, nectar, orange, shelf life.

Introducción

En la actualidad se ha visto un incremento en la producción, procesamiento, y consumo de néctares y jugos de pulpa de fruta, como alternativa sostenible para la nutrición, debido a que la ingesta de frutas permite un aprovechamiento directo de los minerales y vitaminas (Martillo, 2015) (Gordillo *et al.*, 2012).

En la región costera del Ecuador hay una inexistencia de información del consumo de la fruta del muyuyo (*Cordia lutea*), a pesar de que es considerada una fruta prehispánica. Puede llegar a convertirse en un producto importante, y su conocimiento permite construir una identidad culinaria propia de la región (Mendocilla-Risco *et al.*, 2019). Las personas que habitan en las zonas rurales costeras solo la utilizan como gel para el cabello, y como goma, en reemplazo de la goma blanca industrial con la que se realizan varias manualidades (Castro-Gómez, 2015).

La falta de consumo de la fruta del muyuyo (*Cordia lutea*) se genera debido a que las personas no conocen que es comestible. Además, las características físicas no son apetecidas al momento de consumirla, porque es de textura viscosa, y la insuficiente oferta de este producto contribuye al desinterés por adquirirla para tal fin (Quinde-Pérez, 2020). Sin embargo, la incorporación de ingredientes naturales como la goma del muyuyo, representa una buena oportunidad para reemplazar estabilizantes de síntesis química que son muy utilizados, y traen consecuencias negativas a futuro (Quinde-Pérez, 2020).

De otro modo, la naranja es un fruto con gran potencial agroindustrial y comercial en la provincia de Manabí, donde existe una gran producción de 10438,40 Tm por año (Sistema de Información Pública Agropecuaria [SIPA], 2017). Esto se consigue con una serie de procesos y controles para obtener un producto de calidad, que asegure la salud del consumidor.

Las tendencias de los consumidores indican su preferencia por alimentos de fácil preparación, de calidad, seguros, y naturales, que

estén poco procesados, pero a la vez tengan una mayor vida útil. Las tecnologías de conservación de alimentos tienen como reto, obtener productos más duraderos que sacrifiquen al mínimo las características nutricionales y sensoriales iniciales (Castro-García, 2019). Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la goma de muyuyo (*Cordia lutea*) como agente estabilizante en la vida útil del néctar de naranja (*Citrus X sinensis*).

Materiales y métodos

Acondicionamiento de la muestra

Las materias primas empleadas en la elaboración del néctar fueron muyuyo y naranja, cosechadas con el grado de madurez adecuado, sin daños en su estructura física, en el Sitio Portobello Cantón San Vicente, y en el Sitio Quiñonez Cantón Flavio Alfaro, Manabí. Según información suministrada por el proveedor, los insumos utilizados fueron agua y azúcares, y el insumo químico empleado en la formulación del producto fue ácido cítrico.

La presente investigación se generó en la Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Zootécnicas Extensión Chone; localizada en la provincia de Manabí, donde se efectuaron las pruebas de las variables físico químicas.

Estabilidad del néctar de naranja

Prueba de turbidez. Se tomaron las diferentes muestras a temperatura ambiente y se agitaron, en una celda completamente limpia, se purgó el contenido, se adicionó cuidadosamente la muestra en la celda de tal manera que no formara burbujas. La celda, se tapó, enjuagó, secó y limpió de tal manera que no quedó suciedad en sus paredes externas, luego se alineó, y se esperó por unos 5 - 6 segundos para registrar el valor máximo obtenido en el formato Captura de Datos Turbidimetría M-S-LC-F020.

Análisis fisicoquímico del néctar

pH. El pH se midió según el método de la AOAC 943.02 en el que se describe el pH como cantidad de iones hidrógeno libres en la disolución. Por lo cual, el control de este parámetro permite una estabilidad química y microbiológica en los

alimentos. El pH se mide a través de un electrodo que está conectado a un potenciómetro llamado pHmetro. Antes de utilizarlo se realizó una correcta calibración del equipo con los frascos de buffer.

Grados Brix (° Brix). Para la evaluación de este parámetro se tomaron muestras de cada uno de los tratamientos, mediante la utilización de un refractómetro (Brixómetro) de marca Atago. Previo a la medición de cada una de las muestras, se realizó una limpieza del equipo con la utilización de agua destilada (Instituto Universitario de la Paz [Unipaz], 2019).

Acidez Titulable. La acidez se evaluó por medio de acidez titulable. Se utilizaron 10 mL de la muestra a la cual se incluyeron 5 gotas de fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$); se mezcló y se añadió hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1 N hasta alcanzar una coloración rosada en la mezcla. El porcentaje de acidez se calculó mediante la Ecuación 1 (Unipaz, 2019).

Ecuación 1 $\% \text{ acidez} = \frac{V(OH) \cdot (OH) + 0,064 \cdot 100}{V_m}$

Perfil sensorial. Se determinó mediante un equipo de panelistas, las variables evaluadas

Tabla 1

Formulación del néctar

Ingredientes	Masa (g)
Naranja	500
Azúcar	240
Agua	800 mL
Ácido cítrico	3 g
	2 mL
Goma de Muyuyo	4 mL
	6 mL
Total	1543 gr

Nota. Elaboración propia.

La goma del muyuyo fue obtenida manualmente con guantes, teniendo en cuenta todas las condiciones de inocuidad e higiene, para evitar contaminación. De la misma manera, se realizó la extracción de la pulpa de la naranja. Luego, se efectuó el filtrado mediante un colador, con el objetivo de separar los residuos sólidos resultantes de la extracción, se procedió a realizar la formulación de acuerdo con los estándares

fueron color, sabor, olor, consistencia, y calidad general; con el uso de una escala hedónica del uno al nueve, siendo uno la puntuación menor y nueve la puntuación mayor, en la que participaron 15 personas semi entrenadas en la catación (Baroni *et al.*, 2016).

Viscosidad. Se llenó el vaso del viscosímetro con la muestra de néctar de naranja, procurando que no se formaran burbujas, luego, el viscosímetro se bajó de forma vertical para comprobar la temperatura. Posteriormente, se puso el motor en marcha hasta que se estabilizó sobre su propio dial, y se bloqueó la aguja para poder tomar la lectura del equipo (Aguirre, 2012).

Formulación del néctar. En la Tabla 1 se muestra la formulación del néctar, mientras que la Figura 1 representa el diagrama de proceso, en el que se detalla que, de la siguiente manera: luego de la recepción de la materia prima se procedió a lavar con agua purificada el muyuyo y la naranja, se verificó el grado de maduración, el estado de salubridad y que los frutos estuvieran sin ningún tipo de contaminación. A continuación, se realizó el pesado con la utilización de una balanza electrónica digital de la marca CAMRY con capacidad de 30 Kg.

establecidos, y se mezcló la dilución de pulpa-agua, azúcar y ácido cítrico.

Posteriormente, se realizó la pasteurización hasta que la mezcla alcanzó una temperatura de 65 °C por un tiempo de 15 min. Continuamente, se realizó el enfriado con la disminución de la temperatura del néctar hasta 4

°C con agua fría, se procedió a envasar el néctar en botellas de vidrio de 330 mL, con un dosificador

manual, y finalmente se almacenó a temperatura de 4 °C.

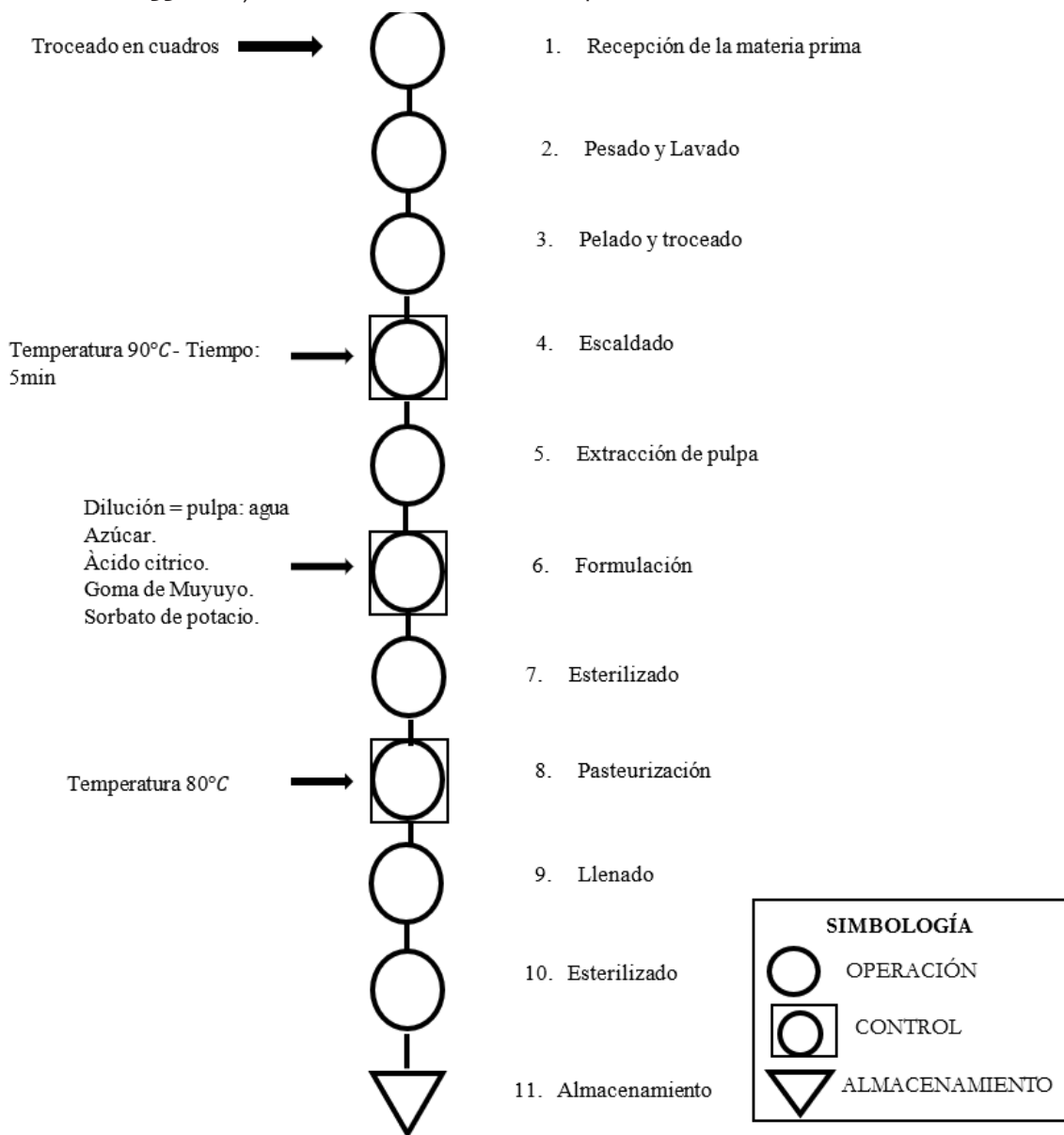


Figura 1

Diagrama de flujo del proceso de elaboración de néctar con goma de muyuyo como estabilizante

Nota. Elaboración propia.

Diseño experimental.

En la investigación se utilizó un diseño completo al azar con cuatro tratamientos y tres réplicas; tal como se detalla en la Tabla 2:

En cada una de las formulaciones elaboradas se realizó una evaluación sensorial.

Las variables evaluadas fueron: color, sabor, olor, apariencia general; seleccionadas a partir de experiencias preliminares. Para esto, se empleó una escala hedónica, delimitada de la siguiente manera: (1, me disgusta muchísimo; 2, me disgusta mucho; 3, me disgusta moderadamente; 4, me disgusta poco; 5, ni me gusta-ni me disgusta; 6, me gusta poco; 7, me gusta moderadamente; 8, me gusta mucho; 9, me gusta muchísimo).

Tabla 2

Formulación de los tratamientos

Tratamiento	Código	Factor	Réplicas
0	T0	Control	3
1	T1	2 % M	3
2	T2	4 % M	3
3	T3	6 % M	3

Nota. Elaboración propia.

Resultados y discusión

Análisis de Turbidez del néctar de naranja

En la Figura 2, se puede apreciar que tanto la turbidez como la viscosidad se encuentran

relacionadas directamente. Esto se debe a que las partículas que se encuentran disueltas en el néctar determinan que haya un mayor grado de viscosidad en el mismo. Cabe resaltar que el T1 es el tratamiento que más se corresponde con el T0 (control) (Rojas *et al.*, 2016).

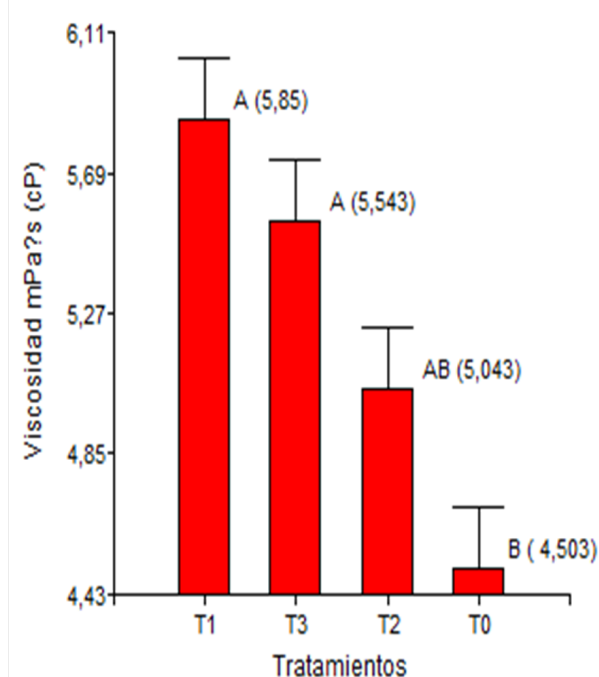
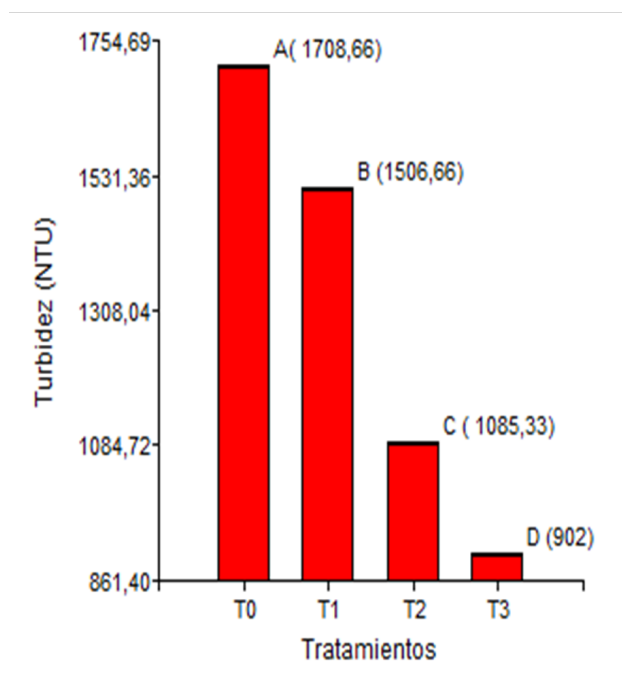


Figura 2

Comportamiento de la turbidez (NTU) del néctar de naranja usando como agente estabilizante muyuyo

Nota. Elaboración propia.

En otro estudio realizado en Brasil por Alves y Freitas (2021) el valor de turbidez fue de 1773,84 y el de viscosidad de 2,9; ligeramente mayores a los valores reportados para este estudio.

Los análisis fisicoquímicos realizados en este estudio demuestran que la aplicación de muyuyo como agente estabilizante no repercute en gran medida a la calidad final del néctar de naranja. Sin embargo, es necesario considerar que el T2 (4 % muyuyo) es el tratamiento que mejor se comporta frente al T0 (control) como se detalla en la Tabla 3.

Análisis fisicoquímico del néctar de naranja

Tabla 3

Propiedades fisicoquímicas del néctar de naranja usando como agente estabilizante muyuyo

Tratamiento	pH	SST (° Brix)	Acidez titulable (ácido cítrico)	Relación SST/AT
T0	3,35 ± 0,04 ^a	14,57 ± 0,31 ^c	0,43 ± 0,04 ^b	34,28 ± 2,55 ^a
T1	3,41 ± 0,04 ^a	12,20 ± 0,36 ^{a,b}	0,41 ± 0,03 ^{a,b}	29,82 ± 1,33 ^a
T2	3,39 ± 0,05 ^a	12,37 ± 0,25 ^b	0,41 ± 0,02 ^{a,b}	30,20 ± 1,38 ^a
T3	3,33 ± 0,05 ^a	11,47 ± 0,40 ^a	0,34 ± 0,04 ^a	33,71 ± 4,59 ^a

Nota. Medias seguidas con las mismas letras no presentan diferencia estadística significativa a la probabilidad ($p > 0,05$) poseen letras comunes.

El pH del néctar de naranja presenta buenos valores promedio, que se hallan por debajo del límite máximo permisible estipulado en la NTE 2 337:2008 (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2008), la misma que determina que el valor de pH máximo es de 4,5.

Custode (2015) encontró valores de pH de 3,99 para un tratamiento control en la elaboración de un néctar a base arazá, en tanto que para los demás tratamientos fue de 3,49, cercanos a los documentados en la investigación en donde se describen valores cercanos a 3,22.

Estudios realizados por Coronado y Hilario (2017) en la elaboración de néctares de guanábana, documentan un valor promedio de pH de 4 en el tratamiento control, y para la acidez de 0,28. Sin embargo, al variar las formulaciones, este último parámetro evidenció un aumento, que alcanza una media de 0,67 incluida en el intervalo obtenido en esta investigación (0,53 – 0,95 % de acidez titulable). Así mismo, Alves y Freitas (2021) también reportaron valores ligeramente más altos de pH en 3,81. Estos valores permiten mantener la atmósfera ácida de la bebida en el interior del envase lo que ayuda a inhibir la presencia de microorganismos.

En este estudio se determina que los sólidos solubles totales (SST) representados por los grados Brix se encuentran en un rango desde 11,47 a 14,57 ° Brix; lo que determina que la adición de muyuyo en proporciones mínimas, dan como resultado una ligera baja de los grados brix (Vargas-Flores, 2014).

de naranja. En el análisis microbiológico de coliformes totales, no existió crecimiento microbiológico para esta variable, en la bebida néctar de naranja estabilizado con goma de muyuyo en una línea de tiempo de 21 días. Este hallazgo, se sujeta a la NTE 2 337:2008 (INEN, 2008) que establece como límite permisible una presencia de coliformes totales en néctares y jugos de frutas inferior 3 UFC/mL, de tal manera que el estabilizante es seguro para emplearlo en la elaboración de néctares y jugos de fruta.

Análisis de E. coli en el néctar de naranja. Se constató que no existió presencia de cantidad de colonias de E. coli en el néctar de naranja con estabilizante de muyuyo. Esto se ajusta a lo determinado en la NTE 2 337:2008 (INEN, 2008) que establece como límites permisibles los valores inferiores a 3 UFC mL⁻¹. Por tanto, las bebidas pueden ser consumidas hasta el día 21 libremente.

Análisis de Hongos y Levaduras presentes en el néctar de naranja. En la Tabla 4, se reflejan los valores obtenidos en los análisis microbiológicos sobre mohos y levaduras realizados para cada uno de los tratamientos del néctar de naranja estabilizado con goma de muyuyo. Se evidenció que existe diferencia estadística para los tratamientos de estudio y se obtuvo que para el T0 el valor estándar es menor al 10 UFC mL⁻¹, establecido dentro los límites permisibles estipulados en la NTE 2 337:2008 (INEN, 2008). Así mismo, los T1 y T3 se encuentran dentro de los límites máximos de 10 UFC mL⁻³ establecidos por dicha normativa. No obstante, el T2 tuvo un comportamiento diferente en cuanto el crecimiento de Hongos y levaduras.

Estos resultados concuerdan con los descritos por Ferreira *et al.* (2011) en la elaboración de un

Análisis microbiológico del néctar de naranja
Análisis de coliformes presentes en el néctar

néctar a base de pitahaya con pulpa de maracuyá, quienes documentan el cumplimiento de los

requisitos microbiológicos establecidos por la NTE 2 337:2008 (INEN, 2008).

Tabla 4

Análisis microbiológico (Hongos y levaduras) presentes en la elaboración de néctar de naranja estabilizado con goma de muyuyo.

Tratamientos	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21
T0	0,00 UFC mL	0,00 UFC mL	0,00 UFC mL	0,00 UFC mL
T1	2,40×10 ² UFC mL	3,71×10 ² UFC mL	3,8167×10 ² UFC mL	4,0333×10 ² UFC mL
T2	2,00×10 ² UFC mL	1,80×10 ³ UFC mL	1,91333×10 ³ UFC mL	2,10×10 ³ UFC mL
T3	4,1167×10 ² UFC mL	4,1067×10 ² UFC mL	4,36×10 ² UFC mL	4,50×10 ² UFC mL
CV	1,31	2,08	2,61	6,79
EEMM	1,62	7,76	10,30	28,95
P < 0,05	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

CV: Coeficiente de variación

EEMM: Error estándar de la media

P: Probabilidad estadística

Nota. Elaboración propia.

De la misma manera, Ávila y Fonseca (2008) al efectuar el recuento de mohos, levaduras, aerobios mesófilos, y coliformes totales; obtiene UFC/g inferiores a 3, encontrándose dentro de los parámetros de aceptación en la presente investigación.

Análisis de Aerobios Mesófilos presentes en el néctar de naranja. Los datos encontrados en el análisis microbiológico de Aerobios Mesófilos en néctar de naranja con estabilizante de muyuyo,

Tabla 5

Análisis microbiológico (Aerobios Mesófilos) presentes en la elaboración de néctar de naranja estabilizado con goma de muyuyo.

Tratamiento	DIA 0	DIA 7	DIA 14	DIA 21
T0	1,033×10 ¹ UFC mL	1,067×10 ¹ UFC mL	1,033×10 ¹ UFC mL	1,033×10 ¹ UFC mL
T1	1,60×10 ² UFC mL	1,6267×10 ² UFC mL	1,7133×10 ² UFC mL	7,3833×10 ² UFC mL
T2	2,92×10 ² UFC mL	3,03×10 ² UFC mL	3,22×10 ² UFC mL	3,40×10 ² UFC mL
T3	2,83×10 ² UFC mL	4,90×10 ² UFC mL	9,26×10 ² UFC mL	1,23333×10 ³ UFC mL
CV	1,62	1,79	1,57	19,92
EEMM	1,74	2,49	3,25	66,77
P < 0,05	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

CV: Coeficiente de variación

EEMM: Error estándar de la media

P: Probabilidad estadística

Nota. Elaboración propia.

San Lucas (2017) menciona que los valores de aerobios mesófilos no deben superar los >3000 UFC/mL, porque si los superan, puede causar problemas

se visualizan en la Tabla 5. Los niveles encontrados en todos los tratamientos del estudio son óptimos para el consumo humano. Lo anterior, de acuerdo con la Resolución 7992 de 1991 emitida por el Ministerio de Salud de Ecuador, que establece que los valores de aerobios mesófilos en néctares y jugos de pulpas de frutas pasteurizados no deben ser superiores a > 3000 UFC. A su vez, existió diferencia estadística significativa a la probabilidad $p < 0,05$, durante los días de investigación de la variable mencionada.

gastrointestinales que resultan perjudiciales para el consumo y aceptabilidad del producto.

Análisis sensorial del néctar de naranja

Para conocer la aceptabilidad de los aspectos sensoriales del néctar de naranja con goma de muyuyo; 15 panelistas realizaron una catación con énfasis en los parámetros de dulzor, acidez, y apariencia general de cada uno de los tratamientos, con concentraciones de goma de muyuyo usada como estabilizante en el néctar de naranja diferentes para cada tratamiento, así: T1 (2 % muyuyo). T2 (4 % muyuyo) y el T3 (6 % muyuyo), a excepción del T0 (control).

Nivel de aceptabilidad del producto con respecto al Dulzor según el criterio de los panelistas. En la Figura 3 se detallan los resultados obtenidos para la variable “Dulzor”. Los panelistas determinaron que tenían mayor aceptación por el T2 con la opción “Me gusta muchísimo”. Los resultados obtenidos determinan que la variable dulzor presenta un rango de 6,27 a 7,93, por lo que se puede evidenciar que existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos analizados (Tabla 6).

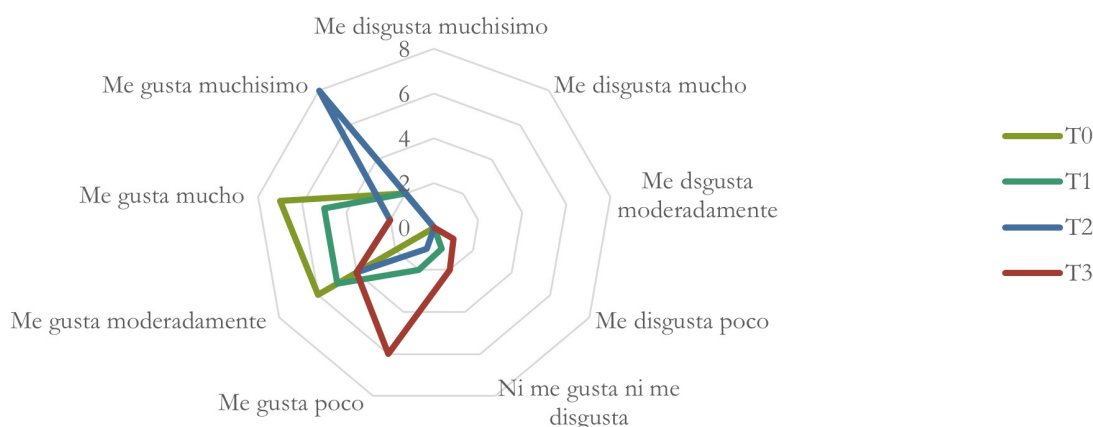


Figura 3

Gráfica radial del nivel de aceptabilidad del producto con respecto al dulzor

Nota. Elaboración propia.

Tabla 6

Análisis de varianza de los promedios obtenidos en el estudio sensorial (Dulzor).

Tratamiento	Promedio	D.E.
T2	7,93 ^a	1,0
T1	7,33 ^a	1,1
T0	7,20 ^{a,b}	1,0
T3	6,27 ^b	1,1

Nota. Elaboración propia. Medias seguidas con las mismas letras no presentan diferencia estadística significativa a la probabilidad ($p > 0,05$).

Nivel de aceptabilidad del producto con respecto a la acidez, según el criterio de los panelistas. En la Figura 4 se detallan los valores obtenidos en las cataciones hechas por los 15 panelistas, en lo que corresponde a la variable “Acidez”. Al respecto, el T2 obtiene una calificación de “Me gusta mucho”, y los valores obtenidos demuestran que se encuentran en el rango comprendido entre 4,07 a 8,07. Por tanto, se expresan diferencias significativas entre los tratamientos propuestos en este estudio,

ubicándose el T2 como mejor tratamiento (Tabla 7).

Nivel de aceptabilidad del producto con respecto al Sabor, según el criterio de los panelistas. En cuanto a la catación por apariencia general, en la Figura 5 se muestra que los panelistas dieron una aceptación de “Me gusta moderadamente” al tratamiento T2.



Figura 4

Gráfica radial del nivel de aceptabilidad del producto con respecto a la acidez

Nota. Elaboración propia.

Tabla 7

Análisis de varianza de los promedios obtenidos en el estudio sensorial (Acidez).

Tratamiento	Promedio	D.E.
T2	8,07 ^a	0,7
T1	5,53 ^b	1,2
T0	4,73 ^{b,c}	0,8
T3	4,07 ^c	1,0

Nota. Elaboración propia. Medias seguidas con las mismas letras no presentan diferencia estadística significativa a la probabilidad ($p > 0,05$).

La Tabla 8 muestra que las características sensoriales tuvieron un comportamiento significativo entre los tratamientos, siendo el T2 el de mejor aceptación por los catadores con un valor de 7,33.



Figura 5

Gráfica radial del nivel de aceptabilidad del producto con respecto al sabor.

Nota. Elaboración propia.

Tabla 8

Análisis de varianza de los promedios obtenidos en el estudio sensorial (Sabor)

Tratamiento	Promedio	D.E.
T2	7,33 ^a	1,6
T1	6,13 ^{a,b}	1,3
T0	6,07 ^b	1,0
T3	5,60 ^b	1,2

Nota. Elaboración propia. Medias seguidas con las mismas letras no presentan diferencia estadística significativa a la probabilidad ($p > 0,05$).

Conclusiones

Se estableció que el tratamiento 2 fue de mayor durabilidad durante los 21 días de estudio, y se evidenció un buen control microbiológico según lo establecido en la norma INEN 2 337:2008.

Las características organolépticas establecidas por la norma, demostraron la aceptabilidad del tratamiento 2 en la prueba sensorial; por lo que el muyuyo es un espécimen comestible, que en el futuro podría ser acondicionado para tener una buena aceptación en el mercado nacional e internacional.

Referencias

Aguirre, Z. (2012). Especies forestales de los bosques secos del Ecuador. Guía dendrológica para su identificación y caracterización. Proyecto Manejo Forestal Sostenible ante el Cambio Climático. Ministerio Del Ambiente Del Ecuador, 130. https://coin.fao.org/coin-static/cms/media/21/14042335632720/especies_forestales_bosques_secos_del_ecuador.pdf

Alves, B. M., y Freitas, J. N. (2021). Caracterização físico-química de refresco, néctar e suco tropical comercial sabor goiaba. *Brazilian Journal of Development*, 7 (10), 95051–95058. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n10-16>

Ávila, G. T., y Fonseca, M. M. (2008). Calidad microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona norte de Cundinamarca. [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio Institucional. <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8643/tesis105.pdf?sequence=1>

Baroni, M. V., Calandri, E., Di Paola Naranjo, R., Martínez, M., y Moiraghi, M. (2016). Análisis Físico-Químicos Y Sensoriales. En VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, dirigido por la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <https://cicytac.cba.gov.ar/wp-content/uploads/2018/03/AnálisisFísico-QuímicosSensoriales.pdf>

Castro-García, M. R. (2019). Caracterización de propiedades físicas y antimicrobianas in vitro de un recubrimiento comestible a base de muyuyo (*Cordia lutea* Lam.) Y quitosano. [Tesis de Posgrado, Escuela

Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí “Manuel Félix López”. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espm.edu.ec/bitstream/42000/1063/1/TTMAI9.pdf>

Castro-Gómez, S. A. (2015). Evaluación del fruto del muyuyo (*Cordia lutea*), como ingrediente cosmético para la elaboración de fijadores de cabello. [Tesis de Maestría, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional, Quito, Ecuador. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9029>

Coronado, M., y Hilario, R. (2017). Elaboración de néctar. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo [CIED], Perú. <https://es.calameo.com/read/006511708c07648996d52>

Custode, C. (2015). Estudio comparativo entre la pasteurización abierta y al vacío en las propiedades físico-químicas, microbiológicas y sensoriales de un néctar a base de maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.), zanahoria (*Daucus carota* L.) y noni (*Morinda citrifolia* L.). [Tesis de pregrado, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional, Ecuador. https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/11973/1/AL_566.pdf

Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., Muñoz-Bellido, J. L., y González-Buitrago, J. M. (2011). Rapid method for direct identification of bacteria in urine and blood culture samples by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry: Intact cell vs. extraction method. *Clinical Microbiology and Infection*, 17 (7), 1007–1012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03339.x>

Gordillo, S. C., Guerrero, M. N., Izáziga, L. N., Laguna, P. B., Lázaro, S. M., y Rojas, N. J. C. (2012). Efecto de la proporción de naranja (*Citrus sinensis*), papaya (*Carica papaya*) y piña (*Ananas comosus*) en la aceptabilidad sensorial de un néctar mixto. *Agroindustrial Science*, 2 (2). <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6583423>

Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2008). Norma Técnica Ecuatoriana [NTE] INEN 2 337:2008 Jugos, pulpas, concentrados, néctares, bebidas de frutas y vegetales. <http://normaspdf.inen.gob.ec/pdf/nte/2337.pdf>

Instituto Universitario de la Paz [Unipaz]. (2019). Manual de Análisis Químico e Instrumental. UNIPAZ. <https://unipaz.edu.co/assets/14.manual-de-analisis-fisico-tomo-ii.pdf>

Martillo, J. (2015). El muyuyo es el material que inspira a José Lázaro. Centro Interamericano de Artesanías y Artes Populares [CIDAP]. <http://documentacion.cidap.gob.ec:8080/bitstream/cidap/483/1/El%20>

[muyuyo%20es%20el%20material%20que%20inspira%20a%20JOS%C3%A9%20L%C3%A1zaro.pdf](#)

Mendocilla-Risco, M., Rojas, N., Villar-López, A., Cruzado-Ubillus, R., Guzmán-Coral, F., y Bernuy-Zagaceta, I. (2018). Evidencias preclínicas de *cordia lutea* lam: fitoquímica y efecto en daño hepático. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 3(4), 183. <https://doi.org/10.26722/rpmi.2018.34.100>

Quinde-Pérez, W. F. (2020). *Desarrollo de aplicaciones culinarias a partir de la fruta de Muyuyo (Cordia lutea lamarck, boraginaceae) para su aprovechamiento en el cantón Paján, Manabí*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/49626/1/BINGQ-GS-20P09.pdf>

Resolución 7992 de 1991. [Ministerio de Salud de Ecuador]. Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo relacionado con la elaboración, conservación y comercialización de Jugos. Concentrados, Néctares, Pulpas, Pulpas Azucaradas y Refrescos de Frutas. Julio 21 de 1991 [https://irp-cdn.multiscreensite.com/b5e5fcd9/files/uploaded/Resolucion7992 de 1991 Jugos concentrados Néctares pulpas refrescos.pdf](https://irp-cdn.multiscreensite.com/b5e5fcd9/files/uploaded/Resolucion7992%20de%201991%20Jugos%20concentrados%20N%C3%A9ctares%20pulpas%20refrescos.pdf)

Rojas, M. L., Leite, T., Cristianini, M., Dutra, A. I., y Augusto, P. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22–33. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.011>

San Lucas, C. S. M. (2017). *Determinación de la actividad bactericida del agua de plata sobre ensaladas listas para el consumo humano en restaurantes cercanos a una institución de educación superior* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional. [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26439/2/tesis%20terminado final.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26439/2/tesis%20terminado%20final.pdf)

Sistema de Información Pública Agropecuaria [SIPA]. (2017). *Boletín Situacional - Naranja*. SIPA. <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/frutas/naranja>

Vargas-Flores, T., y Kuno-Vargas, A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*, 49 (2), 2594–2598. http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/1466/280_2.pdf?sequence=1

Estudio comparativo de dos recubrimientos comestibles a base de biopolímeros y cinamaldehído en la conservación de pepino *Cucumis sativus* L.

Comparative study of two edible coatings based on biopolymers and cinnamaldehyde in the conservation of cucumber *Cucumis sativus* L

José Luis Cevallos-Lino^a  josecevalloslino@gmail.com

Marlon Reinaldo Castro-García^a  marlon.castro@uleam.edu.ec

Vanessa Gabriela Espinoza-Posligua^a  apsanchezg@sena.edu.co

Julio Enrique Ávila-Roca^a  julio.avila@uleam.edu.ec

Cesar Fabian López-Zambrano^a  cesar.lopez@uleam.edu.ec

Italo Pedro Bello-Moreira^a  italop.bello@uleam.edu.ec

^aUniversidad Laica Eloy Alfaro de Manabí (ULEAM), Facultad de Ciencias Agropecuarias, Laboratorio de Investigación de Ciencias de Alimentos, Avenida circunvalación, Manta Ecuador., P.O. Box 13-05-2732

Recibido: 07/05/2022 Aceptado: 27/11/2022

Citar, APA: Cevallos-Lino, J. L., Castro-García, M. R., Espinoza-Posligua, V. G., Ávila-Roca, J. E., López-Zambrano, C. F., y Bello-Moreira, I. P. (2023). Estudio comparativo de dos recubrimientos comestibles a base de biopolímeros y cinamaldehído en la conservación de pepino *Cucumis sativus* L. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 52–67. <https://doi.org/10.23850/24220582.4756>

Resumen Se estudió la conservación de frutos de pepino *Cucumis sativus* L. con recubrimientos comestibles a base de almidón de yuca y quitosano, incorporándole cinamaldehído. Las muestras fueron tratadas con recubrimientos de almidón y quitosano al 1 % (p/v) y aceite esencial en concentraciones de 0,05 % y 0,15 % (v/v), respectivamente. Las muestras se almacenaron a 10 °C y 80 % de humedad relativa durante 21 días. Se evaluó sólidos solubles, acidez titulable, pH, firmeza y pérdida de peso cada 24 horas, y los análisis microbiológicos se evaluaron cada 72 horas. Se determinó que el tratamiento T4 (quitosano 1% + cinamaldehído 0,15%) extendió la vida útil de los frutos de pepino en 8 días en comparación con los pepinos sin recubrimiento (control). Adicionalmente, se observó que los tratamientos presentaron mayor firmeza y menor pérdida de peso en comparación con el control. En relación con el análisis microbiológico de mohos y levaduras, los resultados demuestran que los tratamientos T3 (quitosano 1 % + cinamaldehído 0,05 %), y T4 (quitosano 1 % + cinamaldehído 0,15 %) fueron estadísticamente diferentes ($p < 0,05$) a los otros tratamientos y al control durante los 21 días de almacenamiento. Los resultados obtenidos en este estudio expresan la eficacia de los recubrimientos comestibles de quitosano con cinamaldehído como método de conservación en postcosecha del pepino.

Palabras clave: conservación; quitosano; almidón; cinamaldehído, pepino.

Abstract We studied edible coatings based on cassava starch and chitosan incorporating it (cinnamaldehyde) to preserve cucumber *Cucumis sativus* L. fruits. The samples were treated with coatings of starch and 1% (w / v) chitosan and essential oil in concentrations of 0,05% and 0,15% (v / v). The samples were stored at 10 °C and 80% relative humidity for 21 days. Soluble solids, titrable acidity, pH, firmness, and weight loss were evaluated every 24 hours, microbiological analyzes were evaluated every 72 hours. It was determined that the treatment T4 (chitosan 1% + cinnamaldehyde 0,15%) extended the useful life of the cucumber fruits in 8 days in comparison with the uncoated cucumbers (control). Additionally, it was observed that the treatments showed greater firmness and less weight loss compared to the control. In relation to the microbiological analysis of molds and yeasts, the results show that the treatments T3 (chitosan 1% + cinnamaldehyde 0,05%), and T4 (chitosan 1% + cinnamaldehyde 0,15%) were statistically different ($p < 0,05$) to the other treatments and to the control during the 21 days of storage. The results obtained in this study express the efficacy of the edible coatings of chitosan with cinnamaldehyde as a postharvest conservation method for cucumber.

Keywords: conservation; chitosan; starch; cinnamon; foods.

Introducción

En el Ecuador se cultiva pepino en los valles secos y cálidos de la región interandina, en las zonas secas y subhúmedas de la costa. Según datos de Guerrero-Morales y Troya-Andrade (2004) esta hortaliza tiene una superficie de siembra de 532 hectáreas en la provincia de Manabí, con rendimientos de 16,20 Tm/ha (Muñoz-Macías, 2015). En el cantón Rocafuerte este cultivo registra 63 ha sembradas, con un rendimiento promedio de 6,40 Tm/ha¹, y ha tenido un auge de producción durante los últimos años en el país, en donde su comercialización se destina preferente al mercado local y provincial, según lo indicado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería Acuacultura y Pesca (MAGAP) (Muñoz-Macías, 2015).

El cultivo de pepino es muy frecuente bajo condiciones de invernadero (Gálvez, 2004) a diferencia del que se cultiva en campo abierto, como tradicionalmente se realiza en la costa ecuatoriana. Esto provoca problemas de tipo fitosanitario, que se incrementan con el aumento del ciclo vegetativo y el mal manejo. También se presentan inconvenientes postcosecha como el ataque fúngico, el marchitamiento y la pérdida de turgencia causados por la pérdida de agua Siller *et al.* (2000). La antracnosis causada por *Colletotrichum gloeosporioides* es considerada una de las enfermedades más importantes en frutos tropicales, dentro de los que se encuentra al pepino (Mulkay *et al.*, 2012).

Se estima que las pérdidas postcosecha de los productos hortofrutícolas que se producen en el mundo sobrepasan el 20 % debido a deterioros microbiológicos y fisiológicos, como consecuencia de: factores de orden tecnológico, inadecuados procesos de recolección, uso de empaques no apropiados, insuficientes vías para el transporte, entre otros, lo que se traduce en un corto período de almacenamiento (Almeida *et al.*, 2011).

Con el objetivo de evitar o minimizar los efectos adversos de los factores citados y prolongar la vida postcosecha de los productos hortofrutícolas, se han implementado diferentes tecnologías como el almacenamiento a bajas temperaturas, la aplicación de radiaciones gamma

y ultravioleta, el control biológico, la conservación por atmósfera controlada, la utilización de empaques plásticos, el uso de películas, y la aplicación de recubrimientos comestibles, entre otras (Núñez *et al.*, 2012; Aguilar, 2012).

La aplicación de recubrimientos comestibles revela un papel significativo en la vida de anaquel de los alimentos debido a que reduce la pérdida de agua, permite el control respiratorio, retrasa el envejecimiento, y mejora la calidad y el valor comercial de los mismos; por lo que se mantienen sus atributos de calidad y valor nutritivo. Por tal motivo, investigaciones han dedicado sus estudios a la aplicación de estas tecnologías a una amplia gama de productos hortofrutícolas (Restrepo y Aristizábal, 2010).

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz transparente continua, comestible, y delgada; que se estructura alrededor de un alimento, generalmente, mediante la inmersión de este en una solución formadora del recubrimiento, con el fin de preservar su calidad, y servir de empaque. Por otra parte, una película comestible (PC) es una matriz preformada, obtenida por moldeo, cuyo espesor siempre es mayor al de los RC (Del-Valle *et al.*, 2005). Dichas soluciones formadoras de la película o recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de éstos. A pesar de sus diferencias, ambas proceden de igual manera frente a diversas sustancias que actúan sobre el alimento como barrera frente al transporte de gases y vapor de agua, durante su conservación.

En tal efecto, surge la importancia de potenciar la agroindustria en Ecuador como sector muy importante que figura en la política económica de este país, para que propicie estrategias que mejoren la producción agroindustrial, con la búsqueda de nuevas tecnologías factibles y amigables con el ambiente que contribuyan al aumento de la producción y prolonguen el tiempo de vida útil de los alimentos. En este sentido, como objetivo de esta investigación se establece el estudio comparativo de dos recubrimientos comestibles a base de biopolímeros y cinamaldehído en la conservación de pepino (*Cucumis sativus* L.).

Metodología

Preparación de las soluciones de recubrimiento

El recubrimiento de almidón de yuca fue preparado de acuerdo con Santacruz *et al.* (2015): una solución de almidón de yuca al 1 % fue calentada a 90 °C, durante 5 minutos. Una vez que la solución alcanzó la temperatura ambiente se añadió 0,05 % ó 0,15 % de cinamaldehído, respectivamente, para cada tratamiento. El recubrimiento de quitosano se preparó mediante una solución de quitosano al 1 % (p/v) en solución de ácido acético al 1 % (v/v). Se añadió 0,05 % y 0,15 % de cinamaldehído, respectivamente, para cada tratamiento. Finalmente, las soluciones se homogenizaron mediante un ultraturrax (Polytron, Suiza) a 11000

rpm por 4 minutos de acuerdo con el método propuesto por Santacruz *et al.* (2015).

Diseño experimental

El análisis estadístico se realizó con el programa InfoStat versión 2017, con un diseño completamente al azar en arreglo bifactorial A x B+1. Se realizaron 3 repeticiones por cada tratamiento (Tabla 1); para evaluar la influencia de los recubrimientos sobre la pérdida fisiológica de peso, pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, textura instrumental, índice de deterioro cada 24 horas. La proliferación de mohos y levaduras se evaluó cada 72 horas, durante 21 días de almacenamiento, a una temperatura controlada de 10 °C y 85 % de humedad relativa. El análisis de varianza se realizó con ANOVA simple, mediante la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95 %.

Tabla 1

Proporciones de cada tratamiento utilizado para la conservación de pepino

Tratamientos	Biopolímeros	Cinamaldehído
T1	Almidón de yuca (1 % p/v)	0,05 %
T2	Almidón de yuca (1 % p/v)	0,15 %
T3	Quitosano (1 % p/v)	0,05 %
T4	Quitosano (1 % p/v)	0,15 %
Control	-	-

Nota. Elaboración propia.

Análisis de determinación de pérdida fisiológica de peso

Para determinar la pérdida de peso, se registró el peso inicial y el peso final de los pepinos a lo largo de su almacenamiento, mediante el uso de una balanza digital (Sartorius, Alemania). Los resultados fueron expresados como porcentaje de pérdida de peso, con respecto al peso inicial utilizando la ecuación 1 (González-Aguilar *et al.*, 2008).

$$\text{Ecuacion 1} \quad PP = \frac{pi - pf}{pi} \times 100$$

Dónde:

PP= pérdida de peso

pi = peso inicial de la muestra

pf = peso final de la muestra

Determinación de pH

Para la determinación del pH se utilizó el método potenciométrico, se utilizaron aproximadamente 50 g de pulpa de pepino que fueron triturados en una licuadora. Posteriormente, se realizó un proceso de filtrado en tela de lienzo. El jugo obtenido se analizó con electrodo de vidrio, mediante el método AOAC 981,12 (Association of official Analytical Chemists [AOAC International], 1980).

Acidez titulable (AT)

La acidez titulable se determinó por triplicado, se utilizaron aproximadamente 50 g de pulpa de pepino que fueron triturados con licuadora. Posteriormente, se realizó un proceso de filtrado en tela de lienzo. El jugo obtenido se analizó mediante valoración con solución de hidróxido de

sodio (NaOH) 0,01 M, de acuerdo con el método de la AOAC International (1984). Los resultados fueron reportados como porcentaje de ácido cítrico, mediante la ecuación 2:

Ecuación 2

$$\% A = \frac{(V1) \cdot (N) \cdot (M)}{V2} \times 100$$

Dónde:

% A = Acidez expresada en porcentaje de ácido cítrico

V1 = Volumen gastado en mililitros de NaOH

N = Normalidad del NaOH

M = Peso molecular del ácido usado como referencia

V2 = Volumen diluido de la muestra

Sólidos solubles totales (SST)

Se utilizaron aproximadamente 50 g de pulpa de pepino que fueron triturados con una licuadora. Posteriormente, se realizó un proceso de filtrado en tela de lienzo. Con el jugo obtenido se analizó la cantidad de sólidos solubles, con el uso de un refractómetro digital (Atago, Japón), reportándose los resultados como ° Brix (AOAC International, 1990).

Textura instrumental

Para la medición de la firmeza se utilizaron 3 pepinos de control y 3 de cada tratamiento. El

análisis de penetración se realizó a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) mediante un texturómetro. Las medidas se realizaron en la misma sección de la fruta para todas las muestras. Los resultados fueron analizados mediante el software Trapezium X. Se utilizó una placa circular de 12 cm de diámetro y el ensayo de penetración se realizó con un punzón de 8 cm de longitud y 2 mm de diámetro a una velocidad 10 mm/min, con una penetración en la fruta de 30 mm. Los resultados se expresaron como la fuerza máxima (N) necesaria para penetrar en la pulpa del vegetal (Castro *et al.*, 2015).

Análisis microbiológico

Los recuentos microbiológicos se realizaron los días 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, y 21 del período de almacenamiento. El conteo de mohos y levaduras se realizó de acuerdo con el método 997.02. (AOAC International, 2000).

Resultados y discusión

Pérdida fisiológica de peso

En la Tabla 2 los datos muestran diferencias estadísticas entre medias en la pérdida de peso de los tratamientos y el control. Se observa que el tratamiento 4 (T4) fue el que mostró el menor valor en la pérdida de peso, a diferencia del testigo, que mostró una mayor pérdida de peso durante los 21 días del período de almacenamiento.

Tabla 2

Pérdida de peso (%) en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80% de humedad relativa

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
1	0,56 ^c	0,58 ^c	0,43 ^b	0,20 ^a	1,00 ^d
2	1,23 ^b	1,26 ^c	1,20 ^a	0,25 ^b	2,80 ^d
3	1,32 ^d	1,29 ^c	1,22 ^b	0,26 ^a	2,99 ^e
4	1,40 ^c	1,49 ^d	1,25 ^b	0,28 ^a	3,40 ^e
5	2,00 ^b	2,12 ^c	1,97 ^b	1,20 ^a	4,50 ^d
6	2,24 ^c	2,35 ^d	2,00 ^b	1,33 ^a	6,00 ^e
7	2,45 ^c	2,86 ^d	2,16 ^b	1,57 ^a	6,44 ^e
8	3,11 ^c	3,36 ^d	2,80 ^b	2,02 ^a	7,67 ^e
9	3,77 ^c	4,16 ^d	3,05 ^b	2,20 ^a	8,90 ^e

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
10	4,98 ^c	5,73 ^d	3,41 ^b	2,70 ^a	9,33 ^e
11	5,00 ^c	5,94 ^d	4,44 ^b	3,11 ^a	10,12 ^e
12	5,34 ^c	6,46 ^d	5,15 ^b	3,54 ^a	10,55 ^e
13	5,98 ^c	6,55 ^d	5,49 ^b	3,99 ^a	11,23 ^e
14	6,13 ^c	7,77 ^d	5,87 ^b	4,34 ^a	11,58 ^e
15	6,50 ^c	8,00 ^d	5,94 ^b	4,66 ^a	11,90 ^e
16	6,91 ^c	8,85 ^d	6,03 ^b	4,94 ^a	13,30 ^e
17	7,37 ^c	9,13 ^d	6,13 ^b	5,15 ^a	13,45 ^e
18	8,28 ^c	9,96 ^d	6,32 ^b	5,35 ^a	14,32 ^e
19	8,80 ^c	10,45 ^d	6,39 ^b	5,41 ^a	15,45 ^e
20	9,88 ^c	10,50 ^d	6,73 ^b	5,86 ^a	16,00 ^e
21	9,90 ^c	10,83 ^d	7,09 ^b	6,06 ^a	16,78 ^e

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices muestran las diferencias estadísticas por día ($\alpha = 0,05$). Elaboración propia.

La Tabla 2 muestra la evolución de la pérdida de peso de las muestras de control en comparación con los pepinos recubiertos a lo largo de los 21 días de almacenamiento a 10 °C. Los pepinos tratados con quitosano + cinamaldehído en concentraciones de 0,05 % (T3) y 0,15 % (T4), presentaron la menor pérdida de peso durante los 21 días de almacenamiento, siendo el T4 el de menor pérdida con un valor de 6,06 %, seguido de los tratamientos T3, T1 y T2 con valores de 7,09 %; 9,90 %; 10,83 %, respectivamente. Durante el período de estudio, los pepinos de control demuestran la mayor pérdida de peso registrada con valores de 16,78 %, luego de 21 días del periodo de almacenamiento.

Según los resultados, se puede inferir que la mayor pérdida de peso que expresaron las muestras de control se debió a una deshidratación del producto por los cambios fisiológicos y procesos de senescencia en el almacenamiento. En ausencia del recubrimiento comestible, carecen de una barrera de protección como la de las muestras de los otros tratamientos.

La menor pérdida de peso se observó en los pepinos tratados con recubrimiento (quitosano 1 % + cinamaldehído 0,15 %), este comportamiento se atribuye a la capa superficial que se forma en el fruto recubierto. Esta capa contribuye a la reducción del intercambio de gases, minimiza

de la velocidad de respiración, y por ende, la pérdida de agua (Castro *et al.*, 2015).

Todos los tratamientos presentaron una disminución de peso a lo largo del almacenamiento, un efecto similar fue reportado por Trejo-Márquez *et al.* (2007) en su investigación sobre fresas conservadas con recubrimiento a base de gelatina y ácido acético, afirman que las menores pérdidas de peso se produjeron en los tratamientos con relación al control. Un porcentaje de esta pérdida de peso pudo corresponder a la pérdida de agua que ocurre durante el proceso de respiración, como se reporta en zanahoria cortada y rallada (Izumi *et al.*, 1996).

Las pérdidas de peso en los frutos se incrementan como consecuencia de la transpiración después de la cosecha y significa una disminución de la calidad y aceptabilidad (Cuquerella *et al.*, 1983). Los procesos de almacenamiento prolongado, el pelado y cortado de la fruta, exponen los tejidos al medio ambiente y favorecen la evaporación del agua (Brecht, 1995).

Fias *et al.* (2003) menciona que la pérdida de peso en los alimentos es congruente con la tasa de transpiración, que representa a la difusión del H₂O y demás sustancias volátiles presentes

en las frutas, por medio de la epidermis, esto como resultado del (proceso de respiración y transpiración) metabolismo. Esto lo describe mediante la primera ley de Fick, que implanta que el flujo de un gas a través de una barrera de tejido es proporcional al gradiente de concentración. Otros autores expresan resultados donde se obtuvieron derivados de investigaciones realizadas con concentraciones de 0; 1; 2; y 3 % de almidón, que dan cuenta de pérdidas en el peso de 4,40; 4,26; 3,93 y 3,88 % en papaya (Canto-Pereira *et al.*, 2006) y valores de 16; 15; 13,5; 9,5% en estudios de mango (Scanavaca *et al.*, 2007), (inversamente proporcional a la concentración del almidón). También se reportan pérdidas de

peso en un 6,9 % en frutas de aguacate (Aguilar-Méndez *et al.*, 2008), 5 % en tomate de mesa (Sothornvit y Rodsamran, 2008), 6,54 % y 4,3 % en muestras de frutos que fueron tratados con zeína (Zapata *et al.*, 2007).

pH

La Tabla 3 muestra que existe diferencia significativa en el pH de los tratamientos y el control. Se observa que las muestras del control evidenciaron el mayor valor en pH a diferencia del tratamiento T4 que mostró un menor incremento en el pH durante los 21 días del periodo de almacenamiento.

Tabla 3

Variación del pH en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80 % de humedad relativa

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
1	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
2	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
3	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
4	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
5	5,01 ^b	5,01 ^b	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^c
6	5,07 ^b	5,01 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^a
7	5,07 ^c	5,01 ^{ab}	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^b
8	5,10 ^b	5,05 ^{ab}	5,01 ^a	5,00 ^a	5,03 ^a
9	5,10 ^a	5,05 ^a	5,01 ^a	5,02 ^a	5,49 ^b
10	5,10 ^a	5,09 ^a	5,01 ^a	5,02 ^a	5,77 ^b
11	5,10 ^b	5,09 ^b	5,01 ^a	5,02 ^a	5,80 ^c
12	5,11 ^b	5,09 ^b	5,01 ^a	5,03 ^a	5,90 ^c
13	5,12 ^c	5,11 ^c	5,02 ^a	5,07 ^b	6,00 ^d
14	5,14 ^b	5,12 ^b	5,04 ^a	5,07 ^a	6,02 ^c
15	5,14 ^c	5,13 ^c	5,04 ^a	5,10 ^b	6,02 ^d
16	5,16 ^a	5,14 ^a	5,10 ^a	5,10 ^a	6,06 ^b
17	5,25 ^c	5,17 ^b	5,11 ^a	5,11 ^a	6,06 ^d
18	5,26 ^b	5,22 ^b	5,13 ^a	5,11 ^a	6,07 ^c
19	5,60 ^b	5,29 ^a	5,15 ^a	5,12 ^a	6,08 ^c
20	5,64 ^c	5,51 ^{bc}	5,21 ^{ab}	5,16 ^a	6,08 ^d
21	5,85 ^c	5,51 ^b	5,26 ^{ab}	5,19 ^a	6,08 ^c

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices muestran las diferencias estadísticas por día ($\alpha = 0,05$).

En los resultados presentados en la Tabla 4 se observó diferencia significativa ($p < 0,05$) en el pH de los pepinos del control, en comparación con los tratamientos T1; T2; T3; T4. En T1 y T2 ocurre un incremento en el valor de pH a partir del día 5 y para T3 y T4 el aumento es a partir del día 8 y 9 del periodo de almacenamiento. Para las muestras del control se reporta un mayor pH, con un valor de 5 para el día 0 y de 6,08 para el día 21; a diferencia de las muestras del T4 que evidencian el menor valor de pH (5 en el día 0; hasta 5,19 para el día 21), seguidas de las muestras del T3; T2; y T1 (5,26; 5,51 y 5,85, respectivamente).

El aumento del pH en todos los tratamientos, durante el almacenamiento, se puede sustentar en la disociación del ácido cítrico

Tabla 4

Acidez titulable en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80 % de humedad relativa

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
1	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
2	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
3	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
4	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a
5	5,01 ^b	5,01 ^b	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^c
6	5,07 ^b	5,01 ^a	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^a
7	5,07 ^c	5,01 ^{ab}	5,00 ^a	5,00 ^a	5,02 ^b
8	5,10 ^b	5,05 ^{ab}	5,01 ^a	5,00 ^a	5,03 ^a
9	5,10 ^a	5,05 ^a	5,01 ^a	5,02 ^a	5,49 ^b
10	5,10 ^a	5,09 ^a	5,01 ^a	5,02 ^a	5,77 ^b
11	5,10 ^b	5,09 ^b	5,01 ^a	5,02 ^a	5,80 ^c
12	5,11 ^b	5,09 ^b	5,01 ^a	5,03 ^a	5,90 ^c
13	5,12 ^c	5,11 ^c	5,02 ^a	5,07 ^b	6,00 ^d
14	5,14 ^b	5,12 ^b	5,04 ^a	5,07 ^a	6,02 ^c
15	5,14 ^c	5,13 ^c	5,04 ^a	5,10 ^b	6,02 ^d
16	5,16 ^a	5,14 ^a	5,10 ^a	5,10 ^a	6,06 ^b
17	5,25 ^c	5,17 ^b	5,11 ^a	5,11 ^a	6,06 ^d
18	5,26 ^b	5,22 ^b	5,13 ^a	5,11 ^a	6,07 ^c
19	5,60 ^b	5,29 ^a	5,15 ^a	5,12 ^a	6,08 ^c
20	5,64 ^c	5,51 ^{bc}	5,21 ^{ab}	5,16 ^a	6,08 ^d
21	5,85 ^c	5,51 ^b	5,26 ^{ab}	5,19 ^a	6,08 ^c

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices muestran las diferencias estadísticas por día ($\alpha = 0,05$).

en el producto que posibilita la formación de una sal básica a causa del contenido sales en el pepino. Los resultados obtenidos en este trabajo con respecto al aumento del pH coinciden con lo expuesto por Han *et al.* (2004) en su trabajo sobre la aplicación de recubrimientos comestibles a base de quitosano y gelatina en fresas almacenadas en refrigeración, y por Trejo-Márquez *et al.* (2007) en su investigación sobre fresas recubiertas a base de gelatina y ácido acético.

Acidez titulable (AT)

La Tabla 4 muestra las diferencias estadísticas entre tratamientos con respecto a la acidez titulable. En todos los casos se evidencia aumento en la acidez. Sin embargo, el aumento es más notorio en el testigo.

En los resultados presentados en la tabla 4 se observó diferencia significativa ($p < 0,05$) en el porcentaje de acidez de los pepinos del control en comparación con las muestras de los tratamientos a partir del día 5 de almacenamiento. En el día 21 se evidencian diferencias significativas entre T3 y T4 en contraste con las muestras de T1, T2 y el control. T3 y T4 tienen un menor aumento en los valores de acidez (0,050 % día 0; 0,052 % día 21), mientras que T1 y T2 iniciaron con valores de 0,050 % en el día 0 hasta 0,057 y 0,055 %, respectivamente, para el día 21. Mientras que las muestras control iniciaron con 0,050 % en el día 0 llegando a 0,060 % en el último día de almacenamiento.

El aumento de la acidez en todos los tratamientos ocurre debido a la concentración de los ácidos orgánicos presentes en el pepino a causa de la pérdida de peso que tuvo lugar a lo largo del almacenamiento. Un comportamiento similar encontró Bueno-Santos *et al.* (2005) en piña mínimamente procesada. Rathore *et al.* (2007) asocian este comportamiento con la atmósfera modificada que generan los recubrimientos.

Cuando se crea una barrera de gases, puede ser inducido un incremento en la presencia de algunos volátiles asociados con condiciones anaeróbicas; es el caso del etanol y acetaldehído Quintero *et al.* (2010), estos resultados fueron detectados después de 2 semanas de almacenamiento en trozos de manzana tratados con recubrimientos de alginato y goma gellan (Rojas-Grau *et al.*, 2007). La producción de dichas sustancias se encuentra relacionada con fermentación anaerobia y detrimento en

las propiedades sensoriales, y en especial, con la pérdida de sabores en frutos mínimamente procesados, Rojas-Grau *et al.* (2008).

En contraste, la disminución de acidez titulable en frutas reportada por Figueroa *et al.* (2013) y Rathore *et al.* (2007), es asociada a la atmósfera modificada generada por los recubrimientos que permite ralentizar el proceso metabólico en los frutos y, en consecuencia, retrasar la degradación enzimática del ácido cítrico o conversión de este en azúcar, durante la maduración. Solon *et al.* (2005) afirman que la concentración de ácidos orgánicos tiende a disminuir en la mayoría de los frutos, debido a la utilización de estos como sustrato respiratorio, y como esqueletos de carbono para la síntesis de nuevos compuestos. Pinto *et al.* (2006) señalan que la disminución de la acidez de las frutas se debe probablemente a la reducción de la actividad metabólica. En la investigación realizada por Restrepo & Aristizábal (2010) sobre la aplicación de recubrimientos a base de gel de penca de sábila y gelatina en fresas, reportaron haber observado una disminución de acidez en sus tratamientos, además, coinciden con los resultados del estudio hecho por Trejo-Márquez *et al.* (2007), sobre fresas recubiertas a base de gelatina y ácido acético, en el que afirman que la acidez de los frutos disminuyó como consecuencia del tiempo de almacenamiento.

Sólidos solubles totales (SST)

El control fue el que mayor porcentaje de SST presentó a diferencia del T3 que mostró un menor valor, durante los 21 días del periodo de almacenamiento.

Tabla 5

STT en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80% de humedad relativa

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
1	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a
2	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a
3	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a	3,00 ^a
4	3,00 ^a	3,00 ^a	3,15 ^b	3,00 ^a	3,30 ^b
5	3,00 ^a	3,00 ^a	3,26 ^b	3,00 ^{ab}	3,37 ^b
6	3,00 ^a	3,12 ^{ab}	3,26 ^{bc}	3,20 ^{abc}	3,40 ^c
7	3,11 ^a	3,18 ^{ab}	3,28 ^c	3,22 ^{bc}	3,43 ^d

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
8	3,13 ^a	3,24 ^{ab}	3,34 ^{bc}	3,28 ^{ab}	3,47 ^c
9	3,25 ^a	3,28 ^a	3,40 ^{ab}	3,33 ^{ab}	3,52 ^b
10	3,27 ^{ab}	3,64 ^b	3,41 ^{ab}	3,50 ^{ab}	3,55 ^{ab}
11	3,29 ^a	3,71 ^c	3,49 ^b	3,60 ^{bc}	3,57 ^{bc}
12	3,37 ^a	3,83 ^b	3,63 ^{ab}	3,83 ^b	3,60 ^a ^b
13	3,43 ^a	4,11 ^c	3,71 ^b	4,09 ^c	3,65 ^{ab}
14	3,52 ^a	4,28 ^c	4,00 ^c	4,20 ^c	3,72 ^b
15	3,60 ^a	4,54 ^c	4,37 ^c	4,48 ^c	4,10 ^b
16	3,64 ^a	4,56 ^{bc}	4,39 ^b	4,72 ^c	4,59 ^{bc}
17	3,89 ^a	4,64 ^{bc}	4,48 ^b	4,89 ^c	4,73 ^{bc}
18	4,15 ^a	4,79 ^{bc}	4,49 ^{ab}	4,93 ^c	5,06 ^c
19	4,41 ^a	4,86 ^b	4,55 ^a	5,25 ^c	5,74 ^d
20	4,77 ^b	5,00 ^c	4,62 ^a	5,45 ^d	6,47 ^e
21	5,27 ^b	5,34 ^{bc}	4,64 ^a	5,58 ^c	6,63 ^d

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices muestran las diferencias estadísticas por día ($\alpha = 0,05$).

En el contenido de sólidos solubles totales (SST) hay variación significativa ($p \leq 0,05$) entre las muestras de control y las muestras de los tratamientos a partir del día 4 de almacenamiento a 10 °C. Se evidenció un aumento progresivo en el contenido de SST a lo largo del almacenamiento en todas las muestras (Tabla 5). Los pepinos del tratamiento T4 y los del control presentaron el contenido de SST más alto con valores de 3 % para el día 0 hasta evidenciar valores de 5,58 % y 6,63 %, respectivamente al llegar al día 21 del periodo de almacenamiento. Las muestras de los tratamientos T1, T2 y T3 presentaron los valores más bajos en (SST) iniciando con 3 % en el día 0 llegando a evidenciar valores de 5,27 %, 5,34 % y 4,64 %, respectivamente, siendo las muestras del T3 los valores más bajos al llegar al día 21.

Todos los tratamientos tienen aumento de °Brix durante el periodo de estudio, comportamiento atribuible, posiblemente, a la maduración de la fruta que está acompañada por cambios en los ácidos orgánicos. En la etapa de la maduración el contenido de sólidos solubles totales (SST) tiende a aumentar (Santamaría-Basulto *et al.*, 2009). Este aumento se observó en las muestras control y de los tratamientos (Tabla 5).

En los tratamientos el contenido de SST presentó un ligero aumento, a diferencia del control que lo presentó más acelerado en términos de los °brix; esta tendencia podría estar relacionada con el retardo del proceso de maduración en los frutos revestidos con película. Similar comportamiento fue observado por Castricini (2009) en muestras testigo de papaya recubierta con almidón de yuca a 3 % por igual período, almacenadas a temperatura ambiental, y de refrigeración a 12 °C. En otro trabajo se reportó que el almidón de yuca produjo una retención en el aumento de los sólidos solubles de los tomates (Amaya, 2010).

Textura instrumental

La Tabla 6 muestra que T4 tiene mayor firmeza a diferencia del control que mostró menor valor después de 21 de almacenamiento.

En la Tabla 6 se muestra el efecto significativo ($p < 0,05$) en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano en los cambios de firmeza durante 21 días de almacenamiento a 10 °C. La disminución en la fuerza de penetración fue más evidente en las muestras del control que pasaron de un valor de 17,51 N para el día 0 de estudio, hasta un valor de 4,98 N para el día 21.

Se observó que los tratamientos con quitosano T3 y T4 conservaron en mayor medida la firmeza con 17,51 N en el día 0 hasta a 12,25 N y 13,84 N, respectivamente, en el día 21, mientras que las

muestras tratadas con almidón (T1 y T2) tienen valores de firmeza de 5,67 N y 8,44 N al llegar al último día de almacenamiento.

Tabla 6

Firmeza (N) en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80 % de humedad relativa

Días	T1	T2	T3	T4	Testigo
1	17,51 ^a	17,51 ^a	17,51 ^a	17,51 ^a	17,51 ^a
2	17,39 ^c	17,24 ^a	17,49 ^d	17,49 ^d	17,36 ^b
3	17,36 ^b	17,23 ^a	17,37 ^b	17,40 ^c	17,22 ^a
4	17,30 ^c	16,97 ^a	17,34 ^d	17,38 ^e	17,19 ^b
5	17,22 ^c	16,76 ^a	17,25 ^d	17,34 ^e	17,08 ^b
6	17,20 ^d	16,68 ^a	17,05 ^c	17,25 ^e	17,03 ^b
7	16,41 ^b	16,61 ^c	17,01 ^d	17,19 ^e	16,31 ^a
8	16,26 ^b	16,31 ^c	16,70 ^d	17,10 ^e	15,77 ^a
9	16,21 ^b	16,27 ^c	16,54 ^d	16,79 ^e	12,70 ^a
10	16,17 ^b	16,25 ^c	16,26 ^c	16,66 ^d	11,17 ^a
11	16,12 ^b	16,14 ^b	16,21 ^c	16,39 ^d	10,82 ^a
12	14,07 ^b	14,66 ^c	16,13 ^d	16,24 ^e	10,14 ^a
13	14,00 ^b	14,29 ^c	15,94 ^d	16,13 ^e	9,88 ^a
14	13,10 ^b	14,06 ^c	15,79 ^d	16,04 ^e	9,85 ^a
15	12,12 ^b	13,74 ^c	15,15 ^d	15,72 ^e	8,82 ^a
16	10,96 ^b	12,84 ^c	15,00 ^d	15,68 ^e	7,92 ^a
17	10,37 ^b	12,23 ^c	14,82 ^d	15,10 ^e	7,51 ^a
18	8,86 ^b	11,02 ^c	14,56 ^d	14,96 ^e	6,18 ^a
19	7,52 ^b	10,60 ^c	13,30 ^d	14,56 ^e	5,83 ^a
20	6,19 ^b	9,89 ^c	13,10 ^d	14,13 ^e	5,45 ^a
21	5,66 ^b	8,44 ^c	12,25 ^d	13,84 ^e	4,98 ^a

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices muestran las diferencias estadísticas por día ($\alpha = 0,05$).

Se observó que todos los tratamientos perdieron firmeza durante su almacenamiento, Sakurai y Nevis (1997) mencionan que la degradación de los componentes de la pared celular, específicamente de la pectina podría atribuirse a la acción de enzimas específicas, tales como, las pectinesterasa y la poligalacturonasas que ocasionan el ablandamiento de los frutos y por ende la pérdida de textura. Debido a la degradación por hidrólisis de las paredes celulares durante la maduración, afecta las

fuerzas de cohesión que mantienen unas células unidas con otras, da paso a un ablandamiento del fruto, en consecuencia, la disminución de su resistencia a la penetración (Aldana y Ospina, 2001).

La liberación de enzimas pectinolíticas y proteolíticas se inicia después de la senescencia a causa de la rotura de la pared celular. Ambas enzimas se difunden al interior del tejido y

actúan sobre sus sustratos (pectina y proteínas), y ocasionan daño de la estructura (Toivonen y Brummell, 2008).

Por otra parte, parece que el quitosano, en sí mismo, inhibe la actividad de las enzimas. Sin embargo, esta inhibición podría estar relacionada con los cambios fisiológicos inducidos por los tratamientos aplicados. Se ha observado que el quitosano es capaz de inactivar o inhibir varias enzimas que causan deterioro de frutas y verduras (Bhaskar-Reddy *et al.*, 2000).

Es bien conocido que la pérdida de textura por efecto de la temperatura y los días de almacenamiento ocurre por la hidrólisis de los componentes de la pared celular (Watada *et al.*, 1990; Agar *et al.*, 1999; Beaulieu y Gorny, 2002). La pérdida de firmeza durante la maduración es consecuencia de la degradación de protopectinas

insolubles a pectinas solubles, gracias a la acción de la poligalacturonasa y la pectin metil esterasa (Blandón-Navarro, 2012).

La firmeza interviene en la percepción de calidad y también se relaciona con la hidrólisis de los componentes en la pared celular, también con la pérdida de azúcares, pérdida de turgencia que se manifiesta por el debilitamiento de las paredes celulares, degradación del almidón, el posterior ablandamiento debido a la liberación del etileno, y como consecuencia de la acción enzimática (Martínez-Hernández *et al.*, 2013).

Análisis microbiológico

La Tabla 7 muestra las diferencias estadísticas en el crecimiento de mohos y levaduras durante 21 días de almacenamiento. Se observa que el T4 tiene una menor presencia microbiana a diferencia del control que tiene mayor presencia microbiana a lo largo del almacenamiento.

Tabla 7

Recuento de mohos y levaduras (UFC/g) en pepinos recubiertos con almidón de yuca y quitosano adicionándole cinamaldehído, almacenados durante 21 días a 10 °C y 80 % de humedad relativa

Tratamientos	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15	Día 18	Día 21
T1	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	13,00 ^c	14,00 ^d	16,00 ^d
T2	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	11,00 ^a	12,00 ^c	13,00 ^c
T3	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	11,00 ^a	11,00 ^b	11,00 ^b
T4	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^b	10,00 ^a	10,00 ^a
TESTIGO	10,00 ^a	10,00 ^a	10,00 ^a	11,00 ^b	15,00 ^b	18,00 ^d	23,00 ^e	27,00 ^e

Nota. Los valores corresponden a la media de 3 réplicas. Las letras en superíndices distintas corresponden a valores estadísticamente diferentes tratamientos ($\alpha = 0,05$).

La Tabla 7 expresa el resultado de los recubrimientos en el crecimiento de mohos y levaduras en pepinos almacenados 21 días a 10 °C. De igual manera, la diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos y las muestras de control a partir del día 9. Los tratamientos más efectivos son T3 y T4, con respecto a la reducción en el crecimiento de hongos y levaduras, de 10,00 UFC/g para el día 0 hasta valores de 11,00 y 10,00 UFC/g, respectivamente, para el día 21. Las muestras de control evidenciaron un aumento considerable en el desarrollo de mohos y levaduras pasando de 10,00 UFC/g en el día 0 hasta

llegar a mostrar valores de 27,00 UFC/g al llegar al día 21 a 10 °C. Estos resultados demuestran el poder inhibitorio del cinamaldehído en conjunto con la película comestible de quitosano y la eficacia en el control de mohos y levaduras en frutos de pepino.

Lo anterior, concuerda con lo obtenido por Ramírez *et al.* (2013) en el estudio en moras de castilla indicaron que existió incremento de las UFC de hongos en relación con el tiempo de almacenamiento.

Shahidi *et al.*, (1999) reportaron que una de las razones que justifican las propiedades antimicrobianas del quitosano, es que posee cargas positivas en su grupo amino, que interactúan con las cargas negativas de las membranas celulares de los microorganismos. Asimismo, Helander *et al.* (2001) observaron con microscopía electrónica que este compuesto se une a la parte exterior de la membrana de los microorganismos, y destruye su función de barrera. Romanazzi *et al.* (2006) informaron que el deterioro de las uvas por hongos puede ser inhibida al ser recubiertas con quitosano.

Sin embargo, Hernández-Lauzardo *et al.* (2005) atribuyeron el efecto antimicrobiano del tratamiento de quitosano a una combinación de su actividad antimicrobiana y a la activación del mecanismo de defensa del fruto influenciado por la presencia de quitosano, mediante la activación de la enzima quitinasa y la síntesis de fitoalexinas y otros compuestos. Es así como uvas tratadas mostraron actividad de quitinasa y un aumento en la producción de fitoalexinas. Ruiz-Cruz *et al.* (2010) reportaron que diferentes recubrimientos a base de quitosano y almidón redujeron el crecimiento de mesófilos (4 Log UFC/g) en melón fresco cortado. González-Aguilar *et al.* (2008) reportaron que un recubrimiento de quitosano al 2 % redujo la población de mesófilos aerobios en 2 Log CFU/g en papaya fresca cortada, después de 14 días de almacenamiento a 5 °C con respecto al control. El-Ghaouth *et al.* (1992) observaron que fresas contaminadas con *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinérea*, posteriormente, tratadas con recubrimientos de quitosano al 1,5 %, reducían hasta el 60 % de su deterioro durante 14 días de almacenamiento.

Previamente, se ha reportado que el peso molecular también es una característica importante para la actividad antifúngica del quitosano. González-Aguilar *et al.* (2009) evaluaron el efecto de recubrimientos de quitosano de bajo, mediano y alto peso molecular, aplicado a papaya fresca cortada. Dichos autores

encontraron que el recubrimiento de quitosano de mediano peso molecular fue el más efectivo a una concentración de 2 %, siendo capaz de suprimir el desarrollo de hongos hasta por 14 días de almacenamiento a 5 °C. Otros autores han evaluado el efecto de recubrimientos de quitosano en uvas, cerezas y manzanas con resultados antifúngicos muy similares (Romanazzi *et al.*, 2002; Assis y Pessoa, 2004).

Los aceites esenciales afectan etapas del desarrollo de los hongos como la germinación de esporas, formación de estructuras de penetración, desarrollo de micelio y esporulación. Por lo general, la germinación de esporas y el desarrollo micelial son utilizados en estudios in vitro para subsecuentes aplicaciones (Montes-Belmont *et al.*, 2000).

Otros autores (Baratta *et al.*, 1998; Chaisawadi *et al.*, 2005; Chanthaphon *et al.*, 2008; Sharma y Tripathi, 2008; Shukla *et al.*, 2000; Quintana *et al.*, 2010; Viuda-Martos *et al.*, 2008) demuestran actividad inhibitoria del crecimiento y/o germinación de hongos, con análisis antifúngicos a diferentes condiciones, a partir de aceites esenciales de canela, orégano, mejorana, limoncillo, limón, mandarina, pomelo (*Citrus paradisi* L.) y naranja dulce. Algunos autores mencionan que un posible mecanismo de acción de los aceites sobre el crecimiento de los hongos es debido a los constituyentes con alta hidrofobicidad presentes en la célula, lo que ocasiona trastornos en la permeabilidad y en el transporte de iones y de otros compuestos, así como en la separación de componentes lipídicos de la membrana celular y la mitocondria (Quintana *et al.*, 2010).

Conclusiones

En la determinación del mejor tratamiento aplicado en la conservación de pepinos en postcosecha se concluye que el tratamiento T4 quitosano 1 % + cinamaldehído 0,15 % fue el mejor tratamiento para la conservación

de este fruto, debido a que conserva sus características fisicoquímicas por mayor tiempo. Microbiológicamente, se presentaron variaciones en función del tiempo de almacenamiento, incrementándose las UFC de mohos y levaduras en todos los tratamientos. Sin embargo, a través de la aplicación del recubrimiento se logró retardar su desarrollo y en mayor proporción en el tratamiento.

Este trabajo muestra que la aplicación de recubrimientos comestibles a base de quitosano 1 % y 0,15 % de cinamaldehído en pepinos podría ser utilizado como una opción para contrarrestar las pérdidas y daños que sufre la fruta en la postcosecha, pudiéndose implementar como una nueva alternativa de comercialización que ayude a obtener mayores beneficios económicos a los productores y expendedores de esta fruta en nuestro país.

Referencias

- Agar, I., Massantini, R., Hess-Pierce, B., y Kader, A. (1999). Postharvest CO₂ and ethylene production and quality maintenance of fresh-cut kiwifruit slices. *Journal Food Science*. 64 (3), 433–440. <https://ucanr.edu/datastoreFiles/234-111.pdf>
- Aguilar, J. M. (2012). Métodos de conservación de alimentos. López, E. (Ed). Red Tercer Milenio, Primera edición, ISBN-978-607-733-150-6.
- Aguilar-Méndez, M., Martín-Martínez, E., Tomás, S., Cruz-Orea, A., y Jaime-Fonseca, M. (2008). Gelatine-starch films: Physicochemical properties and their application in extending the post-harvest shelf life of avocado (Persea americana). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (2), 185–193. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3068>
- Aldana, H. y Ospina, J. (2001). *Ingeniería y agroindustria*. Terranova Ltda., 2da Edición, Colombia-Bogotá, p. 246.
- Almeida, A., Reis, J. D., Santos, D., Vieira, T., y Da C., M. (2011). Estudio de la conservación de la papaya (Carica papaya L.) asociado a la aplicación de películas comestibles. *Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 12 (1). <http://ri.ufs.br:8080/handle/123456789/71>
- Amaya, P., Peña, L., Mosquera, A., Villada, H., y Villada, D. (2010). Efecto del uso de recubrimientos sobre la calidad del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Dyna*, 77 (162), 67–73. <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S0012-73532010000200008>
- Assis, O. B., y Pessoa (2004). Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings to inhibit fungal growth on sliced fruit. *Brazilian Journal Food Technology*, 7, 7–22. <https://www.scielo.br/j/bjft/>
- Association of official Analytical Chemists [AOAC]. (1980). *Official methods of Analysis*. 16 th (Ed). Association of official Analytical Chemists. Washington D. C, USA. <https://www.aocac.org/>
- Association of official Analytical Chemists [AOAC]. (1984). *Official methods of analysis of official analytical chemists international*. 14th (ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA. <https://www.aocac.org/>
- Association of official Analytical Chemists [AOAC]. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15^a (ed). Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA. <https://www.aocac.org/>
- Association of official Analytical Chemists [AOAC]. (2000). *Official Method 997.02. Yeast and Mold Counts in Foods. Dry Rehydratable Film Method (PetrifilmTM Method)*. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., USA. <https://www.aocac.org/>
- Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., y Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13 (4), 235–244. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(1998070\)13:4<235::AID-FFJ733>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(1998070)13:4<235::AID-FFJ733>3.0.CO;2-T)
- Beaulieu, J. C., y Gorny, J. R. (2002). *Fresh-cut fruits. The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks*, 604. United States Department of Agriculture <https://ucanr.edu/datastoreFiles/234-2927.pdf#page=614>
- Bhaskar-Reddy, M., Angers, P., Castaigne, F., y Arul, J. (2000). Chitosan effects on blackmold rot and pathogenic factors produced by *Alternaria alternata* in postharvest tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125 (6), 742–747. <https://doi.org/10.21273/JASHS.125.6.742>
- Blandón-Navarro, S. (2012). *Fisiología de poscosecha*. Universidad Nacional de Ingeniería, Nicaragua. 24 p <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Fisiologiaposcosecha.pdf>
- Brecht, J. K. (1995). Physiology of lightly processed fruits and vegetables. *HortScience*, 30 (1), 18–22. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.30.1.18>
- Bueno-Santos, J. C., de Barros-Vilas, E. V., Torres-Prado, M. E., y Marques-Pinheiro, A. C. (2005). Avaliação da qualidade do abacaxi “perola” minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. *Ciência e Agrotecnologia*, 29 (2), 353–361. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542005000200012>
- Canto-Pereira, M. E., Santana-da Silva, A., Simões-da Rocha, A., Barbosa-dos Santos, D., Barbosa-dos Santos, S., y dos Santos, V. (2006). Amadurecimento de mamão formosa (Carica papaya) com revestimento comestível a base de fécula de mandioca. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30 (6), 1116 – 1119. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542006000600011>
- Castricini, A. (2009). *Aplicação de revestimentos comestíveis para conservação de mamões (Carica papaya L.) ‘Golden’*. [Tesis de doctorado en Ciencias, Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil]. Repositorio Institucional. <https://tede.ufrrj.br/jspui/>

bitstream/tede/555/1/2009%20-%20Ariane%20Castricini.pdf

Castro, M., K. Ziani, S., y Santacruz. (2015). Conservación de arilos de rambutan (*Nephelium lappaceum*) mediante recubrimientos comestibles de quitosano y aloe vera. *Alimentos, Ciencia e Ingeniería*, 23 (2), 32-43. <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/issue/archive>

Chaisawadi, S., Thongbute, D., Methawiriyasilp, W., Pitakworarat, N., Chaisawadi, A., Jaturonrasamee, K., Khemkhaw, J., y Tanuthumchareon, W. (2005). Preliminary study of antimicrobial activities on medicinal herbs of Thai food ingredients. *Acta Horticulturae*, 1 (675), 111-114. https://wwwlib.teiep.gr/images/stories/acta/Acta%20675/675_15.pdf

Chanthaphon, S., Chanthachum, S., y Hongpattarakere, T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. *Sonklanakarin Journal of Science and Technology*, 30 (1), 125-131. <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/index.php>

Cuquerella, J., Martínez-Jávega, J. M., y Jiménez-Cuéstia, M. (1983). Frigoconservación de cítricos. En *Hoja técnica*. INIA-45.

Del-Valle, V., Hernández-Muñoz, P., Guarda, A., y Galotto, M. J. (2005). Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia Picus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *Food Chemistry*, 91 (4), 751-756. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.002>

El-Ghaouth, A. E., Arul, J., Grenier, J., y Asselin, A. (1992). Antifungal activity of chitosan on two Postharvest pathogens of strawberry fruits. *Postharvest Pathology and Mycotoxins*, 82 (4), 398-402. https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1992Articles/Phyto82n04_398.pdf

Fias, W., Lammertyn, J., Reynvoet, B., Dupont, P., y Orban, G. A. (2003). Parietal representation of symbolic and nonsymbolic magnitude. *Journal of cognitive neuroscience*, 15 (1), 47 - 56. <https://doi.org/10.1162/089892903321107819>

Figueroa, J. A., Salcedo, J. G., y Narváez, G. J. (2013). Efecto de recubrimientos comestibles a base de almidón nativo y oxidado de yuca sobre la calidad de mango (Tommy Atkins). *Temas Agrarios*, 18 (2), 94-105. <https://doi.org/10.21897/rta.v18i2.719>

Gálvez, H. F. (2004). El cultivo de pepino en invernadero. En *Manual de Producción Hortícola en Invernadero*. 2ª ed., Castellanos, R. J (Ed.). INTAGRI. Celaya, Guanajato, Mexico. p. 282-293.

González-Aguilar, G. A., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J. L., Goycoolea, F., Martínez-Téllez, M., Villegas-Ochoa, M. A., Monroy-García, I. N., y Ayala-Zavala, J. F. (2008). Effect of chitosan coating in preserving deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya Maradol. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (1), 15 - 23. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3405>

González-Aguilar, G. A., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J., Goycoolea, F., Martínez-Téllez, M. A., Villegas-Ochoa, M. A., & Ayala-Zavala, J. F. (2009). Effect of chitosan coating in preventing deterioration

and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (1), 15-23. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3405>

Guerrero-Morales, F. y Troya-Andrade, M. (2004). Estudio del potencial agroindustrial y de exportación para la producción de pepino en la Península de Santa Elena y los recursos necesarios para su implantación. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Guayaquil, Ecuador.]. Repositorio Institucional. <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/3501>

Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., y Traber, M. G. (2004). Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria x ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33 (1), 67 - 78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.01.008>

Helander, I. M., Nurmiaho-Lassila, E. L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., y Roller, S. (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71 (2-3), 235-244. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00609-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00609-2)

Hernández-Lauzardo, A. N., Bautista-Baños, S., Velázquez del Valle, M. G., Rodríguez-Ambríz, S. L., Corona-Rangel, M. L., Solano-Navarro, A., y Bosquez-Molina, E. (2005). Potencial del quitosano en el control de las enfermedades postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23 (2), 198-205. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223214.pdf>

Izumi, H., Watada, A. E., Ko, N. P., y Douglas, W. (1996). Controlled atmosphere storage of carrot slices, sticks and shreds. *Postharvest Biology and Technology*, 9, 165-172. https://ucanr.edu/sites/Postharvest_Technology_Center/files/228536.pdf

Martínez-Hernández, G., Artés-Hernández, F., Gómez, P., y Artés, F. (2013). Comparative behavior between kailan-hybrid and conventional fresh-cut broccoli throughout shelf-life. *LWT-Food Science and Technology*, 58, 298-305. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.010>

Montes-Belmont, R., Cruz-Cruz, V., Martínez-Martínez, G., Sandoval-García, G., García-Licona, R., Zilch-Domínguez, S., y Carvajal-Moreno, M. (2000). Propiedades antifúngicas en plantas superiores. Análisis retrospectivo de investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 18 (22), 125-131. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61218210.pdf>

Mulkay, T., Paumier, A., González, I., De la Paz, N., López, O., Nogueira, A., y Fajardo, M. (2012). Actividad antifúngica de productos naturales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis en frutales tropicales. Instituto de investigaciones en fruticultura tropical: 2-5. <https://www.fao.org/agris/es/search-site?search=Colletotrichum%20gloeosporioides>

Muñoz-Macías, N. M. (2015). Respuesta del cultivo de pepino *Cucumis sativus* L. a la nutrición química y orgánica bajo riego goteo. (Bachelor's thesis, Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil). Repositorio Institucional. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/7393>

Núñez, C. K., Castellano, G., Ramírez, M. R., Sindoni, M., y Marín, R. C. (2012). Efecto del cloruro de calcio y

una cubierta plástica sobre la conservación de las propiedades organolépticas de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13 (1), 21–30. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81324433004>

Pinto, L. K., Leal-Martins, M. L., Resende, E. D. de, Almeida, R. F. de, Vitorazi, L., y Pereira, S. M. (2006). Influência da atmosfera modificada por filmes plásticos sobre a qualidade do mamão armazenado sob refrigeração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26 (4). <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000400005>

Quintana-Obregón, E. A., Plascencia-Jatomea, M., González-Aguilar, G. A., y Cortez-Rocha, M. O. (2010). Inhibición del crecimiento de *Penicillium chrysogenum* por presencia de aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Allium cepa* y *Cymbopogon citratus*. *Revista Mexicana de Micología*, 32, 59–62. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0187-31802010000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Quintero, C. J., Pascual, F. V., y Muños, H. A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: Importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 5, 93–118. <https://revistas.ut.edu.co/index.php/tumbaga/article/view/59>

Ramírez, J. D., Aristizabal, I. D., y Restrepo, J. I. (2013). Conservación de mora de Castilla mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucilago de penca de sábila. *Vitae*, 20 (3), 172–183. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-40042013000300003&script=sci_abstract&tlng=es

Rathore, H. A., Masud, T., Sammi, S., y Soomro, A. H. (2007). Effect of storage on physico-chemical composition and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) variety Dosehari. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6 (2), 143–148. <https://scialert.net/abstract/?doi=pjn.2007.143.148>

Restrepo, J., y 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. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v17n3/v17n3a03.pdf>

Rojas-Grau, M. A., Tapia, M. S., Rodríguez, F. J., Carmona, A. J., y Martín-Belloso, O. (2007). Alginate and gellan based edible coatings as support of antibrowning agents applied on fresh-cut Fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21 (1), 118–127. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.03.001>

Rojas-Grau, M. A., Tapia, M. S., y Martín-Belloso, O. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT-Food Science and Technology*, 41 (1), 139–147. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.01.009>

Romanazzi, G., Gabler, F. M., y Smilanick, J. L. (2006). Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. *Plant Disease*, 90 (4), 445–450. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0445>

Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Divenere, D., & Salerno, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, 67 (5), 1862–1867. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08737.x>

Ruiz-Cruz, S., Guevara-Gálvez, C. L., Estrada-Alvarado, I., Cira-Chavez, L. A., Gassós-Ortega, L. E., & Llanaez-Samaniego, A. L. (2010). Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y almidón para mantener la calidad sensorial y microbiológica de melón fresco cortado. *Revista Internacional de Ciencia y Tecnología Biomédica*, 1 (1), 1–11. <http://www.uacj.mx/ICB/RedCIB>

Sakurai, N., y Nevins, D. (1997). Relationship between fruit softening and Wall polysaccharides in avocado (*Persea americana* Mill) mesocarp tissues. *Plant and cell physiology*, 38 (5), 603–610. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029210>

Santacruz, S., Rivadeneira, C., y Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.019>

Santamaría-Basulto, F., Díaz-Plaza, R., Sauri-Duch, E., Espadas-y Gil, F., Santamaría-Fernández, J. M., y Larqué-Saavedra, A. (2009). Características de calidad de frutos de papaya Maradol en la madurez de consumo. *Agricultura técnica en México*, 35 (3), 347–353. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agritm/v35n3/v35n3a12.pdf>

Scanavaca, L., Fonseca, N., y Canto-Pereira, M. E. (2007). Uso de fécula de mandioca napós-colheita de manga 'Surpresa'. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29 (1), 067–071. <https://www.scielo.br/j/rbf/a/83VDMwTjG6qqnQPGPHFhYnN/?format=pdf&lang=pt>

Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., y Jeon, Y. J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in food science & technology*, 10 (2), 37–51. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00017-5](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00017-5)

Sharma, N., y Tripathi, A. (2008). Effects of Citrus sinensis (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, 163 (3), 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2006.06.009>

Shukla, A. C., Shahi, S. K., y Dikshit, A. (2000). Epicarp of Citrus sinensis: a potential source of natural pesticide. *Indian Phytopathology*, 53 (4), 468–471. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IN2022028413>

Siller, C., J. H. (2000). Análisis de la horticultura en México. *Productores de Hortalizas*, 10, 8–12. <https://www.hortalizas.com/2013-revista-digital/>

Solon, K. N., Menezes, J. B., De Medeiros, M. K. M., Aroucha, E. M. M., y Mendes, M. D. O. (2005). Conservação pós-colheita do mamão formosa produzido no Vale do Assu sob atmosfera modificada. *Revista Caatinga*, 18 (2), 105–111. <http://www.redalyc.org/pdf/2371/237121137007.pdf>

Sothornvit, R., y Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, 47 (3), 407–415. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.08.005>

Toivonen, P. M., y Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and*

Technology, 48 (1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.004>

Trejo-Márquez, A., Ramos-López, K. A., y Pérez-Guillén, 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. En *V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones*, (p. 978 - 984). Congreso dirigido por el Grupo Postrecolección y Refrigeración de la Universidad Politécnica de Cartagena, España.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., y Pérez-Alvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control*, 19 (12), 1 130-1 138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.12.003>

Watada, A. E., Abe, K. y Yamuchi, N. (1990). Physiological activities of partially processed fruits and vegetables. *Food Technology*, 44 (5), 116-122. <https://www.semanticscholar.org/paper/Physiological-activities-of-partially-processed-and-Watada-Abe/5502de14938c6df5d1be7ea1a750839827f8b360>

Zapata, P., Valero, D., Guillén, F., Martínez, D. S., y Serrano, M. (2007, May). Mantenimiento de la calidad de tomates mediante recubrimiento de zeína. En *Memorias V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones* (Vol. 1384, p. 1393). Congreso dirigido por la Universidad Politécnica de Cartagena, España.

Propriedades mecânicas de filmes à base de polissacarídeos para embalagens de alimentos: uma revisão

Mechanical properties of polysaccharide-based films for food packaging: a review

Augusto Bacca^{ab}  cabaccag@unal.edu.co

Diana Edith Molina-Soler^b  diana.molina@unad.edu.co

Beatriz Guevara-Guerrero^{bc}  beatriz.guevara@unad.edu.co

^aUniversidad Nacional de Colombia.

^bUniversidad Nacional Abierta y a Distancia.

^cUniversidade de São Paulo.

Recibido: 05/04/2023 Aceito: 13/06/2023

Citar, APA: Bacca, A., Molina-Soler, D. E. y Guevara-Guerrero, B. (2023). Propriedades mecânicas de filmes à base de polissacarídeos para embalagens de alimentos: uma revisão. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 68–84. <https://doi.org/10.23850/24220582.5589>

Sumário Em busca de encontrar alternativas que permitam diminuir o uso indevido de polímeros derivados de hidrocarbonetos e seus efeitos colaterais com o meio ambiente. O objetivo da seguinte revisão bibliográfica sistemática foi comparar o comportamento mecânico à tração de filmes feitos com quitosana, amido de batata e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), utilizados para a embalagem de produtos alimentícios, comparação de valores médios da tensão de tração, módulo de elasticidade e deformação à ruptura. A busca foi realizada no SCOPUS, Science Direct, Scielo a nível nacional (Colômbia) e repositórios da Universidad Nacional Abierta y Distancia (UNAD) e Universidad Nacional de Colombia (UNAL) durante 2013 - 2022, implementando diferentes equações de busca. A partir do estudo bibliográfico, foi analisado que a HPMC apresenta as melhores propriedades mecânicas de tração (tensão de tração: 32,44 MPa; deformação à ruptura: 17,37 %; módulo de elasticidade: 305 MPa), seguida de perto pela quitosana (tensão de tração: 32,01 MPa; deformação à ruptura: 15,5 %; módulo de elasticidade: 303,5 MPa) e, finalmente, amido de batata (tensão de tração: 10,56 MPa; deformação à ruptura: 11,89 %; módulo de elasticidade: 395 MPa). Espera-se que esta revisão de literatura promova o desenvolvimento e aplicação de filmes à base de polissacarídeos para embalagens de alimentos pela indústria como uma estratégia para resolver problemas ambientais e para suas propriedades mecânicas ótimas.

Palavras-chave: Quitosana, amido de batata, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), tensão de tração, deformação à ruptura, módulo de elasticidade.

Abstract Seeking to find alternatives to reduce the misuse of polymers derived from hydrocarbons and their side effects on the environment. The aim of the following systematic literature review was to compare the tensile mechanical behavior of films made with chitosan, potato starch and hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), used for packaging food products, comparing their average values of tensile stress, modulus of elasticity and deformation in breaking. The search was carried out in SCOPUS, Science Direct, Scielo, during 2013 - 2022, implementing different search equations. From the bibliographical study, it was analyzed that HPMC presents the best tensile mechanical properties (tensile strength: 32,44 MPa; strain at break: 17,37 %; modulus of elasticity: 305 MPa), closely followed by chitosan (tensile strength: 32,01 MPa; strain at break: 15,5 %; modulus of elasticity: 303,5 MPa) and, finally, potato starch (tensile strength: 10,56 MPa; strain at break: 11,89 %; modulus of elasticity: 395 MPa). It is hoped that this literature review will promote the development and application of polysaccharide-based films for food packaging by the industry as a strategy to solve environmental problems and for their optimal mechanical properties.

Keywords: Chitosan, potato starch, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), tensile stress, strain at break, modulus of elasticity.

Introdução

Os alimentos são embalados e acondicionados para poderem ser conservados e agrupados durante o transporte e armazenamento, principalmente com polímeros, papelão, papel, metais, vidro e madeira. O mais exigível é o plástico flexível de origem fóssil, que representa 60 %, e o plástico rígido 18 %, por ser facilmente moldável, durável, leve e economicamente viável (ANDIGRAD, 2021). Greenpeace (2018), indica que 8,3 bilhões de toneladas de plástico foram produzidas desde 1950, das quais 9 % foram recicladas, 12 % foram queimadas e 79 % acabaram em aterros sanitários ou ecossistemas naturais, emitindo gases de efeito estufa e contribuindo desfavoravelmente para o aquecimento global.

Uma solução para esse problema é a utilização de biopolímeros obtidos de origem vegetal, animal e de microorganismos, como celulose, amidos e quitosana, que se destacam pelo fácil processamento, não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, além de sua dureza, flexibilidade, transparência e capacidade de incorporar agentes microbianos ou suplementos nutricionais, mas que apresentam menor barreira, propriedades mecânicas e térmicas em comparação com polímeros sintéticos (Villada *et al.*, 2007; Mondal *et al.*, 2013).

As propriedades mecânicas (tensão de tração, deformação à ruptura e módulo de elasticidade) de biopolímeros permitirá a identificação de seu comportamento e resistência sob diferentes condições de estresse, o que ajudará no controle do processo e qualidade de produção, para diversas aplicações e configurações dos testes mecânicos. A fim de mudar as tendências no uso de plásticos convencionais, esta pesquisa se concentra em comparar as informações obtidas em artigos científicos publicados entre 2013 e 2018, sobre a resistência mecânica à tração ou tensão de filmes de polissacarídeos de amido de batata, quitosana e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), devido ao seu alto interesse de pesquisa na embalagem, transporte e conservação de alimentos, e assim identificar o potencial de uso dessas embalagens em substituição às embalagens produzidas com polímeros convencionais.

Metodologia

No presente estudo, foi realizada uma revisão bibliográfica sistemática (Phillips *et al.*, 2018) nas plataformas, ScienceDirect, SCOPUS, Scielo em nível nacional (Colômbia) e repositórios da Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD) e Universidad Nacional de Colombia (UNAL), implementando diferentes equações de busca, e publicadas no intervalo de tempo 2013 - 2022. As equações de busca aplicadas foram:

1) Mechanical AND (Films OR Film) AND Chitosan AND (Packing OR Packaging); 2) chitosan AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012; 3) "chitosan AND film"; 4) "chitosano AND película"; 5) "(film OR films) AND chitosan"; 6) "TITLE-ABS-KEY (mechanical AND (films OR film) AND (hpmc OR hidroxipropilmetilcelulose OR cellulose) AND (packing OR packaging)); 7) "mechanical AND (films OR film) AND (hpmc OR hidroxipropilmetilcelulose OR cellulose) AND (LIMIT-TO (AFFILCOUNTRY, "Colombia"))"; 8) "(("hpmc" OR "hidroxipropilmetilcelulose" OR "cellulose") AND ("film" OR "films")) AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012 AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012"; 9) "TITLE-ABS-KEY (mechanical AND (films OR film) AND (hpmc OR hidroxipropilmetilcelulose OR cellulose) AND (packing OR packaging)); 10) "mechanical AND (films OR film) AND (hpmc OR hidroxipropilmetilcelulose OR cellulose) AND (LIMIT-TO (AFFILCOUNTRY, "Colombia"))"; 11) "(("hpmc" OR "hidroxipropilmetilcelulose" OR "cellulose") AND ("film" OR "films")) AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012 AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012"; 12) "(("hpmc" OR "hidroxipropilmetilcelulose" OR "cellulose") AND (film OR films) AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012 AND in: ("col") AND PUBYEAR > 2012". A literatura científica que atendeu aos critérios supracitados foi selecionada e as informações coletadas foram organizadas.

Em seguida, cada um dos documentos foi examinado em busca de corroborar preliminarmente a relevância sobre o tema de interesse e a rastreabilidade na metodologia implementada para a caracterização das amostras. Com base nessas condições, obtém-se o seguinte

número de documento, do portal ScienceDirect e da compilação da pesquisa produzida a nível nacional.

Uma vez selecionados os documentos, compilou-se a informação básica para a comparação dos testes de esforço mecânico entre os diferentes polissacarídeos e as referências elementares da publicação para pesquisas futuras, com base nas seguintes categorias: Informações Básicas: Nome do artigo, autores, ano de publicação, periódico, número do volume. - Informações sobre Ensaio de Tração Mecânica: Tipo de caracterização (tensão de tração, Deformação à Ruptura e/ou Módulo de Elasticidade), norma implementada, equipamento utilizado para o ensaio, velocidade dos ensaios, condições ambientais e resultados obtidos. Nesse conjunto de publicações, implementou-se a análise gráfica qualitativa, a estatística descritiva, a análise multicritério e a análise de custo-benefício.

Resultados e discussão

Levando em conta os critérios de busca previamente declarados, um grande conjunto de documentos foi obtido (**Figura 1**), mas apenas 76 artigos para quitosana, 17 para HPMC e 18 artigos para amido de batata foram analisados, após a realização dos filtros relevantes. No caso da quitosana, aproximadamente 75 % dos artigos originalmente propostos foram descartados, 81 % foram retirados para HPMC e restaram apenas 32,7 % de amido de batata. Para obter o último filtro da revisão bibliográfica preliminar, não foram analisados os artigos com figuras de dados incompletos ou apresentação exclusiva do valor da força de tração (estes dados apresentam alta variabilidade devido ao efeito da área da seção transversal do filme ou amostra testada, cujas dimensões também não foram expostas no artigo). Ver o apêndice.

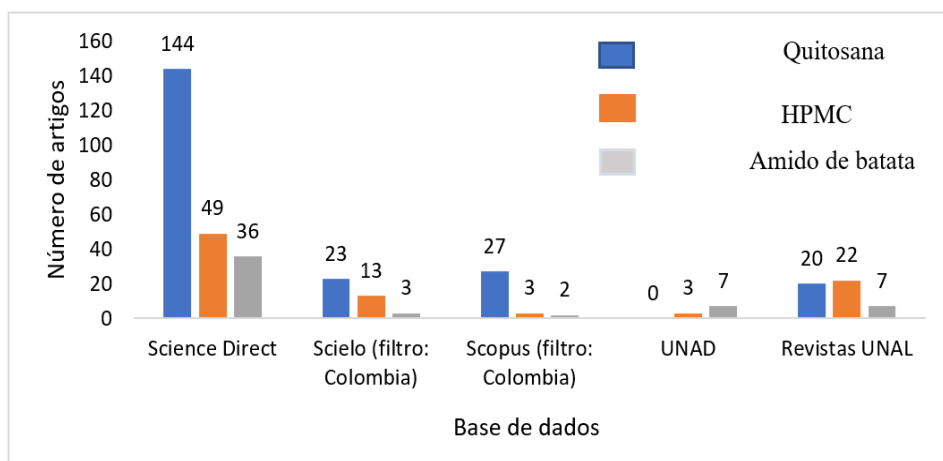


Figura 1

Número de artigos obtidos com o uso das equações

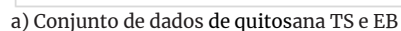
Nota. Elaboração própria.

A **Figura 2a** a seguir mostra a distribuição dos resultados dos valores médios da tensão de tração e deformação na ruptura, dos artigos examinados em ensaios de tração do polissacarídeo de quitosana. Qualitativamente, o gráfico apresenta alta densidade de resultados, principalmente abaixo de 60 % de deformação à ruptura (EB) e tensão de tração (TS) concentrada em valores inferiores a 100 MPa. Da mesma forma, destaca-se um grande número de valores, tanto de tensão à tração quanto deformação à ruptura, que se concentra principalmente abaixo de 50 % (com algumas exceções).

As informações sobre os valores de tensão de tração - TS e deformação à ruptura - EB, dos ensaios de tração em filmes com matriz HPMC são apresentadas na **Figura 2b**, sendo possível observar uma alta dispersão dos resultados atingindo valores aproximados de TS = 70 MPa e EB = 60 % de deformação.

Na **Figura 2c**, destaca-se o efeito oposto das propriedades mecânicas de EB e TS da fécula de batata, comprovando que quanto maior o valor

A **Figura 2d** mostra o conjunto de resultados dos valores médios de todos os testes em filmes de quitosana, HPMC e amido de batata, na faixa de tensão na ruptura entre 0 - 120 (%) e tensão de tração entre 0 - 80 (MPa), onde um conjunto maior de valores da relação tensão de tração (TS) e tensão na ruptura (EB) se destaca qualitativamente para o material quitosana, em comparação com os demais polissacarídeos examinados.



Conjunto de dados TS e EB de a) quitosana, b) HPMC, c) amido de batata d) comparação de resultados entre os 3 polissacarídeos

O gráfico a seguir (**Figura 3**) mostra a distribuição dos resultados dos artigos que apresentaram informações sobre a caracterização dos valores médios do módulo de elasticidade (MPa) dos filmes produzidos em cada artigo, destacando a quitosana acima dos demais materiais.

A **Figura 4** compara os resultados apresentados nos artigos "C76-col" (quitosana), "H6" (HPMC) e "P10" (amido de batata), onde é

identificada uma alteração na resposta entre os sujeitos para cada polissacarídeo. Deformação à ruptura e tensão de tração, dependendo da modificação das variáveis do processo para obtenção do filme. Na pesquisa com o código "C76-col", avalia-se o efeito de três misturas com diferentes porcentagens de quitosana (0,5 %, 1,0 % e 1,5 %) e o resultado dos testes de estresse mecânico ao variar a temperatura de secagem de cada filme (2 °C, 25 °C e 40 °C). O efeito ocorrido no artigo "H6" nas propriedades

mecânicas pela variação da matéria-prima HPMC (HPMC Methocel® E15, HPMC Methocel® K4M e HPMC Methocel® E4M) também é mostrado. Finalmente, comparam-se os resultados dos testes de tração, obtidos em amido de batata "P10", modificando o condicionamento dos filmes

em diferentes níveis de umidade relativa (33 - 53 %) e o período para a realização do teste (1 e 5 semanas, após a obtenção do filme). Destacando o efeito que a modificação de uma ou mais variáveis do processo pode ter, seja nas características das matérias-primas, condições ou processamento na produção do filme.

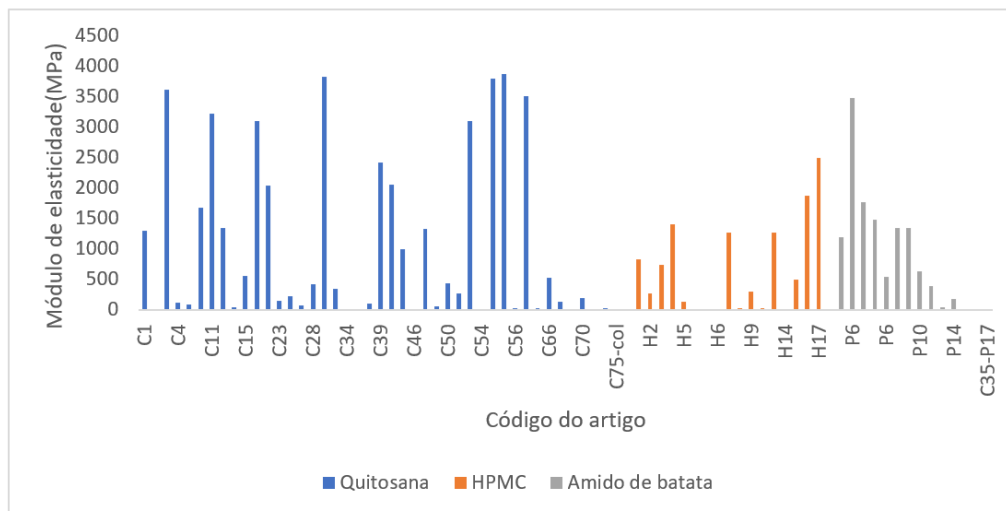


Figura 3

Resumo do módulo de elasticidade obtido para quitosana, HPMC e amido de batata

Nota. Elaboração própria.

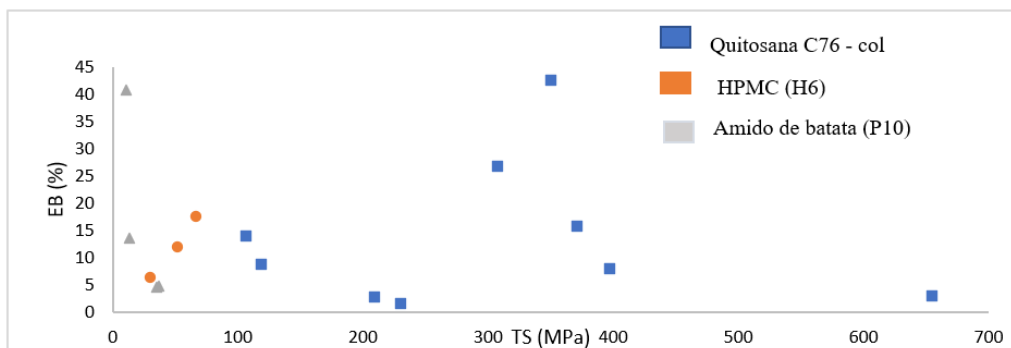


Figura 4

Comparação dos resultados de deformação à ruptura entre quitosana, HPMC e amido de batata e suas respectivas publicações

Nota. Elaboração própria.

A seguir, na **Tabela 1**, são apresentados os resultados estatísticos dos valores médios obtidos para cada polissacarídeo (quitosana, HPMC e fécula de batata). Na quitosana (**Figura 5a**), destaca-se um maior conjunto de dados para a tensão de tração-TS de 72,91 MPa (81 dados), na deformação à ruptura (EB) em 18,12 % (54 dados) e para o módulo de elasticidade (ME) em 430,02 MPa (25 dados), também se destaca um grande

conjunto de amostras com módulo de elasticidade superior a 3440 MPa (aproximadamente 17 %). Para o HPMC (**Figura 5b**) observa-se uma amplitude e desvio padrão de resultados inferiores aos apresentados para o conjunto de resultados da quitosana, da mesma forma verifica-se que o quartil 2 está mais próximo da média ou valor médio, maior número de classes principais em as propriedades de TS (classes: "18,3", "35,6"

e valores superiores) e EB (classes: "16,74" e "29,84") e para o amido de batata (**Figura 5c**) as classes principais para cada uma das propriedades

são TS (classe: "18,11", com 15 amostras), EB (classe: "17,68", com 13 amostras) e ME (classe: "695,06" com 10 amostras).

Tabela 1

Resultados estatísticos de quitosana, HPMC e amido de batata

Variável	Quitosana			HPMC			Amido de batata		
	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)
Valor Máximo	656,0	162,8	3870,0	70,2	56,0	2492,0	88	86,7	3475
Meia	32,01	15,50	303,50	32,44	17,37	305,00	10,56	11,89	395,00
Desvio padrão	97,35	29,66	1304,69	21,87	14,80	760,77	21,36	25,54	942,74

Nota. Elaboração própria.

Ao comparar os valores das medias, dos três polissacarídeos, fica evidente uma semelhança entre quitosana e HPMC para os valores do módulo de elasticidade (ME) e tensão de tração (TS), destacando-se também o amido. Isso ocorre principalmente, porque tem menos resistência e deformação em comparação com os outros dois polissacarídeos, mas tem um módulo de elasticidade maior. Da mesma forma, observa-se que o HPMC apresenta o melhor resultado nas propriedades de deformação à ruptura (EB) e tensão de tração (TS). Com relação à deformação do material na ruptura, os três materiais apresentam um desvio padrão de aproximadamente 2,788 % entre eles.

A tabela e as figuras de frequência, obtidos na análise estatística dos resultados, demonstram um conjunto elevado de resultados que se distanciam da média e mediana das propriedades mecânicas examinadas. No caso da quitosana, há um conjunto alto de amostras (81 de 95) com valor de tensão de tração próximo a 72,91 Mpa, enquanto seu valor médio se estabelece em 32,01 Mpa. No caso do HPMC, algo semelhante também ocorre para a tensão de tração. Em contrapartida, a amido de batata apresenta concentração de frequências mais próximas da média.

Com base nas informações obtidas na análise estatística, é possível sugerir que o HPMC apresenta os melhores resultados de tensão ou "TS" de 32,44 MPa (valor médio) e deformação de ruptura ou "EB" de 17,37 % (valor médio), seguido pela quitosana: TS = 32,01 MPa (valor médio) e EB = 15,5 % (valor médio). Em relação ao módulo de elasticidade (ME), obteve-se como melhor opção o resultado médio de 395 MPa para a fécula de batata.

A fim de comparar os resultados com os valores definidos para polímeros convencionais de hidrocarbonetos, que são mostrados na **Tabela 2**, observa-se que os valores do módulo de elasticidade e deformação na ruptura superam os resultados obtidos na mediana de os polissacarídeos examinados, exceto no caso do polietileno de baixa densidade PEBD, utilizado em embalagens plásticas. Os resultados de tensão à tração são muito próximos entre os polímeros examinados e os resultados medianos obtidos no estudo bibliográfico apresentado na **Tabela 1**.

Para determinar entre os polissacarídeos obtidos aquele que apresenta as melhores características para o teste de estresse, foi realizada uma análise multicritério, utilizando o método conhecido como processo de hierarquia analítica ou AHP (por sua sigla em inglês), que permite avaliar cada polissacarídeo em função de suas propriedades individuais e depois comparar cada um desses critérios, que são definidos de acordo com a escala de importância relativa implementando a metodologia proposta por Ishizaka & Nemery (2013), para comparar duas ou mais variáveis, de acordo com uma escala, o critério "1" refere-se a uma equivalência "igualmente preferida", "2" a um conceito "pouco preferido" e o valor de "3" a "moderadamente preferido".

Como valoración de las variables del estudio bibliográfico: tensión na tensão (TS), deformação à ruptura (EB) e módulo de elasticidade (ME), se considerando como prioridade "fraca" a deformação à ruptura sobre o módulo de elasticidade, "moderada" entre a deformação à ruptura e a tensão à tração, e "fraca" entre o módulo de elasticidade e a tensão à tração, conforme demonstrado a seguir matriz de pares

(Tabela 3), estabelecida a partir da comparação das propriedades mecânicas dos polissacarídeos estudados e dos polímeros convencionais, sendo identificado preliminarmente que o critério mais

influyente é a deformação à ruptura, seguida do módulo de elasticidade, segundo a comparação dos valores apresentados pelos polissacarídeos com relação aos polímeros convencionais.

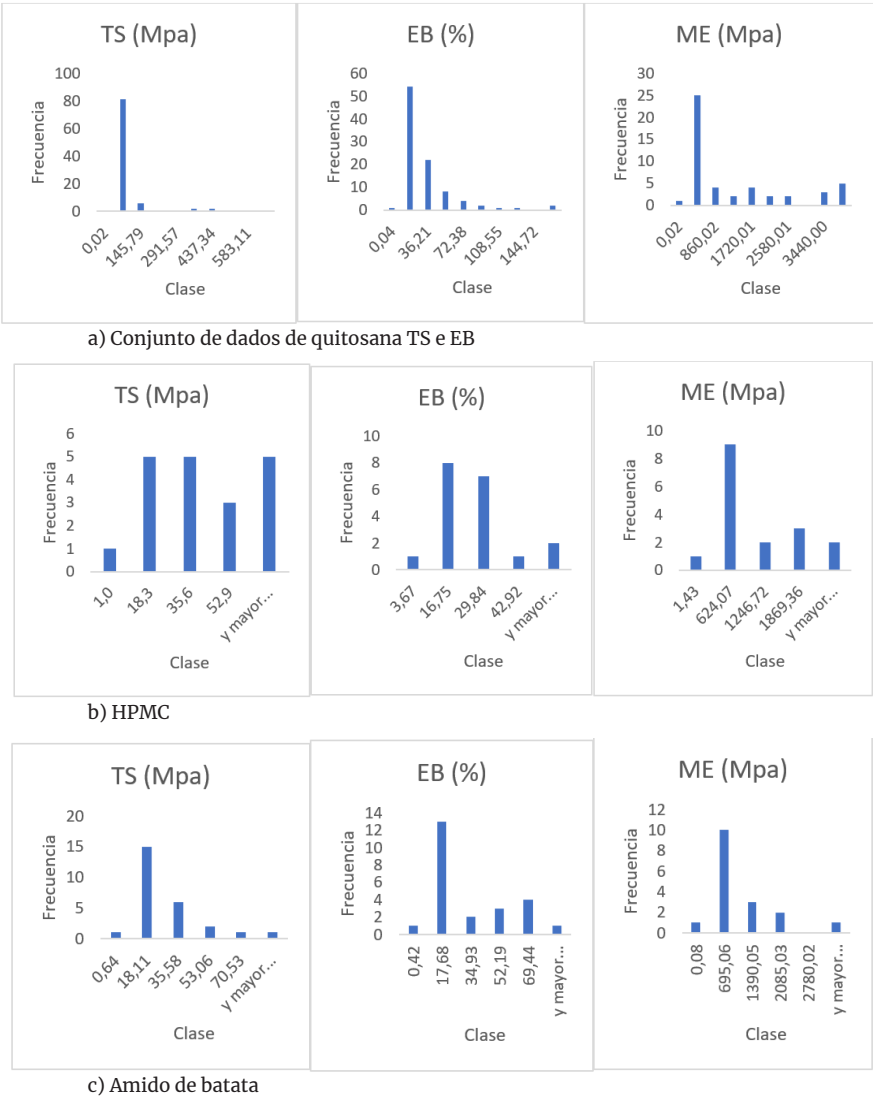


Figura 5

Distribuição da frequência para cada uma das propriedades mecânicas examinadas sob tensão TS (Mpa), EB (%) e ME (Mpa) de a) quitosana, b) HPMC e c) amido de batata

Nota. Elaboração própria.

Tabela 2

Propriedades mecânicas de tração de filmes de alguns polímeros sintéticos usados convencionalmente em embalagens de alimentos

Tipo de polímero	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)
Polietileno de baixa densidade (LDPE)	13	126	156
Polietileno de alta densidade (HDPE)	19	576	640
Polipropileno	27	435	590

Nota. Adaptado de “Biosynthesis and Characterization of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-4-hydroxybutyrate) Terpolymer with Various Monomer Compositions by Cupriavidus sp. USMAA2-4”. Ramachandran et al, 2011, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. Copyright 2011 por Springer Nature

Tabela 3

Matriz de pares para estudo multicritério e obtenção do autovetor de critérios

Pares	Matriz de pares			Obtenção do autovetor de critérios				
	TS	EB	ME	Matriz de prioridade		Normalização		Autovetor
TS	1	1/3	1/2	3	0,92	1,66	5,57	0,16
EB	3	1	2	10	3,00	5,50	18,50	0,54
ME	2	1/2	1	5,5	1,66	3,01	10,16	0,29
			Soma				34,24	1

Nota. Elaboração própria.

Ao comparar os resultados quantitativos da mediana para cada um dos valores ou critérios das propriedades mecânicas do ensaio de tração dos polissacarídeos examinados, somando inicialmente os dados numéricos de cada critério e depois normalizando, obtém-se os seguintes resultados (Tabela 4), verifica-se que a quitosana

tem a melhor possibilidade de competir com as propriedades de tração do polietileno de baixa densidade, sendo um dos polímeros de origem petroquímica mais amplamente implementados na produção de embalagens como sacolas plásticas (Pongrácz, 2007).

Tabela 4

Soma dos resultados para cada critério, obtendo a matriz de alternativas e dados de decisão para a seleção de polissacarídeos

Polissacarídeo	Soma dos resultados			Matriz de alternativas (normalização)			Decisão
	TS (Mpa)	EB (%)	ME (Mpa)	TS	EB	ME	Resultado
Quitosana	32,01	15,50	303,50	0,42	0,34	0,30	0,34
HPMC	32,44	17,37	305,03	0,43	0,38	0,30	0,37
Amido de batata	10,56	11,89	395,08	0,14	0,26	0,39	0,28
Soma	75,00	44,75	1003,50				

Nota. Elaboração própria.

Dos dados extraídos para o estudo bibliográfico, destaca-se um elevado número de publicações que não apresentam todos os resultados esperados das três propriedades mecânicas em tração, de interesse para esta monografia: Esforço em tração (2 dos artigos não apresentam esta propriedade), deformação à ruptura (4 artigos não fornecem esta informação) e módulo de elasticidade (aproximadamente 42 % dos artigos de pesquisa examinados não fornecem informação sobre esta propriedade).

Para obter um maior conjunto de resultados de propriedades mecânicas em tensão, os valores que foram documentados graficamente em alguns artigos deveriam ter sido usados de forma aproximada. O 18,3 % das publicações apresentam os resultados de forma gráfica, suprimindo os resultados numéricos nas propriedades do teste de estresse de interesse.

Outra fragilidade encontrada entre os pesquisadores que fazem esse tipo de caracterização é comparar os dados obtidos em termos percentuais. Mas a maioria dos artigos publicou tabelas com os dados numéricos, e até anexou os gráficos, sendo de grande interesse para identificar o comportamento mecânico do filme ao longo do ensaio de estresse.

Conclusões

Existem múltiplas variáveis na produção de filmes que afetam o comportamento mecânico dos materiais, como as características das matérias-primas, formulação das misturas, condições no processo de preparação dos filmes (velocidade de agitação, rampas de temperatura, método de moldagem, condicionamento ambiental, entre outros parâmetros), mas também é necessário incluir controles rigorosos

na medição dimensional das amostras obtidas, especificar todos os detalhes do equipamento utilizado para as medições (marca, modelo, software, capacidade do célula de carga, uso de dispositivo extensômetro, etc.), condições de teste (principalmente velocidade de teste e condições ambientais) e método de teste (padrão ou protocolo aplicado e equações para determinar os principais valores esperados: tensão de tração, porcentagem de deformação e módulo de elasticidade).

Os resultados das propriedades mecânicas sob tensão permitem avaliar a resistência de filmes de polissacarídeos submetidos a esta situação, mas é necessário estimar conjuntamente todas as outras propriedades físicas, químicas e biológicas, para definir um biopolímero que atenda a todas as expectativas esperadas na embalagem do alimento: produto econômico, películas de fácil obtenção, resistente às condições dos diversos alimentos a serem transportados (mudanças de temperatura, permeabilidade ao vapor, proteção do meio externo, etc.), capacidade de isolar o alimento do meio ambiente, controle na proliferação de microorganismos, restringem os efeitos da contaminação cruzada, biodegradabilidade, entre outros.

A grande dispersão de resultados demonstra o efeito de cada uma das variáveis implícitas na produção de um filme, sendo que no caso do estudo bibliográfico, a busca limitou-se à revelação de filmes obtidos em escala laboratorial, portanto, ao dimensionar a produção A nível industrial das embalagens alimentares é necessário, uma vez mais, determinar os efeitos do processo, sendo muito útil a implementação de ensaios mecânicos para estabelecer controles de qualidade das propriedades de módulo de elasticidade, deformação à ruptura e tensão de tração.

Referências

- Adel, A., El-shafei, A., Ibrahim, A., & Al-shemy, M. (2018). Industrial Crops & Products Extraction of oxidized nanocellulose from date palm (*Phoenix Dactylifera* L.) sheath fibers: Influence of CI and CII polymorphs on the properties of chitosan / bionanocomposite films. *Industrial Crops & Products*, 124 (July), 155–165. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.073>
- Ahmed, J., Mulla, M., Ali, Y., Arockia, L., & Thai, T. (2017). Food Hydrocolloids Mechanical, thermal, structural and barrier properties of crab shell chitosan / graphene oxide composite films. *Food Hydrocolloids*, 71, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.013>
- Aila-suárez, S., Palma-rodríguez, H. M., Rodríguez-hernández, A. I., Hernández-Uribe, J. P., Bello-pérez, L. A., & Vargas-torres, A. (2013). Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.022>
- Akyuz, L., Kaya, M., Ilk, S., Selim, Y., Salaberria, A. M., & Labidi, J. (2018). Effect of different animal fat and plant oil additives on physicochemical, mechanical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, 475–484. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.045>
- Akyuz, L., Kaya, M., Mujtaba, M., Ilk, S., Sargin, I., Salaberria, A. M., Islek, C. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Supplementing capsaicin with chitosan-based films enhanced the anti-quorum sensin, antimicrobial, antioxidant, transparency, elasticity and hydrophobicity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.040>
- Aljawish, A., Muniglia, L., Klouj, A., & Jasniowski, J. (2016). Characterization of films based on enzymatically modified chitosan derivatives with phenol compounds. *Food Hydrocolloids*, 60, 551–558. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.032>
- Almeida, M. R., Magalh, J. M. C. S., Química, D. D. E., Engenharia, F. De Porto, U., & Frias, R. R. (2018). the role of choline chloride-based deep eutectic solvent and curcumin on chitosan films properties. *Food Hydrocolloids*, 81, 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.025>
- ANDIGRAD. (2021). Perfil envases y empaques. *Investigaciones económicas*. <https://andigraf.com.co/wp-content/uploads/2021/03/Envases-y-Empaques-2021.pdf>
- Aguirre-loredo, R. Y., Velazquez, G., Gutierrez, M. C., Castro-rosas, J., Rangel-vargas, E., & Gómez-aldapa, C. A. (2018). Effect of air flow presence during the manufacturing of biodegradable films from polymers with different structural conformation. *Food Packaging and Shelf Life*, 17, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.06.007>
- Akhtar, M., Jacquot, M., Jamshidian, M., Imran, M., & Arab-tehrany, E. (2013). Food Hydrocolloids Fabrication and physicochemical characterization of HPMC films with commercial plant extract: Influence of light and film composition. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 420–427. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.008>
- Azadbakht, E., Maghsoudlou, Y., Khomiri, M., & Kashiri, M. (2018). Development and structural characterization of chitosan films containing Eucalyptus globulus essential oil: Potential as an antimicrobial carrier for packaging of sliced sausage. *Food Packaging and Shelf Life*, 17(November 2017), 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.007>

- Balti, R., Ben, M., Sayari, N., Yacoubi, L., Rabaoui, L., Brodu, N., & Masse, A. (2017). International Journal of Biological Macromolecules Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with Spirulina extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 1464–1472. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.046>
- Bansal, M., Chauhan, G. S., Kaushik, A., & Sharma, A. (2016). International Journal of Biological Macromolecules Extraction and functionalization of bagasse cellulose nanofibres to Schiff-base based antimicrobial membranes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 887–894. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.045>
- Basiak, E., Lenart, A., & Debeaufort, F. (2017). International Journal of Biological Macromolecules Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.122>
- Beigzadeh Ghelejlou, S., Esmaili, M., & Almasi, H. (2016). Characterization of chitosan-nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *International journal of biological macromolecules*, 86, 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.012>
- Bonilla, J., Fortunati, E., Atarés, L., Chiralt, A., & Kenny, J. M. (2014). Food Hydrocolloids Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol e chitosan biodegradable films. *Food Hydrocolloids*, 35, 463–470. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.07.002>
- Bonilla, J., & Sobral, P. J. A. (2016). Food Bioscience Investigation of the physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. *Food Bioscience*, 16, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.07.003>
- Bonilla, J., Poloni, T., Lourenço, R. V. & Sobral, P. J. A. (2018). Food Bioscience Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin / chitosan films. *Food Bioscience*, 23 (August 2017), 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.03.007>
- Cano, A., Jiménez, A., Cháfer, M., González, C., & Chiralt, A. (2014). Effect of amylose: amylopectin ratio and rice bran addition on starch films properties. *Carbohydrate polymers*, 111, 543–555. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.075>
- Chang, W., Liu, F., Sharif, H. R., Huang, Z., Goff, H. D., & Zhong, F. (2018). Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. *Food Hydrocolloids* 90, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.026>
- Chi, K., & Catchmark, J. M. (2018). Food Hydrocolloids Improved eco-friendly barrier materials based on crystalline nanocellulose / chitosan / carboxymethyl cellulose polyelectrolyte complexes. *Food Hydrocolloids*, 80, 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.003>
- Cieśla, K., Sartowska B. (2016). Modification of the microstructure of the films formed by gamma irradiated starch examined by SEM. *Radiation Physics and Chemistry* 118, 87–95
- Coelho, C. C. S., Cerqueira, M. A., Pereira, R. N., Pastrana, L. M., Freitas-silva, O., Vicente, A. A. Teixeira, J. A. (2017). Effect of moderate electric fields in the properties of starch and chitosan films reinforced with microcrystalline cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 174, 1181–1191. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.07.007>
- Costa, M. J., Cerqueira, M. A., Ruiz, H. A., Fougnes, C., Richel, A., Vicente, A. A., ... Aguedo, M. (2015). Use of wheat bran arabinoxylans in chitosan-based films: Effect on physicochemical properties. *Industrial Crops & Products*, 66, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.003>
- Ding, C., Zhang, M., & Li, G. (2015). Preparation and characterization of collagen / hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) blend film. *Carbohydrate Polymers*, 119, 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.11.057>
- Escobar-Sierra, D. M., & Perea-Mesa, Y. P. (2017). Manufacturing and evaluation of Chitosan, PVA and Aloe Vera hydrogels for skin applications. *DYNA*, 84 (203), 134–142.
- Ferreira, A. R. V., Torres, C. A. V., Freitas, F., Sevrin, C., Grandfils, C., Reis, M. A. M. Coelho, I. M. (2016). Development and characterization of bilayer films of Fucopol and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 147, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.089>
- Ghosh, T. K., Gope, S., Mondal, D., Bhowmik, B., Mollick, M. M. R., Maity, D., ... Chattopadhyay, D. (2014). Assessment of morphology and property of graphene oxide-hydroxypropylmethylcellulose nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.054>
- Giannakas, A., Vlachas, M., Salmas, C., Leontiou, A., Katapodis, P., Stamatis, H., & Barkoula, N. (2016). Preparation, characterization, mechanical, barrier and antimicrobial properties of chitosan / PVOH / clay nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 140, 408–415. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.072>
- Gomes, V., Souza, L., Pires, J. R. A., Freitas, P., Lopes, A. A. S., Fernandes, F. M. B., ... Luisa, A. (2018). Bionanocomposites of chitosan/montmorillonite incorporated with Rosmarinus officinalis essential oil: Development and physical characterization. *Food Packaging and Shelf Life*, 16 (April), 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.009>
- Grande-Tovar, C. D., Serio, A., Delgado-Ospina, J., Paparella, A., Rossi, C., & Chaves-López, C. (2018). Chitosan films incorporated with *Thymus capitatus* essential oil: mechanical properties and antimicrobial activity against degradative bacterial species isolated from tuna (*Thunnus* sp.) and swordfish (*Xiphias gladius*). *Journal of food science and technology*, 55(10), 4256–4265. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3364-y>
- Grande, C. D., Mangadlao, J., Fan, J., De Leon, A., Delgado-Ospina, J., Rojas, J. G., Rodrigues, D. F., & Advincula, R. (2017). Chitosan Cross-Linked Graphene Oxide Nanocomposite Films with Antimicrobial

Activity for Application in Food Industry. *Macromolecular Symposia*, 374 (1), [1600114]. <https://doi.org/10.1002/masy.201600114>

Greenpeace. (2018). Colombia, mejor sin plásticos. La contaminación plástica en Colombia y el mundo. http://greenpeace.co/pdf/reporte_plasticos.pdf

Gursoy, M., Sargin, I., Muftaba, M., Akyuz, B., Ilk, S., Akyuz, & L. Erdem, N. (2018). International Journal of Biological Macromolecules False flax (*Camelina sativa*) Seed oil as suitable ingredient for the enhancement of physicochemical and biological properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 1224–1232. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.029>

Hassan, E. A., Fadel, S. M., & Hassan, M. L. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Influence of TEMPO-oxidized NFC on the mechanical, barrier properties and nisin release of hydroxypropyl methylcellulose bioactive films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 113, 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.140>

Homez-Jara, A., Daza, L. D., Aguirre, D. M., Muñoz, J. A., Solanilla, J. F., & Váquiro, H. A. (2018). Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures. *International journal of biological macromolecules*, 113, 1233–1240. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.057>

Huang, X., Xie, F., & Xiong, X. (2018). Surface-modified microcrystalline cellulose for reinforcement of chitosan film, 2018(March), 367–373. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.085>

Ishizaka, A., & Nemery, P. (2013). Multi-Criteria Decision Analysis. New Delhi: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118644898>

Jafari, H., Pirouzifard, M., Khaledabad, M. A., & Almasi, H. (2016). International Journal of Biological Macromolecules Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan / silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.07.051>

Jiang, S., Liu, C., Wang, X., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). LWT - Food Science and Technology Physicochemical properties of starch nanocomposite films enhanced by self-assembled potato starch nanoparticles. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 251–257. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.053>

Kadam, D., & Lele, S. S. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Cross-linking effect of polyphenolic extracts of *Lepidium sativum* seedcake on physicochemical properties of chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 1240–1247. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.018>

Kadam, D., Shah, N., Palamthodi, S., & Lele, S. S. (2018). An investigation on the effect of polyphenolic extracts of *Nigella sativa* seedcake on physicochemical properties of chitosan-based films. *Carbohydrate Polymers*, 192, 347–355. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.052>

Kaewklin, P., Siripatrawan, U., Suwanagul, A., & Suk, Y. (2018). International Journal of Biological Macromolecules Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 523–529. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.124>

Kenny, M., Peponi, L., Sessini, V., & Arrieta, M. P. (2016). Processing of edible films based on nanoreinforced gelatinized starch, 132. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2016.02.026>

Kalaycıoğlu, Z., Torlak, E., Akın-Evingür, G., Özen, I., & Erim, F. B. (2017). Antimicrobial and physical properties of chitosan films incorporated with turmeric extract. *International journal of biological macromolecules*, 101, 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.174>

Klangmuang, P., & Sothornvit, R. (2016). Barrier properties, mechanical properties and antimicrobial activity of hydroxypropyl methylcellulose-based nanocomposite films incorporated with Thai essential oils. *Food Hydrocolloids*, 61, 609–616. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.018>

Klangmuang, P., & Sothornvit, R. (2016). Combination of beeswax and nanoclay on barriers, sorption isotherm and mechanical properties of hydroxypropyl methylcellulose-based composite films. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 222–227. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.08.003>

Lamarra, J., Giannuzzi, L., Rivero, S., & Pinotti, A. (2017). Assembly of chitosan support matrix with gallic acid-functionalized nanoparticles. *Materials Science & Engineering C*, 79, 848–859. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.104>

Leceta, I., Guerrero, P., Ibarburu, I., Dueñas, M. T., & Caba, K. De. (2013). Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. *Journal of Food Engineering*, 116(4), 889–899. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.022>

Lee, M. H., Kim, S. Y., & Park, H. J. (2018). Effect of halloysite nanoclay on the physical, mechanical, and antioxidant properties of chitosan films incorporated with clove essential oil. *Food Hydrocolloids*, 84, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.048>

Li, J., Ye, F., Liu, J., & Zhao, G. (2015). Effects of octenylsuccination on physical, mechanical and moisture-proof properties of stretchable sweet potato starch film. *Food Hydrocolloids*, 46, 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.017>

Li, X., Tu, H., Huang, M., Chen, J., Shi, X., Deng, H. Du, Y. (2017). Incorporation of lysozyme-rectorite composites into chitosan films for antibacterial properties enhancement. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 789–795. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.076>

Liu, J., Liu, S., Wu, Q., Gu, Y., Kan, J., & Jin, C. (2017). Effect of protocatechuic acid incorporation on the physical, mechanical, structural and antioxidant properties of chitosan film. *Food Hydrocolloids*, 73, 90–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.035>

Liu, J., Meng, C., Liu, S., Kan, J., & Jin, C. (2017). Preparation and characterization of protocatechuic

- acid grafted chitosan films with antioxidant activity. *Food Hydrocolloids*, 63, 457–466. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.035>
- Liu, P., Wang, R., Kang, X., Cui, B., & Yu, B. (2018). Effects of ultrasonic treatment on amylose–lipid complex formation and properties of sweet potato starch-based films. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 44, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.029>
- Ma, W., Tang, C., Yang, X., & Yin, S. (2013). Fabrication and characterization of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L) protein isolate e chitosan composite films at acidic pH. *Food Hydrocolloids*, 31(2), 237–247. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.007>
- Ma, X., Lv, M., Anderson, D. P., & Chang, P. R. (2017). Natural polysaccharide composites based on modified cellulose spheres and plasticized chitosan matrix. *Food Hydrocolloids*, 66, 276–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.038>
- Mondal, D., Bhowmick, B., Mollick, M. R., Maity, D., Mukhopadhyay, A., Rana, D., & Chattopadhyay, D. (2013). Effect of clay concentration on morphology and properties of hydroxypropylmethylcellulose films. *Carbohydrate Polymers*, 96(1), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.064>
- Montoya, U., Zuluaga, R., Castro, C., Goyanes, S., & Ganán, P. (2014). Development of composite films based on thermoplastic starch and cellulose microfibrils from Colombian agroindustrial wastes. *Journal of Thermoplastic Composite Materials*, 27(3), 413–426. <http://dx.doi.org/10.1177/0892705712461663>
- Moraes, T. De, Oliveira, A. De, Alves, V. D., & Hickmann, S. (2018). Active food packaging prepared with chitosan and olive pomace. *Food Hydrocolloids*, 74, 139–150. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.08.007>
- Moreno, O., Atarés, L., & Chiralt, A. (2015). Effect of the incorporation of antimicrobial/antioxidant proteins on the properties of potato starch films. *Carbohydrate Polymers*, 133, 353–364. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.047>
- Mujtaba, M., Salaberria, A. M., Andres, M. A., Kaya, M., Gunyakti, A., & Labidi, J. (2017). Utilization of flax (*Linum usitatissimum*) cellulose nanocrystals as reinforcing material for chitosan films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104, 944–952. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.127>
- Nouri, A., Tavakkoli, M., & Ghorbanpour, M. (2018). Enhanced Antibacterial effect of chitosan film using Montmorillonite / CuO nanocomposite. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 1219–1231. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.119>
- Oleyaei SA, Almasi H, Ghanbarzadeh B, Moayed AA, (2016). Synergistic reinforcing effect of TiO2 and montmorillonite on potato starch nanocomposite films: thermal, mechanical and barrier properties. *Carbohydr Polym*, 152, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.04027516271>
- Otoni, C. G., Lodi, B. D., Lorevice, M. V., Leitão, R. C., Ferreira, M. D., Moura, M. R. De, & Mattoso, L. H. C. (2018). Optimized and scaled-up production of cellulose-reinforced biodegradable composite films made up of carrot processing waste. *Industrial Crops & Products*, 121, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.003>
- Otoni, C. G., Lorevice, M. V., Moura, M. R. De, & Mattoso, L. H. C. (2018). On the Effects of hydroxyl substitution degree and molecular weight on mechanical and water barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films. *Carbohydrate Polymers*, 185 (November 2017), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.016>
- Peng, Y., Wu, Y., & Li, Y. (2013). Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59, 282–289. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.019>
- Pereda, M., Dufresne, A., Aranguren, M. I., & Marcovich, N. E. (2014). Polyelectrolyte films based on chitosan/olive oil and reinforced with cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 101, 1018–1026. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.046>
- Pereira, Jr. Arruda, Q. De, Stefani, R. (2015). Active chitosan/PVA films with anthocyanins from *Brassica oleracea* (Red Cabbage) as Time Temperature Indicators for application in intelligent food packaging. *Food Hydrocolloids*, 43, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.014>
- Perone, N., Torrieri, E., Adalgisa, M., Cavella, S., Addeo, F., & Masi, P. (2014). Structure and properties of hydroxypropyl methyl cellulose — Sodium caseinate film cross-linked by TGase. *Food Packaging and Shelf Life*, 1(2), 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.03.002>
- Phillips, M., Epps, A. V., Johnson, N., & Zwicky, D. (2018). Effective Engineering Information Literacy Instruction: A Systematic Literature Review. *The Journal of Academic Librarianship*, 44, 705–71. <https://doi.org/10.1016/j.acalib.2018.10.006>
- Priyadarshi, R., Kumar, B., & Negi, Y. S. (2018). Chitosan film incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydrate Polymers*, 195, 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.089>
- Priyadarshi, R., Kumar, B., Deeba, F., & Kulshreshtha, A. (2018). Food Hydrocolloids Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food packaging material. *Food Hydrocolloids*, 85, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.003>
- Pongrácz, E. (2007). The Environmental Impacts of Packaging. In M. Kutz, *Environmentally Conscious Materials and Chemicals Processing*, (pp. 237–278). Oulu, Finland: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470168219.ch9>
- Priyadarshi, R., Kumar, B., & Negi, Y. S. (2018). Chitosan film incorporated with citric acid and glycerol as an active packaging material for extension of green chilli shelf life. *Carbohydrate Polymers*, 195, 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.089>
- Priyadarshi, R., Kumar, B., Deeba, F., & Kulshreshtha, A. (2018). Chitosan films incorporated with Apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil as active food

packaging material. *Food Hydrocolloids*, 85, 158–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.003>

Rahmani, B., Hosseini, H., Khani, M., Farhoodi, M., Honarvar, Z., Feizollahi, E., Shojaee-alibadi, S. (2017). Development and characterisation of chitosan or alginate-coated low density polyethylene films containing *Satureja hortensis* extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.002>

Ramachandran, H., Iqbal, N., Sipaut, C., & Abdullah, A. (2011). Biosynthesis and Characterization of Poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate-co-4-hydroxybutyrate) Terpolymer with Various Monomer Compositions by *Cupriavidus* sp. USMAA2-4. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(6), 867–877. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-011-9180-8>

Rezaee, M., Askari, G., Emamdjomeh, Z., & Salami, M. (2018). Effect of organic additives on physicochemical properties and anti-oxidant release from chitosan-gelatin composite films to fatty food simulant. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 844–850. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.122>

Riaz, A., Lei, S., Akhtar, S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., Zeng, X. (2018). Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 547–555. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.126>

Rui, L., Xie, M., Hu, B., Zhou, L., Yin, D., & Zeng, X. (2017). A comparative study on chitosan / gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. *Carbohydrate Polymers*, 173, 473–481. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.072>

Salaberria, A. M., Diaz, R. H., Labidi, J., & Fernandes, S. C. M. (2015). Preparing valuable renewable nanocomposite films based exclusively on oceanic biomass – Chitin nanofillers and chitosan. *Reactive and functional polymers*, 89, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2015.03.003>

Salari, M., Sowti, M., Rezaei, R., & Ghanbarzadeh, B. (2018). Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 84, 414–423. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.037>

Sánchez-González, L., Iván, J., Saavedra, Q., & Chiralt, A. (2013). Physical properties and antilisterial activity of bioactive edible films containing *Lactobacillus plantarum*. *Food Hydrocolloids*, 33 (1), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.011>

Santacruz, S., Rivadeneira, C., & Castro, M. (2015). Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant and hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocolloids*, 49, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.019>

Shankar, S., & Rhim, J. (2018). Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 82, 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.03.054>

Shen, Z., & Kamdem, D. P. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.046>

Sadegh-Hassani, F., & Nafchi, A. M. (2014). Macromolecules Preparation and characterization of bionanocomposite films based on potato starch / halloysite nanoclay. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 458–462. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.04.009>

Silva, R. T. De, Mantilaka, M. M. M. G. P. G., Ratnayake, S. P., Amaratunga, G. A. J., & Silva, K. M. N. De. (2017). Nano-MgO reinforced chitosan nanocomposites for high performance packaging applications with improved mechanical, thermal and barrier properties. *Carbohydrate Polymers*, 157, 739–747. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.038>

Sivaselvi, K., & Ghosh, P. (2017). Characterization of modified Chitosan thin film. *Materials Today: Proceedings*, 4 (2), 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.043>

Siripatrawan, U., & Kaewklin, P. (2018). Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 84, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.04.049>

Siripatrawan, U., & Vitchayakitti, W. (2016). Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids*, 61, 695–702. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.001>

Sivaselvi, K., & Ghosh, P. (2017). Characterization of modified Chitosan thin film. *Materials Today: Proceedings*, 4(2), 442–451. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.01.043>

Sivaselvi, K., & Ghosh, P. (2018). Polymer thin film coating on Biomaterial. *Materials Today: Proceedings*, 5(2), 3418–3424. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.11.587>

Sogut, E., & Seydim, A. C. (2018). The Effects of Chitosan and grape seed extract-based edible films on the quality of vacuum packaged chicken breast fillets. *Food packaging*, 18, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.07.006>

Soni, B., Barbary, E., Schilling, M. W., & Mahmoud, B. (2016). Transparent bionanocomposite films based on chitosan and TEMPO-oxidized cellulose nanofibers with enhanced mechanical and barrier properties. *Carbohydrate Polymers*, 151, 779–789. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.022>

Souza, B., Cerqueira, M., Martins, J., & Casariego, A. (2010). Influence of electric fields on the structure of chitosan edible coatings. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 330–335.

Sun, L., Sun, J., Chen, L., Niu, P., Yang, X., & Guo, Y. (2017). Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers*, 163, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.016>

- Tan, Y. M., Lim, S. H., Tay, B. Y., Lee, M. W., & Thian, E. S. (2015). Functional chitosan-based grapefruit seed extract composite films for applications in food packaging technology. *Materials Research Bulletin*, 69, 142–146. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.11.041>
- Vargas, G., Martínez, P., & Velezmoro, C. (2016). Propiedades funcionales de almidón de papa (*Solanum tuberosum*) y su modificación química por acetilación. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 223–230. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.09>
- Vaštag, G., Popovic, S. Z., Markov, S. L., Šuput, D. Z., Hromiš, N. M., Lazic, V. L., Popović, L. M. (2015). Optimization of chitosan biofilm properties by addition of caraway essential oil and beeswax. *Journal of Food Engineering*, 158, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.01.001>
- Velásquez-Cock, J., Ramírez, E., Betancourt, S., Putaux, J. L., Osorio, M., Castro, C., Gañan, P., & Zuluaga, R. (2014). Influence of the acid type in the production of chitosan films reinforced with bacterial nanocellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.040>
- Vilela, C., Pinto, R. J. B., Coelho, J., Domingues, M. R. M., Daina, S., Santos, A. O., Sadocco, P. (2017). Bioactive chitosan/ellagic acid films with UV-light protection for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 73, 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.06.037>
- Villada, H., Acosta, H., & Velasco, R. (2007). Biopolímeros naturales usados en empaques biodegradables. *Temas Agrarios*, 12(2), 5–13.
- Vlacha, M., Giannakas, A., Katapodis, P., Stamatis, H., Ladavos, A., & Barkoula, N. (2016). On the efficiency of oleic acid as plasticizer of chitosan / clay nanocomposites and its role on thermo-mechanical, barrier and antimicrobial properties e Comparison with glycerol. *Food Hydrocolloids*, 57, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.003>
- Yang, W., Owczarek, J. S., Fortunati, E., Kozanecki, M., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Puglia, D. (2016). Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol / chitosan films for active packaging. *Industrial Crops & Products*, 94, 800–811. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.061>
- Yoshida, C. M. P., Borges, V., Maciel, V., Eleonora, M., & Mendonça, D. (2014). Chitosan biobased and intelligent films: Monitoring pH variations. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.015>
- Youssef, A. M., Abou-yousef, H., El-sayed, S. M., & Kamel, S. (2015). Mechanical and antibacterial properties of novel high performance chitosan/nanocomposite films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 76, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.016>
- Yu, Z., Li, B., Chu, J., & Zhang, P. (2018). Silica in situ enhanced PVA/chitosan biodegradable films for food packages. *Carbohydrate Polymers*, 184, 214–220. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.043>
- Wang, Q., & Padua, G. (2005). Properties of zein films coated with drying oils. *Agric Food Chem*, 53, 3444–3448.
- Wang, Y., Yu, L., Xie, F., Zhang, L., Liao, L., Liu, H., & Chen, L. (2016). Morphology and properties of thermal/cooling-gel bi-phasic systems based on hydroxypropyl methylcellulose and hydroxypropyl starch. *Composites Part B*, 101, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2016.06.081>
- Wu, Y., Ying, Y., Liu, Y., Zhang, H., & Huang, J. (2018). Preparation of chitosan/poly vinyl alcohol films and their inhibition of biofilm formation against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 2131–2137. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.061>
- Wang, Y., Yu, L., Xie, F., Li, S., Sun, Q., Liu, H., & Chen, L. (2018). On the investigation of thermal/cooling-gel biphasic systems based on hydroxypropyl methylcellulose and hydroxypropyl starch. *Industrial Crops & Products*, 124, 418–428. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.010>
- Wu, M., Wang, L., Li, D., Mao, Z., & Adhikari, B. (2013). Effect of flaxseed meal on the dynamic mechanical properties of starch-based films. *Journal of Food Engineering*, 118(4), 365–370. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.017>
- Zdanowicz, M., & Johansson, C. (2016). Mechanical and barrier properties of starch-based films plasticized with two- or three component deep eutectic solvents. *Carbohydrate Polymers*, 151, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.061>
- Zhang, W., Chen, J., Chen, Y., Xia, W., Xiong, Y. L., & Wang, H. (2016). Enhanced physicochemical properties of chitosan / whey protein isolate composite film by sodium laurate-modified TiO₂ nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 138, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.031>
- Zhang, L., Zhao, Y., Qian, J., Jiang, S., Liu, J., & He, X. (2017). Relationship between multi-scale structures and properties of photophobic films based on hydroxypropyl methylcellulose and monosodium phosphate. *Carbohydrate Polymers*, 174, 572–579. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.083>
- Zhang, X., Xiao, G., Wang, Y., Zhao, Y., Su, H., & Tan, T. (2017). Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, 169, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.073>
- Zhang, L., Lu, Y., Peng, Y., Yu, Y., Zhao, Y., Ma, Y., & Qian, J. (2018). Microstructures and properties of photophobic films composed of hydroxypropyl methylcellulose and different salts. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 945–951. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.011>
- Zhang, L., Wang, X., Liu, H., Yu, L., Wang, Y., Simon, G. P., & Qian, J. (2018). Effect of plasticizers on microstructure, compatibility and mechanical property of hydroxypropyl methylcellulose/hydroxypropyl starch blends. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.064>

Apêndice

Resumo das propriedades mecânicas para cada artigo selecionado

Artigo	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)	Fonte
C1	50,96	14,10	1307,03	Sogut y Seydim (2018)
C2	29,90	5,32	9,68	Huang <i>et al.</i> (2018)
C3	9,45	4,86	3610,00	Priyadarshi <i>et al.</i> (2018)
C4	16,74	50,81	113,65	Adel <i>et al.</i> (2018)
C5	11,50	58,00		Siripatrawan y Kaewklin (2018)
C6	19,00	72,00		Lee <i>et al.</i> (2018)
C7	21,07	33,84	97,05	Salari <i>et al.</i> (2018)
C8	31,78	20,71		Wu <i>et al.</i> (2018)
C9	65,50	3,20		Chang <i>et al.</i> (2018)
C10	32,30	21,40	1680,00	Shankar y Rhim (2018)
C11	52,22	2,22	3221,20	Priyadarshi <i>et al.</i> (2018)
C12	36,70	21,58		Azadbakht <i>et al.</i> (2018)
C13	27,23	3,73	1346,82	Akyuz <i>et al.</i> (2018)
C14	33,80	2,10	42,80	Almeida <i>et al.</i> (2018)
C15	13,97	16,58	554,25	Gursoy <i>et al.</i> (2018)
C16	27,13	28,00		Riaz <i>et al.</i> (2018)
C17	48,72	28,59		Kadam y Lele (2018)
C18	97,63	14,24		Rezaee <i>et al.</i> (2018)
C19	52,82	22,88		Kadam <i>et al.</i> (2018)
C20	43,20	2,40	3100,00	Chi y Catchmark (2018)
C21	46,70	17,90	2047,00	Gomes <i>et al.</i> (2018)
C22	10,96	57,71		Kaewklin <i>et al.</i> (2018)
C23	55,00	5,70	148,00	Bonilla <i>et al.</i> (2018)
C24	5,54	17,92	224,28	Akyuz <i>et al.</i> (2018)
C25	46,20	8,20		Nouri <i>et al.</i> (2018)
C26	28,00	110,00		Yu <i>et al.</i> (2018)
C27	16,76	23,05	69,11	Moraes <i>et al.</i> (2018)
C28	0,02	0,08	429,00	Sivaselvi y Ghosh (2018)
C29	21,24	26,13		Balti <i>et al.</i> (2017)
C30	55,30	22,00	3830,00	Vilela <i>et al.</i> (2017)
C31	40,84	62,80		Liu <i>et al.</i> (2017)
C32	2,70	38,27		Rahmani <i>et al.</i> (2017)
C33	20,00	35,00	342,00	Souza <i>et al.</i> (2017)
C34	5,40	37,16	21,75	Mujtaba <i>et al.</i> (2017)
C35–P17	3,05	108,21	0,02	Coelho <i>et al.</i> (2017)
C36	6,99	72,70		Ahmed <i>et al.</i> (2017)
C37	23,50	18,00		Lamarra <i>et al.</i> (2017)
C38	27,14	26,30	103,18	Rui <i>et al.</i> , (2017)
C39	38,39	12,44	2419,69	Li <i>et al.</i> (2017)
C40	32,20	6,35	2064,00	Kalaycıoğlu <i>et al.</i> (2017)
C41	24,43	15,23		Zhang <i>et al.</i> (2017)
C42	26,50	162,80		Sun <i>et al.</i> , (2017)
0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
C43	26,80	50,90		Ma <i>et al.</i> , (2017)
C44	22,10	5,50	1000,00	Silva <i>et al.</i> (2017)
C45	38,37	4,17		Liu <i>et al.</i> (2017)
C46	0,02	0,03	0,97	Sivaselvi y Ghosh (2017)

Artigo	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)	Fonte
C47	36,00	5,72	1334,00	Yang <i>et al.</i> , (2016)
C48	6,00	5,40		Siripatrawan y Vitchayakitti, (2016)
C49	3,40	28,00	61,00	Bonilla y Sobral, (2016)
C50	21,98	23,09	435,76	Jafari <i>et al.</i> , (2016)
C51	10,70	9,20	265,00	Soni <i>et al.</i> , (2016)
C52	66,20	10,80	3100,00	Aljawish <i>et al.</i> , (2016)
C53		3,00	957,00	Bansal <i>et al.</i> , (2016)
C54	18,50	86,70	20,80	Ferreira <i>et al.</i> , (2016)
C55	145,00	11,00	3791,00	Vlacha <i>et al.</i> , (2016)
C55	138,00	9,00	3870,00	Vlacha <i>et al.</i> , (2016)
C56	10,8,00	47,20	36,25,00	Beigzadeh <i>et al.</i> , (2016)
C57	95,33	7,02	3515,00	Giannakas <i>et al.</i> , (2016)
C58	14,32	156,74		Zhang <i>et al.</i> , (2016)
C59	54,90	4,72		Tan <i>et al.</i> , (2015)
C60	52,77	14,32		Vaštag <i>et al.</i> , (2015)
C61		2,93	523,66	Youssef <i>et al.</i> , (2015)
C62	38,00		2220,00	Salaberria <i>et al.</i> , (2015)
C63	8,25	31,26		Costa <i>et al.</i> , (2015)
C64	39,68	13,00		Shen y Kamdem (2015)
C65	31,8	16,2	24,37	Pereira <i>et al.</i> (2015)
C66	20	6,00	533,00	Bonilla <i>et al.</i> , (2014)
C67	8,40	19,6	134,60	Pereda <i>et al.</i> , (2014)
C68	49,98	3,89	2,40	Yoshida <i>et al.</i> , (2014)
C69	31,80	32,40		Peng <i>et al.</i> , (2013)
C70	21,30	38,90	191,50	Ma <i>et al.</i> , (2013)
C71	61,82	4,59		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	43,41	11,14		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	31,89	30,51		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	68,47	15,37		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	43,60	17,00		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	37,93	20,58		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	55,83	4,58		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	36,85	27,34		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	23,87	37,67		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	53,98	8,50		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	38,25	10,12		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C71	32,01	17,23		Leceta <i>et al.</i> , (2013)
C72-col	30,55		98,90	Escobar-Sierra y Perea-Mesa, (2017)
C73-col	1,697	27,32	6,41	Grande-Tovar <i>et al.</i> , (2018)
C74-col	32,4	8,40	22,70	Grande <i>et al.</i> , (2017)
C75-col	3,30	0,57	4,50	Velásquez-Cock <i>et al.</i> , (2014)
C75-col	1,80	0,83	1,80	Velásquez-Cock <i>et al.</i> , (2014)
C76-col	120,00	8,51		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018.
C76-col	351,00	42,4		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	398,00	7,72		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	107,00	13,80		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	372,00	15,5		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	309,00	26,5		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	210,00	2,46		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
C76-col	231,00	1,50		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018

Artigo	TS (MPa)	EB (%)	ME (MPa)	Fonte
C76-col	656,00	2,77		Homez-Jara <i>et al.</i> , 2018
H1	54,93	26,09	828,57	Zhang <i>et al.</i> , (2018)
H2	15,05	24,86	270,28	Wang <i>et al.</i> , (2018)
H3	24,40	7,00	740,00	Zhang <i>et al.</i> , (2018)
H4	65,40	11,30	1400,00	Otoni <i>et al.</i> , (2018)
H5	1,00	6,70	140,00	Hassan <i>et al.</i> , (2018)
H6	30,83	6,06	1,45	Otoni <i>et al.</i> , (2018)
H6	52,3	11,89	1,74	Otoni <i>et al.</i> , (2018)
H6	67,28	17,37	1,76	Otoni <i>et al.</i> , (2018)
H7	37,50	14,00	1275,00	Zhang <i>et al.</i> , (2017)
H8	13,50	56,00	30,00	Klangmuang y Sothornvit (2016)
H9	16,50	27,00	305,00	Yanfei <i>et al.</i> , (2016)
H10	13,54	26,75		Esteghlal <i>et al.</i> , (2016)
H11	10,89	51,24	29,23	Klangmuang y Sothornvit, (2016)
H12	70,20	20,3		Ding <i>et al.</i> , (2016).
H13	33,00	7,50	1264	Perone <i>et al.</i> , (2014).
H14	32,44	3,67	1,43	Ghosh <i>et al.</i> , (2014).
H15	26,70	31,00	500,00	Sánchez-González <i>et al.</i> , (2013).
H16	50,20	20,40	1875	Mondal <i>et al.</i> , (2013).
H17	64,5	4,30	2492	Akhtar <i>et al.</i> , (2013).
P1	4,28	48,40		Aguirre-Loredo <i>et al.</i> , (2018).
P1	4,85	58,10		Aguirre-Loredo <i>et al.</i> , (2018).
P2	6,16	10,27		Liu <i>et al.</i> , (2018).
P3	6,56	5,33	5,67	Basiak <i>et al.</i> , (2017).
P4	88,00	2,70		Oleyaei <i>et al.</i> , (2016).
P5	46,40	9,00	1190,00	Zdanowicz y Johansson, (2016)
P6	66,00	5,00	3475,00	Kenny <i>et al.</i> , (2016).
P6	29,00	3,00	1775,00	Kenny <i>et al.</i> , (2016).
P6	21,00	19,00	1475,00	Kenny <i>et al.</i> , (2016).
P6	12,00	37,50	550,00	Kenny <i>et al.</i> , (2016).
P7	2,66	86,70		Oleyaei <i>et al.</i> , (2016).
P8	8,80	53,40		Jiang <i>et al.</i> , (2016).
P9	22,20	6,50		Cieřla y Sartowska (2014)
P9	24,90	6,50		Cieřla y Sartowska (2014)
P10	37,00	4,75	1350,00	Moreno <i>et al.</i> , (2015).
P10	34,50	4,50	1350,00	Moreno <i>et al.</i> , (2015).
P10	13,50	13,50	635,00	Moreno <i>et al.</i> , (2015).
P10	10,50	40,91	395,00	Moreno <i>et al.</i> , (2015).
P11	10,61		0,08	Santacruz <i>et al.</i> , (2015).
P12	1,73	0,42		Li <i>et al.</i> , (2015).
P13	3,04	29,00	40,00	Cano <i>et al.</i> , (2014).
P14	7,33	68,00	188,00	Sadegh-Hassani y Mohammadi (2014)
P15	0,64	61,50	0,87	Aila-Suárez <i>et al.</i> , (2013)
P16	6,65	13,50	6,00	Wu <i>et al.</i> , (2013)
C35-P17	31,70	3,07	14,51	Coelho <i>et al.</i> , (2017)
P18-col	1,50		16,40	Montoya <i>et al.</i> , (2014)

Nota. TS: Tensão de tração; EB: deformação à ruptura; ME: Módulo de Elasticidade; C: Quitosana; H: Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC); P: amido de batata; “-col”: publicações na Colômbia.

Uso de la L-arginina y el ácido ascórbico para conservar mango "Tommy Atkins" mínimamente procesado

Use of L-arginine and ascorbic acid to preserve minimally processed "Tommy Atkins" mango

Johanna Victoria Escobar-Calderón^a  jvescobar@sena.edu.co

Elizabeth Álzate-Quintero^a  ealzatequi@sena.edu.co

Fray Alexander Arcila-Amariles^b  arcilafay2@gmail.com

Santiago Alexander Ceballos-Gallego^b  santicgm2018@gmail.com

^aServicio Nacional de Aprendizaje SENA – Regional Antioquia, Grupo de Investigación Innovación y Agroindustria (GIIA).

^bTecnoacademia-SENA, Semillero TAO (Tecnoacademia del Oriente Antioqueño).

Recibido: 16/02/2023 Aceptado: 15/06/2023

Citar, APA: Escobar-Calderón, J. V., Álzate-Quintero, E., Arcila-Amariles, F. A. y Ceballos-Gallego, S. A. (2023). Uso de la L-arginina y el ácido ascórbico (vitamina C) para conservar mango "Tommy Atkins" mínimamente procesado. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 85–93. <https://doi.org/10.23850/24220582.5263>

Resumen El mango es un fruto muy apetecido a nivel comercial que presenta un periodo de vida útil corto, sino se almacena y conserva correctamente. El objetivo de este estudio consistió en evaluar el efecto de diferentes concentraciones de L-arginina (Arg) y Ácido Ascórbico (Asc) en la conservación a vacío del mango Tommy mínimamente procesado. El mango fue cortado en rodajas de 3 a 4 mm, retirando el epicarpio y la semilla. Posteriormente, se distribuyeron en partes iguales de 200 g y cada muestra se sumergió durante 2 minutos en soluciones de: (Arg-25 mM, Arg-50 mM y Arg-100 mM) y (Asc-0,25 %, Asc-0,50 % y Asc-1 %), finalmente se secaron a 27 °C ± 2 por 5 minutos, empacándose al vacío y se evaluó su almacenaje en cámara climática a 10 °C y 70 % HR durante 0, 3, 7, 13 y 21 días. Los parámetros fisicoquímicos analizados fueron: la firmeza como textura de corte, color y sólidos solubles. Los tratamientos Asc-1 %; y Arg-25mM, lograron obtener una textura 3 veces mayor hasta los 21 días de almacenamiento, por encima del tratamiento control. Los tratamientos que mantuvieron el color característico del mango sin oscurecimiento fueron Asc-0,25 %, Asc-0,50 % y Asc-1 %, contrario a lo evidenciado para los tratamientos con L-Arginina donde el oscurecimiento y pérdida de textura aumentaron a medida que aumentó su concentración. Los sólidos solubles (°BRIX), tuvieron diferencia de 3 °BRIX entre la fruta que no tuvo inmersión (11 °BRIX) y la fruta que fue sumergida en soluciones conservantes (8 °BRIX), no tuvo diferencias significativas de sólidos durante el almacenamiento. Los tratamientos Asc-1 % y Asc-0,50 %, lograron conservar el color característico del mango fresco evitando la pérdida de textura hasta los 21 días de almacenamiento.

Palabras clave: Mango (*Mangifera indica*), perecibilidad, vida útil, postcosecha, conservantes, antioxidantes, aminoácidos.

Abstract The mango is a very desirable fruit at a commercial level, but it has a short shelf life, if it is not stored and preserved correctly. The goal of this study was to evaluate the effect of different concentrations of L-arginine (Arg) and Ascorbic Acid (Asc) on the vacuum preservation of minimally processed Tommy mango. The mango was cut into 3 to 4 mm slices, removing the epicarp and the seed. Subsequently, they were distributed in equal parts of 200 g and each sample was submerged for 2 minutes in solutions of: (Arg-25 mM, Arg-50 mM and Arg-100 mM) and (Asc-0,25 %, Asc-0,50 % and Asc-1 %), finally they were dried at 27 °C ± 2 for 5 minutes, vacuum packed and their storage was evaluated in a climatic chamber at 10 °C and 70 % RH for 0, 3, 7, 13 and 21 days. The physicochemical parameters analyzed were, firmness as cut texture, measure objective color and soluble solids. Asc-1% treatments; and Arg-25 mM, managed to obtain a texture 3 times greater up to 21 days of storage, above the control treatment. The treatments that maintained the characteristic color of the mango without darkening were Asc-0,25%, Asc-0,50% and Asc-1%, contrary to what was evidenced for the treatments with L-Arginine where the darkening and loss of texture increased. as his concentration increased. The soluble solids (°BRIX) had a difference of 3 °BRIX between the fruit that was not immersed (11 °BRIX) and the fruit that was immersed in preservative solutions (8 °BRIX), there were no significant differences in solids during storage. The Asc-1 % and Asc-0,50 % treatments managed to preserve the characteristic color of fresh mango, avoiding the loss of texture up to 21 days of storage.

Keywords: Mango (*Mangifera indica*), perishable, shelf life, post-harvest, food preservatives, antioxidants, amino acids.

Introducción

El mango (*Mangifera indica L.*) es considerado un fruto de interés comercial, siendo ampliamente estudiado por sus características nutricionales y biofuncionales, como por su aporte a nivel tecnológico. Desde una mirada nutricional, el mango aporta una alta fuente de carbohidratos, vitaminas y antioxidantes. En promedio, 100 g de pulpa de mango puede aportar un 47 % del requerimiento diario para un adulto promedio de vitamina C, un 25 % del requerimiento diario de vitamina A y un 13 % de vitamina E. Además, en cuanto a las propiedades biofuncionales, el mango contiene altas cantidades de antioxidantes, carotenoides y polifenoles, (Villanueva-Rodríguez, 2016).

Debido a las propiedades anteriormente descritas, el mango a nivel industrial ha permitido el desarrollo de una gran variedad de productos, como jugos y néctar, mango en cubos en almíbar, polvos, purés, preparado para postres, crema de mango, trozos de mango mínimamente procesados y rodajas deshidratadas (Alvarado y Moreno, 2012) (Dak, Verma, y Jaaffrey, 2007).

Aun con esta amplia diversificación comercial, los frutos mínimamente procesados presentan una gran problemática de conservación, ya que pueden sufrir algunos daños mecánicos durante su procesado, lo que promueve que algunos cambios metabólicos naturales se aceleren, haciendo que los frutos sean más vulnerables a la proliferación microbiana, lo que conlleva a la pérdida de especificaciones de calidad relacionadas con la textura y el color. De allí, la relevancia de implementar nuevas tecnologías de conservación, con el fin de prolongar la vida útil de productos poco procesados (Oms-Oliu, 2008).

En los últimos años, se han implementado diferentes métodos que permiten mitigar los daños generados en los frutos mínimamente procesados, entre ellos, se ha estudiado ampliamente el uso de los recubrimientos comestibles (RC), los cuales actúan como una capa fina que se adhiere al alimento, permitiendo la formación de una barrera que permeabiliza adecuadamente los

gases de la respiración y contrarresta la pérdida de humedad, logrando de esta manera minimizar cambios metabólicos en los frutos, evitando su maduración y la pérdida de las características de calidad (Ramírez *et al.*, 2013).

En el caso del mango mínimamente procesado, se han aplicado diferentes matrices de recubrimiento que buscan contrarrestar los efectos de perecibilidad causados por la rápida maduración como fruto climatérico, así como el retraso de la pérdida de peso y desecación de la superficie, mantenimiento de la integridad de la estructura original y reducción del pardeamiento. Dentro de estas matrices se destacan el uso de polisacáridos, almidones de diferentes orígenes, antioxidantes y aminoácidos (AGRUPOST, 2020) (Chien *et al.*, 2007).

En este contexto, la presente investigación se planteó como objetivo de investigación conservar y prolongar la vida útil de mango mínimamente procesado, mediante el uso de la L-arginina y el ácido ascórbico (vitamina C).

Metodología

Los mangos variedad “Tommy Atkins” se obtuvieron del municipio de La Ceja (Antioquia) con un estado de madurez igual a 3 según la escala propuesta por Báez *et al.* 2018 y con sólidos solubles de 10 a 11 °BRIX. El total de la muestra para este estudio consistió en la selección de 15 frutos, y seguidamente a cada uno de ellos se les retiró la cascara y se les realizó cortes longitudinales de 3 a 4 mm con una cortadora de vegetales marca Setein. Posteriormente, se mezclaron las rodajas de los 15 mangos y se separó en 7 partes iguales para realizar la inmersión a diferentes tratamientos (**Figura 1**).

Cada porción de 200 g se sumergió en cada una de las concentraciones de ácido ascórbico (0,25, 0,50 y 1 %) y L-arginina (25, 50 y 100 mM) por 2 minutos, para un total de 7 tratamientos incluido el control que no conto con ninguna inmersión. Seguidamente se secaron con toallas de papel absorbente durante 5 minutos a temperatura de 27 °C ± 2, para posteriormente

realizar el empaque al vacío con bolsas plásticas multicapa de poliamina-polietileno con barrera al vapor de agua ($< 15 \text{ g/ m}^2/24\text{h/atm}$, $T = 38$

$^{\circ}\text{C}$) y Oxígeno ($60 \text{ cc/m}^2/24\text{h/atm}$, 23°C). El tratamiento control solo fue empacado al vacío sin realizar inmersión.



Figura 1

Esquema de obtención del mango mínimamente procesado y evaluación de parámetros fisicoquímicos ($^{\circ}\text{Brix}$, Textura y Color)

Nota. Elaboración propia.

Durante el almacenamiento cada muestra se seleccionó de manera aleatoria evaluando las siguientes características fisicoquímicas:

-Textura: entendiéndose como la fuerza de corte realizada a la muestra, con un analizador de textura TA.XT2 plus con una celda de carga de 30 kgf y un accesorio de corte HDP Blade set. Este proceso se implementó modificando la metodología de *Alvis et al.* 2016.

-Medición de color: se realizó bajo las coordenadas CIE $L^*a^*b^*$, con iluminante C y observador de 2° , en la superficie de corte de la rodaja, utilizando un colorímetro Minolta (CR - 410). Esto de acuerdo al método de Rodríguez y Henao, 2016. Para la determinación de $^{\circ}\text{Brix}$ se utilizó un refractómetro Atago PLA-1 siguiendo la metodología de AOAC, 1990 y *Pristijono et al.* 2017.

Las evaluaciones fisicoquímicas fueron realizadas durante los días de almacenamiento 0, 3, 7, 13 y 21 a condiciones controladas (Memmert HPP 110) de 10°C y 70 % HR.

Para el análisis de resultados se aplicó un Diseño Experimental completamente al azar con un arreglo bifactorial (Concentración de conservante natural x Tiempo de almacenamiento) con un total de 7 tratamientos incluido el tratamiento control, evaluados durante los días 0, 3, 7, 13 y 21 para un total de 35 unidades experimentales estudiadas.

Los análisis estadísticos para las variables respuesta estudiadas, se realizaron utilizando el paquete Statgraphics Centurión XVI y se utilizó la diferencia mínima significativa (LSD) a $p \leq 0,05$ para determinar la diferencia significativa entre las medias.

Resultados y Discusión

La textura del mango en rodajas fue afectada significativamente ($p < 0,05$) por el tiempo de almacenamiento en la mayoría de los tratamientos estudiados. El tratamiento Asc-1 %, conservó una textura mayor hasta los 21 días de almacenamiento (15,667 N), comparado con

el tratamiento control o mango sin tratar (4,458 N). Por el contrario, el tratamiento Arg-100 mM, Asc-0,25 % y Control, se vieron seriamente afectados durante el tiempo de almacenamiento teniendo una caída de textura a los 21 días de 4,005, 3,091 y 4,458 N, respectivamente (Figura 2A y B).

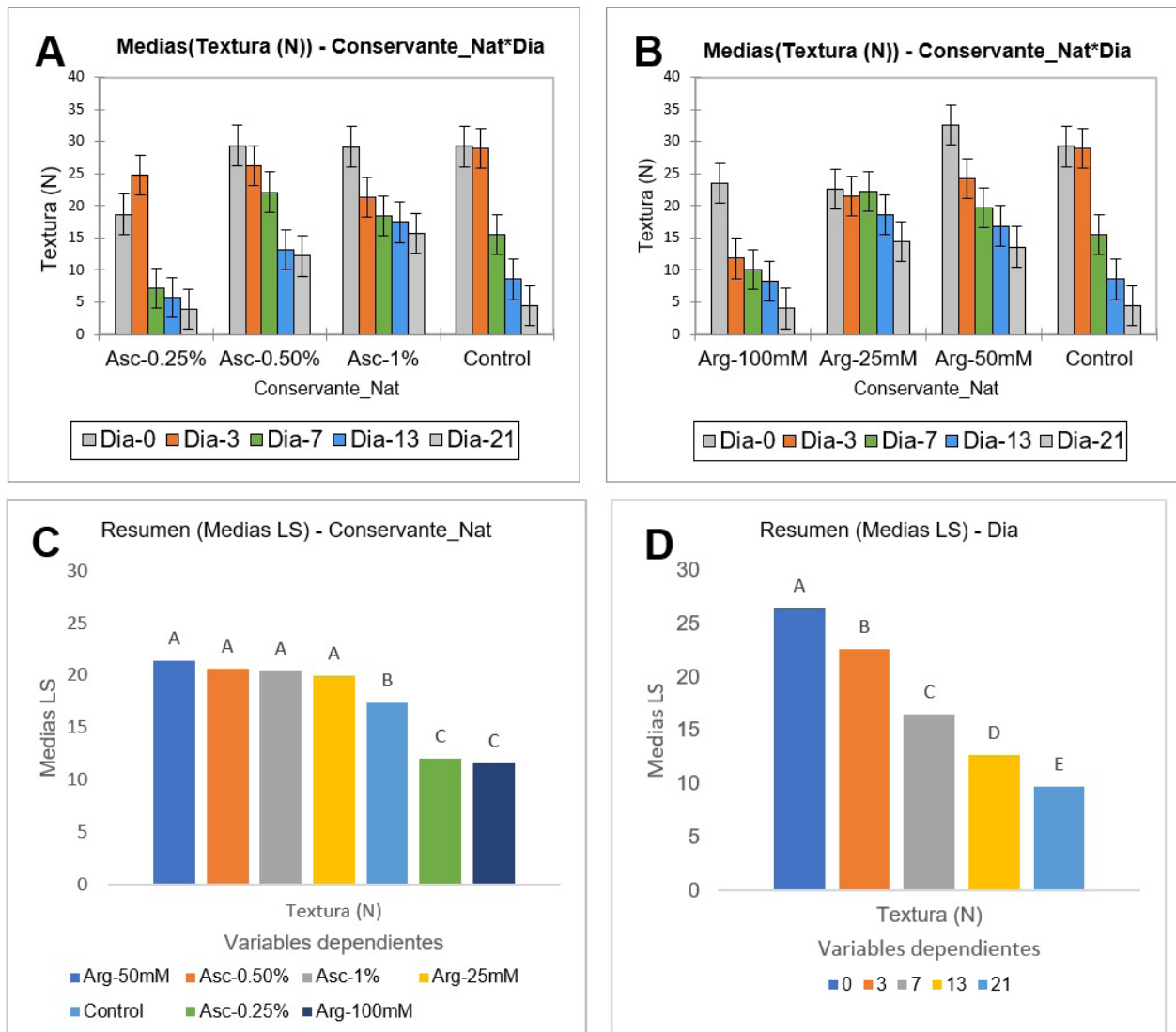


Figura 2

Efecto de las diferentes concentraciones de (A) Acido Ascórbico (Asc) y (B) L-Arginina (Arg) sobre la textura medida en Newtons (N) durante 0, 3, 7, 13 y 21 días de almacenamiento a 10 °C y 70 % HR. Valoración de medias estadísticamente significativas para los factores tipo de conservante (C) y Tiempo de almacenamiento (D)

Nota. Elaboración propia.

Los tratamientos Arg-50 mM, Asc-0,50 %, Asc-1 % y Arg-25 mM, lograron mantener la firmeza o textura de corte significativamente más alta en comparación con el tratamiento control (Figura 2C), aumentado la conservación en este parámetro fisicoquímico, principalmente en los tratamientos Asc-1 % y Asc 0,50 % hasta los 21 días de almacenamiento a 10 °C y 70 %. El ácido ascórbico logro mantener la textura

del mango de manera eficiente durante los 21 días de almacenamiento, posiblemente por el bajo efecto osmodeshidratante que tiene la sustancia, lo que ayuda a la retención de sólidos solubles; este mismo conservante actúa disminuyendo el pH lo cual podría inhibir a los microorganismos causantes de degradación de azúcares, carbohidratos y sólidos que componen la fruta (Salsamendi *et al.*, 2013).

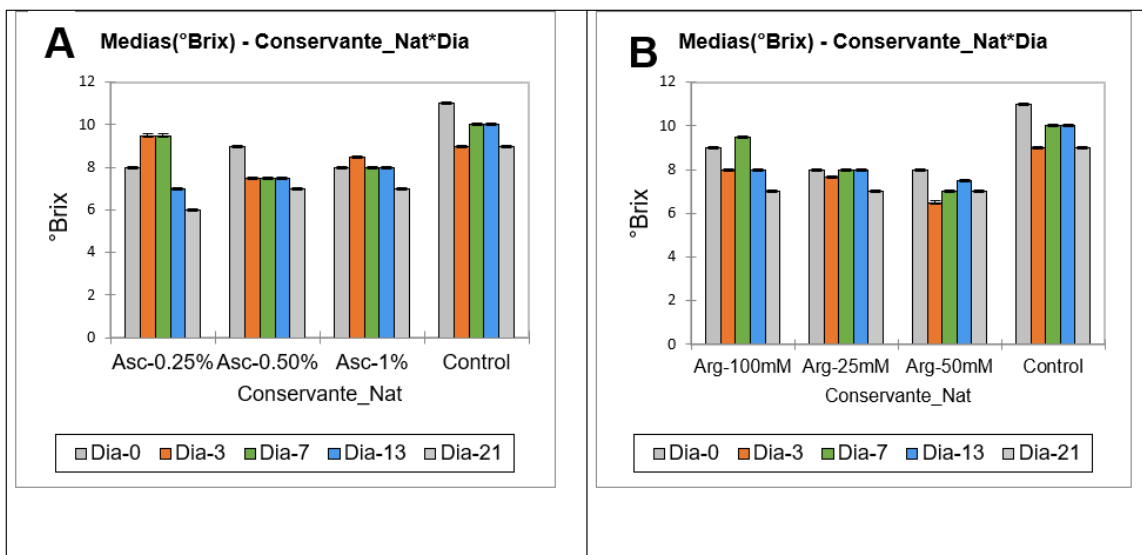


Figura 3

Efecto de las diferentes concentraciones de (A) Ácido Ascórbico (Asc) y (B) L-Arginina (Arg), en función de los °BRIX durante el tiempo de almacenamiento a 10 °C y 70 % HR

Nota. Elaboración propia.

Durante la evaluación del día 0 de almacenamiento se evidenció que los sólidos solubles (°Brix), disminuyeron en todos los tratamientos (8 - 9 °BRIX), con respecto al control que no fue sometido a ningún tipo de inmersión (11 °BRIX). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Zapata y Montoya (2012) quienes evaluaron la misma variedad con igual grado de madurez de las muestras. Por otra parte, los tratamientos donde no se evidenció una variación alta en los sólidos solubles de la fruta correspondieron a: Asc-1 %, y Arg-25 mM (Figura 3A y 3B).

Respecto a la pérdida de grados BRIX en las muestras procesadas de mango, se considera relacionado con las diluciones en la materia prima ocasionadas durante el proceso de

inmersión, incorporando agua con conservantes naturales a la matriz y afectando los sólidos solubles de los tratamientos que fueron sumergidos en las soluciones durante 2 minutos. A pesar de la disminución de sólidos solubles en el producto, la incorporación de ácido ascórbico en la matriz no afectó la textura del producto en esos tratamientos. En el tratamiento control también hubo una pérdida de sólidos solubles durante el almacenamiento, lo cual pudo deberse al rompimiento de estructuras celulares por procesos metabólicos y formación de lixiviados (Salsamendi *et al.*, 2013). Este comportamiento difiere al mango entero durante su proceso de maduración postcosecha, ya que al ser un fruto climatérico continúa con los procesos de maduración y aumenta sus grados BRIX después de la cosecha (Villamizar *et al.*, 2019).

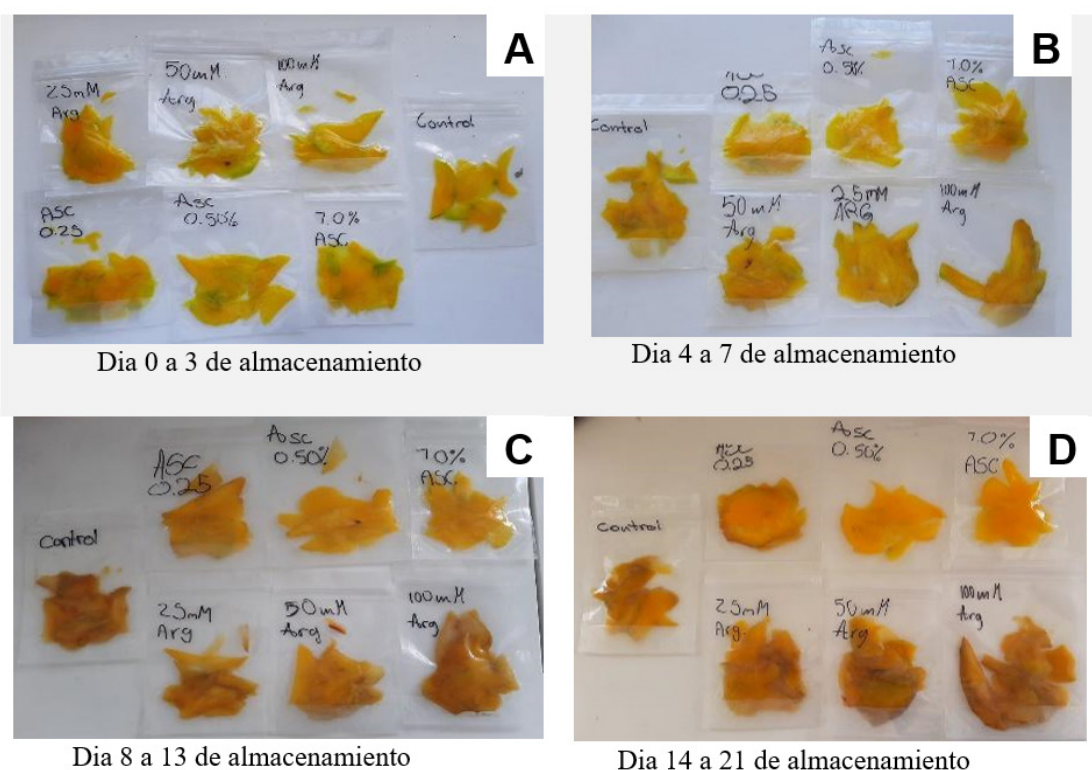


Figura 4

Esquema de Cambios de color en los 7 tratamientos evaluados, durante el almacenamiento del mango “Tommy Atkins” mínimamente procesado.

Nota. Elaboración propia.

Con respecto al color de los mangos mínimamente procesados, de manera visual se evidenció la conservación del color en los tratamientos Asc-1 % y Asc-0,50 %, durante los 21 días de almacenamiento que tardó el estudio (Figura 4D). El tratamiento Asc-0,25 % hasta los 13 días de almacenamiento logró mantener buenas características de color (Figura 4C), sin embargo, a los 21 días presentó coloración marrón y síntomas de oscurecimiento de la fruta en los bordes de las rodajas evaluadas. Por otra parte, evaluando los tratamientos con L-Arginina y su respectivo control, se evidencio una coloración marrón y lo que podría asociarse principalmente a los procesos de oxidación de la muestra analizada a partir de los 13 días de almacenamiento. Respecto a las propiedades de aroma y sabor el cambio fue notorio, lo cual se debe principalmente a la descomposición de los frutos (Figura 4C y D).

Durante el día 0 de almacenamiento los mangos mínimamente procesados mostraron en las coordenadas L* (blanco 100; negro 0) y

matices cromáticos a* (-a verde; + rojo) y b*(-b azul; + b Amarillo) un color de muestra amarillo claro por tener un valor de L* en 67,615 (mayor luminosidad) y valor positivo en b* de 56,352 (tonalidad amarilla). Al incrementar el tiempo de almacenamiento los valores de L* (luminosidad) y b* (amarillo) fueron disminuyendo de manera significativa ($p < 0,05$) (Figura 5 A y B)

Los tratamientos Arg-100 mM y Arg-50 mM fueron los que presentaron efectos significativos en el color ($p < 0,05$) con un croma (*C) o índice de saturación del color bajo a los 21 días de almacenamiento (Figura 5D). Los tratamientos de Ácido ascórbico, lograron mantener el color amarillo típico de esta variedad, sin diferencias estadísticamente significativas durante todo el estudio, en comparación con el tratamiento control (Figura 5C), esto puede deberse a que el ácido ascórbico es un compuesto eficiente en la inhibición del

pardeamiento enzimático reduciendo quinonas o componentes causantes del pardeamiento antes que reaccionen con el oxígeno para la

generación de pigmentos oscuros, en los frutos especialmente cortados (Salsamendi *et al.*, 2013).

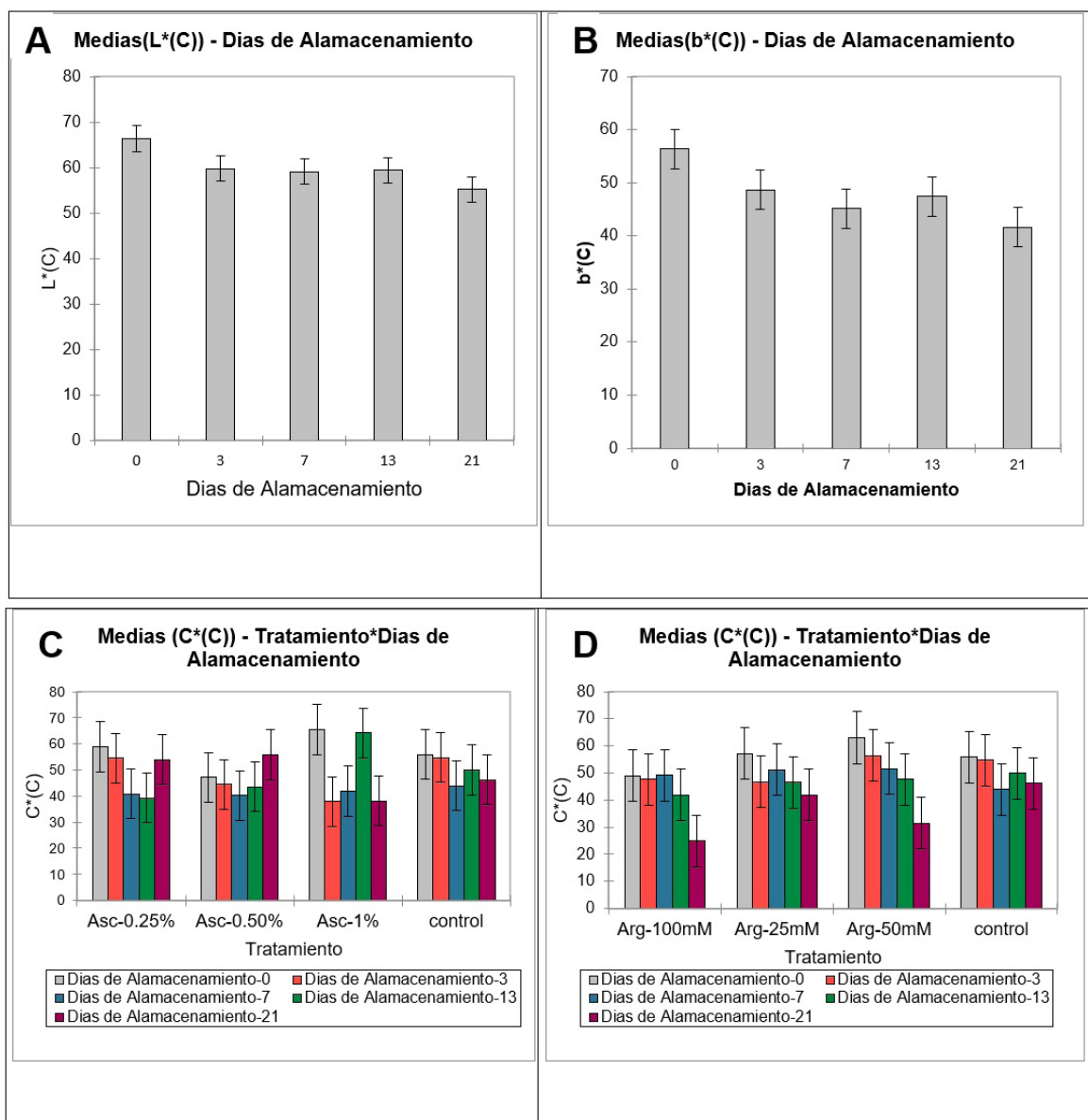


Figura 5

Valoración de medias estadísticamente significativas para el factor tiempo de almacenamiento sobre las coordenadas de color L^* (A) y b^* (B). Efecto de las diferentes concentraciones de Acido Ascórbico (Asc) (C) y L-Arginina (Arg) (D) en el croma o índice de saturación del color (C^*) en función del tiempo de almacenamiento a 10 A °C y 70 % HR del mango mínimamente procesado.

Nota. Elaboración propia.

Con el análisis de Delta E se observó al igual que en el índice de saturación, una disminución significativa de ΔE (ab) para la mayor concentración de L-Arginina (Arg-100 mM)

(Figura 6B), evidenciando que este aminoácido no inhibió los procesos de oscurecimiento de la fruta si no que por el contrario acelero su degradación. Esto difiere de los resultados

encontrados por Wills y Li (2016) para manzanas y lechuga mínimamente procesadas donde las concentraciones de 50 mM y 100 mM de L-arginina, aumentaron de manera respectiva, 15 veces y 2 veces más la vida útil de estos productos almacenados a 5 °C. De igual manera, evaluando de calidad postcosecha de la fresa entera, se obtuvo resultados satisfactorios con arginina a una concentración de 1 mM, sin embargo al mezclarla con L-arginina a 0,2 mM, la severidad de los daños en la fruta

aumentaron considerablemente (Shu *et al.*, 2020). Finalmente, cabe destacar la importancia de la evaluación de los conservantes naturales en diferentes materias primas, ya que las rutas de oxidación, trastornos o actividades metabólicas, así como las tasas de respiración de cada fruta, pueden afectar significativamente los procesos de degradación de los productos frescos o con mínimo proceso (Castellanos *et al.*, 2014; Meza, 2013; Rosas, 2011).

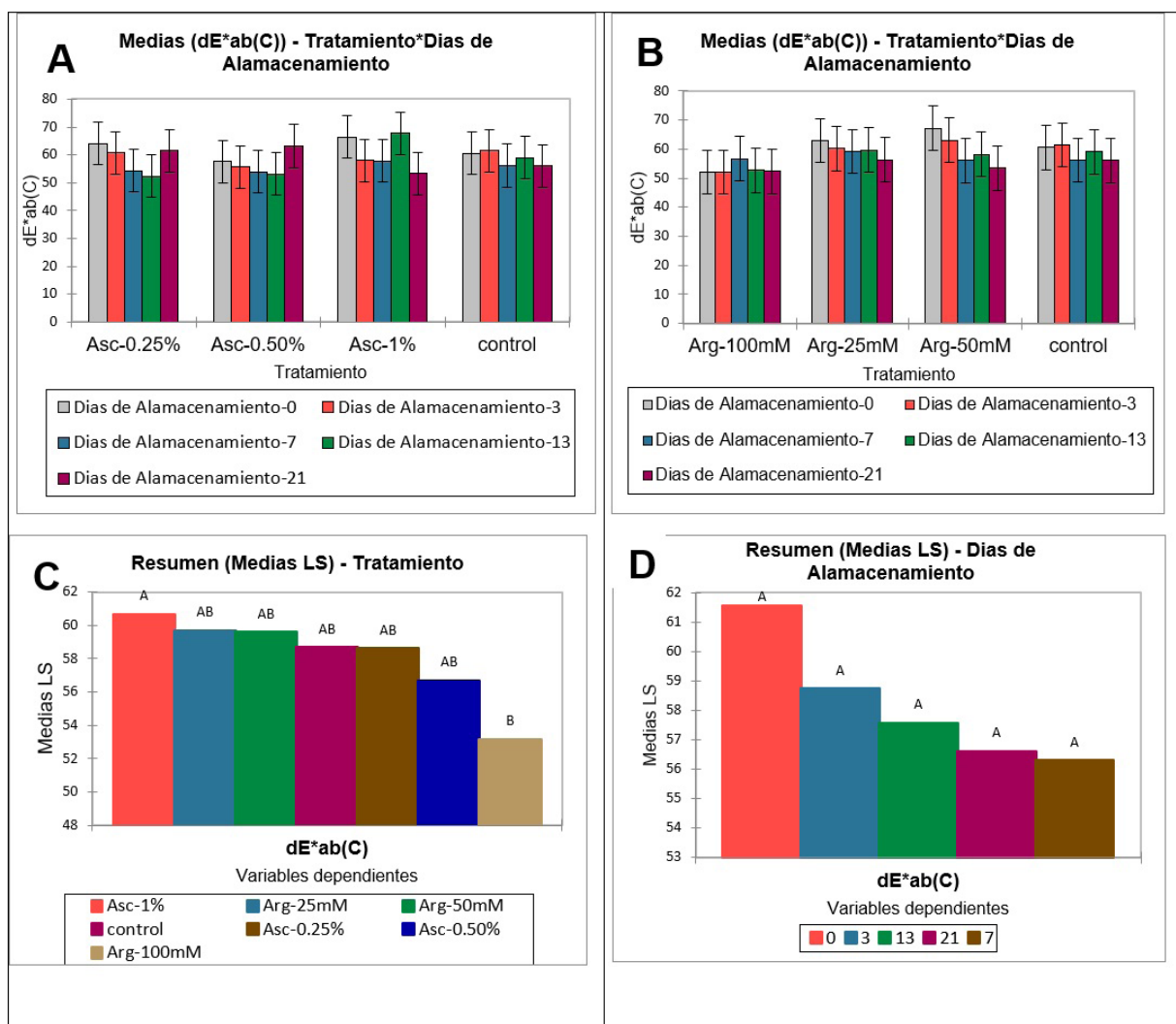


Figura 5

Efecto de las diferentes concentraciones de Ácido Ascórbico (Asc) (A) y L-Arginina (Arg) (B) en el Delta E o diferencia de color (ΔE) en función del tiempo de almacenamiento a 10 °C y 70 % HR del mango mínimamente procesado. Valoración de medias estadísticamente significativas para los factores tipo de conservante (C) y Tiempo de almacenamiento (D).

Nota. Elaboración propia.

Conclusiones

Los niveles de ácido ascórbico más efectivos para inhibir la pérdida de firmeza o textura de corte de mango "Tommy Atkins" mínimamente procesado, así como para controlar su pérdida de color corresponde a los tratamientos con Ácido ascórbico al 1 % y 0,50 %.

Para los tratamientos con la aplicación de diversas concentraciones de L-arginina, los efectos no fueron tan favorables en cuanto a prolongar la vida útil postcosecha del mango, ya que las mayores concentraciones de Arginina (50 mM y 100 mM), favorecieron la descomposición severa y cambios a nivel de coloración de este fruto procesado.

Se requiere seguir evaluando diferentes concentraciones de ácido ascórbico en torno a variables fisicoquímicas, sensoriales, funcionales y microbiológicas, ya que en este estudio la conservación de mango mínimamente procesado hasta los 21 días de almacenamiento fue positiva con este conservante natural.

Agradecimientos

El grupo de Semillero Tecnoacademia del Oriente Antioqueño TAO- Línea de Biotecnología, agradece a la Corporación de Investigación Agropecuaria AGROSAVIA por el préstamo de las instalaciones y equipos de laboratorio para todo el desarrollo y ejecución del estudio científico. Asimismo, al sistema de investigación del SENA, SENNOVA, otorgando a los estudiantes movilidad y financiamiento para el desarrollo de actividades experimentales.

Referencias

Agrupación Española de Servicios y Procesos Poscosecha. [AGRUPOST]. (02 de 07 de 2020), Beneficios de los recubrimientos y tratamientos poscosecha en la reducción de las pérdidas y desperdicio

de alimentos. https://www.poscosecha.com/es/noticias/beneficios-de-los-recubrimientos-y-tratamientos-poscosecha-en-la-reduccion-de-las-perdidas-y-desperdicio-de-alimentos/_id:80943/

Alvarado M, J. R. y Moreno A, L. A. (2012), Acuerdo de Competitividad Cadena Productiva del Mango en Colombia, Bogotá: Cadena Productiva del mango. <https://sioc.minagricultura.gov.co/Mango/Normatividad/004%20-%20D.C.%20-%20Acuerdo%20Competitividad%20Cadena%20Mango.pdf>

Alvis, A., García, C., y Dussán, S. (2016). Cambios en la textura y color en mango (Tommy Atkins) presecado por deshidratación osmótica y microondas. *Información Tecnológica*, 27(2), 31–38. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000200005>

Association of Official Analytical Chemist [AOAC]. (1990). *Official Methods of Analysis, Section 954.10*. Washington D. C, USA. <https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf>

Báez, M., Crisosto, G., Contreras, R., Wilkins, K., y Crisosto, C. (2018). Entendiendo el Rol de la Madurez Fisiológica y las Condiciones de Envío en la Calidad de Llegada del Mango. *Centro de Investigación En Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Culiacán*, 1–24.

Castellanos, D. A., Algecira, N. A., y Villota, C. P. (2014). Aspectos relevantes en el almacenamiento de banano en empaques con atmósferas modificadas. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*, 12(2), 114–134. <http://www.redalyc.org/pdf/813/81320900002.pdf>

Dak, M., Verma, R., y Jaaffrey, S., (2007). Effect of temperature and concentration on rheological properties of "Kesar" mango juice. *Food Engineering*, 80(1), 1011–1015. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.08.011>

Meza, J. (2013). *Aplicación de hidrogenofriamiento y una cubierta de Polímero al melón cantaloupe para disminuir su tasa de respiración y actividad enzimática*. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma De Nuevo León]. Repositorio Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://eprints.uanl.mx/3575/1/1080256802.pdf>

Oms-Oliu, G., (2008). *Alternativas de envasado de peras y melón frescos cortados en atmosfera modificada*. [Tesis, Universitat de Lleida]. Repositorio Universitat de Lleida. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/8381/Tg001de1.pdf>

Pristijono, P., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Vuong, Q. V., Stathopoulos, C. E., Jessup, A. J., & Golding, J. B. (2017). Use of low-pressure storage to improve the quality of tomatoes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(6), 583–590. <https://doi.org/10.1080/14620316.2017.1301222>

Ramírez Quirama, J. D., Aristizábal Torres, I. D., y Restrepo Fernández, J. I. (2013). Conservación de mora de castilla mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucilago de penca de sábila. *Vitae*, 20(3), 172–183. <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.13468>

Rodríguez, P., y Henao, J. (2016). Maduración del Aguacate (Persea Americana Mill. c.v Hass) y calidad de los Frutos. *Agronomía Colombiana*, 1(1), 914–917. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb>

Rosas, C. (2011). Contenido de compuestos bioactivos y su contribución a la capacidad antioxidante durante la maduración de piña cv. "Esmeralda." In Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/179/1/Rosas_Dominguez_2011_MC.pdf

Salsamendi, M., Pórtela, G., y Ponzio, N. (2013). Efecto de distintas concentraciones de sacarosa, miel y ácido ascórbico en la calidad sensorial y microbiológica de una mezcla de frutas cortadas. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (19), 35-44. Recuperado en 20 de Enero de 2023, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-75872013000100006&lng=es&tlng=es.

Shu, P., Min, D., Ai, W., Li, J., Zhou, J., Li, Z., Zhang, X., Shi, Z., Sun, Y., Jiang, Y., Li, F., Li, X., & Guo, Y. (2020). L-Arginine treatment attenuates postharvest decay and maintains quality of strawberry fruit by promoting nitric oxide synthase pathway. *Postharvest Biology and Technology*, 168 (June), 111253. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111253>

Villamizar-Vargas, R., Quiceno-Gómez, C., y Giraldo-Giraldo, G. (2019). Cambios fisicoquímicos durante la maduración del mango Tommy Atkins en la poscosecha. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* 22(1):e1159. <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1159>

Villanueva-Rodríguez, S. J. (2016). Introducción a la Tecnología del Mango. Primera Edición. (pp.1-13) Guadalajara: CIATEJ https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_5a42c3f240411.pdf

Wills, R. B. H., & Li, Y. (2016). Use of arginine to inhibit browning on fresh cut apple and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 66–68. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.11.006>

Zapata, J. E., y Montoya, A. (2012). Deshidratación osmótica de láminas de mango cv. tomy atkins aplicando metodología de superficies de respuesta. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín*, 65(1), 6507–6518. https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/23803/1/ZapataJose_2012_icaLaminasMangoMetodologiaSuperficiesRespuesta.pdf

Efectos de dos métodos fermentativos en cacao (*Theobroma cacao* L.) trinitario, inducido con *Rhizobium japonicum* para disminuir cadmio

Effects of two fermentative methods on cacao (*Theobroma cacao* L.) Trinitario, induced with *Rhizobium japonicum* to reduce cadmium

Jaime Fabián Vera–Chang^a  jverac@uteq.edu.ec

Juan José Reyes–Pérez^b  jreyes@uteq.edu.ec

Jorge Ismael Benavides–Vera^a  jbenavidesv@uteq.edu.ec

Frank Guillermo Intriago–Flor^b  frank.intriago@utm.edu.ec

Luis Humberto Vázquez–Cortez^b  lvazquez7265@utm.edu.ec

Maddela Naga–Raju^b  raju.maddela@utm.edu.ec

Kerly Estefanía Alvarado–Vásquez^b  kalvarado6940@utm.edu.ec

Víctor Lovani Castro–Triana^c  victorcastror2019@gmail.com

^aUniversidad Técnica Estatal de Quevedo

^bUniversidad Técnica de Manabí

^cUniversidad de Guayaquil

Recibido: 05/01/2023 Aceptado: 22/06/2023

Citar, APA: Vera–Chang, J. F., Benavides–Vera, J. I., Vázquez–Cortez, L. H., Alvarado–Vásquez, K. E., Reyes–Pérez, J. J., Intriago–Flor, F. G., Naga–Raju, M. y Castro–Triana, V. L. (2023). Efectos de dos métodos fermentativos en cacao (*Theobroma cacao* L.) trinitario, inducido con *Rhizobium japonicum* para disminuir cadmio. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (1), 95–106. <https://doi.org/10.23850/24220582.5460>

Resumen En el mundo se producen 7,5 millones de toneladas de chocolate, y el 64 % se consume como chocolate relleno. En el año 2012, la Unión Europea indicó los niveles de cadmio no debían superar los 0,8 mg kg⁻¹ en productos con una base de pasta de cacao del 70 %. El propósito de esta investigación fue evaluar la efectividad de *Rhizobium japonicum* en la disminución de cadmio presente en semillas de cacao. Por lo cual, se aplicó tres concentraciones de *Rhizobium japonicum* 0 ml, 300 ml y 600 ml por cada dos kilos de masa fresca de cacao variedad Trinitario, para la fermentación se aplicó dos métodos por Rohan y hieleras en dos fincas (Los Ríos y Guayas). Se utilizó un diseño completamente al Azar Trifactorial (12 tratamientos y 2 repeticiones), evaluándose 24 semillas en total, las variables de calidad en la semilla evaluadas fueron: pH, temperatura, porcentaje de fermentación, índice de semilla, prueba de testa y cotiledón. El análisis sensorial se determinó mediante un panel de catadores semientrenados, para el análisis de cadmio se realizó con digestión ácido nítrico perclórica por espectrometría de ICP OES. Durante la fermentación existió un aumento creciente del pH (3,6 – 4,2), temperatura (27 – 40,2 °C), el índice de semilla presentó el mayor promedio en el T5 (1,65 g), el contenido de cadmio disminuyó en un 79 %, por el método de fermentación en hieleras en la provincia de Los Ríos y un 78 %, por el método de fermentación en cajas Rohan en la provincia del Guayas. *Rhizobium japonicum* puede considerarse una especie potencial para disminuir cadmio en la almendra de cacao cultivado por encima de los niveles permisibles.

Palabras clave: Normativa, microorganismo, perfil sensorial, análisis, metales pesados, concentraciones.

Abstract 7.5 million tons of chocolate are produced worldwide, and 64 % is consumed as filled chocolate. In 2012, the European Union indicated cadmium levels should not exceed 0,8 mg kg⁻¹ in products with a cocoa paste base of 70 %. The goal in this research was to evaluate the effectiveness of *Rhizobium japonicum* in decreasing cadmium present in cocoa beans. Therefore, three concentrations of *Rhizobium japonicum* 0 ml, 300 ml and 600 ml were applied for every two kilos of fresh mass of Trinitario cocoa, for fermentation two methods were applied by Rohan and coolers in two farms (Los Ríos and Guayas). She used a completely random Trifactorial design (12 treatments and 2 repetitions), evaluating 24 seeds in total, the quality variables in the seed evaluated were: pH, temperature, percentage of fermentation, seed index, test of testa and cotyledon. The sensory analysis was determined by a panel of semi-trained tasters, for the analysis of cadmium was performed with perchloric nitro acid digestion by spectrometry of ICP OES. During fermentation there was an increasing increase in pH (3,6 – 4,2), temperature (27 – 40,2 °C), the seed index showed the highest average in T5 (1,65 g), cadmium content decreased by 79 %, by the method of fermentation in rows in the province of Los Ríos and 78 %, by the method of fermentation in Rohan boxes in the province of Guayas. *Rhizobium japonicum* can be considered a potential species to decrease cadmium in cocoa almond grown above permissible levels.

Keywords: Regulations, microorganism, sensory profile, analysis, heavy metals, concentrations.

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.), es considerado una especie arbórea de gran importancia, ya que su fruto suele emplearse como materia prima en el sector industria. La pepa de oro, como también se le conoce es un fruto tropical que se cultiva principalmente en el litoral y en la amazonia, siendo esta actividad el sustento de familias que se dedican principalmente a su cultivo (Cruz y Pereira, 2019).

A nivel de producción en Ecuador, su cultivo está ligado principalmente a las provincias de Los Ríos, Guayas, Esmeraldas, Manabí, El Oro y Sucumbíos. Ecuador, es considerado el tercer exportador de cacao a nivel mundial (Abad *et al.*, 2020). Siendo la calidad de su cacao apetecible por sus notas sensoriales que lo hace diferente a otros tipos de cacao del mundo (Alvarado *et al.*, 2022).

Actualmente, existe una problemática que afecta sobre todo a los pequeños y medianos agricultores, la cual está relacionada con el contenido de metales pesados en la semilla, hecho que puede darse de forma Natural o Antropogénica, En este sentido, el agricultor suele realizar prácticas que ayudan a disminuir estos metales pesados pero en largo plazo, la aplicación de *Rhizobium Japonicum* en la poscosecha de cacao en la masa fermentativa mejorará el proceso fermentativo además de potenciar la calidad del grano y disminuir la presencia de metales pesados según lo permitido de la Unión Europea 0,80 mg/kg de cadmio (Vásquez *et al.*, 2022), este efecto rápido disminuyendo el tiempo de fermentación un método viable a diferencia de la utilización de enmiendas.

Según Abad *et al.* 2019 en Ecuador es posible evidenciar concentraciones altas de cadmio asociadas a las provincias de Manabí, Esmeraldas, Guayas y El Oro, ya que sus localidades presentan trazas altas de este metal.

La importancia de este trabajo de investigación es potenciar la calidad de granos fermentados y el producto final como un chocolate destacando sus propiedades organolépticas no obstante en investigaciones previas el *Rhizobium Japonicum* se ha realizado la inducción en masa fermentativa en variedad de cacao Nacional y Trinitario. Además, de mejorar la calidad organoléptica y fermentativa en híbridos de cacao, su actividad no afecta el producto final al contrario mejora sus cualidades sensoriales.

El árbol de cacao por su naturaleza tiene la facilidad de absorber metales pesados como el cadmio, plomo y arsénico, finalmente estos elementos se dirigen al fruto penetrando en la testa y llegando al cotiledón. Este hecho biológico, puede considerarse una desventaja a nivel productivo ya que el fruto es la base para la elaboración del chocolate. Por lo cual, en la presente investigación se propone inducir *Rhizobium japonicum* en la masa fermentativa de los granos de cacao, con lo cual se espera disminuir la presencia de este metal pesado en la semilla mejorando la calidad de los granos y minimizar esta problemática a corto plazo, finalmente se espera impulsar en los agricultores la implementación de esta metodología de remediación y así lograr que se acojan a los estándares del Reglamento 2021/1323 que menciona los límites permisibles de 0,80 mg/kg de cadmio (Comisión Europea, 2021).

Materiales y métodos

Área de estudio

La investigación se realizó en dos puntos de muestreo: la Finca “2 Hermanos” localizada en el recinto Fruta de Pan en el km 14 vía San Carlos, Provincia de Los Ríos, situada geográficamente en $-1,124961^{\circ}$ de latitud Sur y $-79,345739^{\circ}$ de longitud Oeste. La segunda zona donde se extrajeron las almendras de cacao fresco fue en la Hacienda Campo de Valores localizada en Cerecita, Bajada de progreso, Provincia del Guayas, situación geográfica S 02.34601° de latitud Sur y $080,22193^{\circ}$ de longitud Oeste.

Proceso de post cosecha

Al momento de cosechar las mazorcas de cacao se consideró aquellas que se encontraron en su grado fisiológico de maduración, evitando las mazorcas enfermas.

Despulpado

Una vez colectadas, a cada mazorca se le realizó un corte transversal para extraer el grano “despulpado”, posteriormente las almendras frescas de cacao se depositaron en recipientes separados. Se empleó 2 kg por cada tratamiento, en la caja micro - fermentadora.

Fermentadores

El proceso de fermentación se realizó con ayuda de dos métodos, el primero utilizando caja Rohan (micro - fermentación) con capacidad de 16 cavidades, de los cuales 12 pertenecen a la presente investigación utilizando 24 kg de almendras de cacao, mientras que para el segundo se utilizó 3 hieleras plásticas con capacidad 100 kg de cacao fresco, pero se colocarán 6 sub-muestras en cada hielera plástica dependiendo de la inducción. Cada separación puede contener 2 kg de granos de cacao fresco, el tiempo que se utilizó fue de 5 días, durante los días de fermentación, donde se observó las diferentes variaciones y reacciones que sufren las almendras durante el proceso antes mencionado, para este proceso se determinó evaluar las diferentes variables de estudio.

Inducción de *Rhizobium japonicum*

Se realizó la inducción de *Rhizobium japonicum* a la masa fresca de cacao dependiendo de los arreglos del experimento, con las dosis para cada objeto de estudio fue al 15 % y 30 % estas aplicaciones permiten acelerar el drenaje del mucílago y a su vez determinar el nivel de reducción de cadmio.

Remociones

Se realizó la remoción pasada las primeras 24 horas y a las 48 horas después de la inducción para que exista la activación del microorganismo y se efectuó en la masa fermentativa. remociones durante el periodo de fermentación, utilizando cajas micro - fermentadoras con las siguientes dimensiones 120*80*10 cm con capacidad de 48 kg de cacao fresco, para la fermentación en hielera plásticas con las siguientes dimensiones 120*60*20 cm con capacidad de 100 kg de cacao fresco aproximadamente, se controló la temperatura durante este periodo.

Temperaturas de fermentación

Se procedió a realizar la toma de temperaturas diariamente durante 5 días, lo ideal es que se eleve la temperatura progresivamente no superior a los 50 °C afectando propiedades de las almendras tanto físicas como biológicas.

Determinación de pH

Para la determinación del pH se utilizó 10 gramos de almendras de las cuales son triturados y luego se diluyen en 90 ml de agua destilada. Este proceso se repite para los objetos estudiados, durante 5 días, de esta manera se obtuvo los datos con ayuda de un pH-metro de la marca pH-meter de rango 0,00 - 14,00.

Secado

Se procedió a realizar un secado directo al sol con remociones constantes para un secado uniforme, hasta conseguir 7 % de humedad (Dubón, 2016).

Variables a evaluar

Índice de semilla

Se procedió a escoger al azar 100 almendras de cacao fermentadas y secas las cuales fueron pesadas en gramos en una balanza analítica y promediadas. Se utilizó la siguiente Ecuación:

Ecuación 1. Índice de semilla.

$$IS = \frac{\text{Peso en gramos de 100 almendras de cacao fermentadas y secas}}{100}$$

Prueba de testa y cotiledón

Se realizó por medio de peso de una cantidad considerada de almendras de cacao que son 30 granos de cacao fermentado y seco y de esta manera poder obtener el porcentaje mediante la aplicación de la siguiente Ecuación:

Ecuación 2. Prueba de testa y cotiledón.

$$\% \text{ de testa} = \frac{(\text{Peso de la testa})}{\text{Peso de 30 almendras de cacao}} * 100$$

Análisis Sensorial

Se procedió a tomar 20 gramos de cada muestra, cada evaluador se encarga de verificar si existe un efecto de mejoramiento en las propiedades organolépticas de precursores de sabor y aroma y los análisis se presentarán en gráfico de componentes principales (Silva *et al.*, 2012).

Determinación de contenido de cadmio

Los análisis de cadmio se realizaron en el laboratorio de la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL) ubicado en la ciudad de Guayaquil. Las muestras fueron colocadas en una estufa, por 48 h, con el fin de eliminar cualquier vestigio de humedad. Posteriormente, las muestras secas fueron puestas en una licuadora industrial para pulverizar los granos. Una fracción de los granos pulverizados (~500 mg), fue mezclada con una proporción de 6:1 de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, respectivamente.

Tabla 1

Estructura ANDEVA

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Fuente de Variación	(i*f*z)-1	11
Tratamientos	(i-1)	2
Factor de Inducción	(f-1)	1
Factor Fermentadores	(z-1)	1
Factor Zonas	(i-1)(f-1)	2
Int. Inducción Fermentadores	(f-1)(z-1)	1
Int. Fermentadores*Zonas	(i-1)(z-1)	2
Int. Inducción*Zonas	(i-1)(f-1)(z-1)	2
Int. Inducción*Fermentadores*Zonas	(i*f*z)(r-1)	12
Error Experimental	(i*f*z*r)-1	23
Total	(i*f*z*r)-1	23

Las muestras fueron colocadas en un digestor abierto a una temperatura de 70 °C por 24 H para obtener el digesto se analizado mediante Espectroscopía de Emisión Óptica de Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES, por sus siglas en inglés).

Diseño estadístico

En la presente investigación se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) Trifactorial con doce tratamientos y dos repeticiones. Como primer factor de inducción se consideró la especie *R. japonicum* (0, 300 y 600 ml) utilizando una muestra de dos kilos de masa fermentativa, el segundo factor se atribuyó a los fermentadores de cacao (Cajas de Maderas, Cooler box), y como tercer factor se consideró las dos zonas de estudio (Los Ríos y Guayas), **Tabla 2 y 3** (Melo *et al.*, 2020).

Diseño experimental

El diseño experimental o el arreglo de los tratamientos empleados correspondió a un Diseño completamente al azar D.C.A (**Tabla 1**), mientras que para el análisis de los datos se utilizó el ANOVA y en caso de significancia estadística para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con $p \leq 0,05$.

Tabla 2

Factores y niveles en estudio

Grados de Libertad		Factores fermentadores		Factor zona
Niveles	i0,0 %	Niveles	f1	z1
	i15 %		f2	z2
	i30 %			

Nota. La tabla 2 muestra los factores y niveles que se emplearon en la presente investigación.

Tabla 3

Arreglos de tratamientos

Nº	Código	Descripción
1	i0,f1.z1	Inducción al 0 % fermentación en madera en La zona de Los Ríos. (Testigo)
2	i0,f1.z2	Inducción al 0 % fermentación en madera en La zona de Guayas. (Testigo)
3	i0,f2.z1	Inducción al 0 % fermentación en hielera en La zona de Los Ríos. (Testigo)
4	i0,f2.z2	Inducción al 0 % fermentación en hielera en La zona de Guayas. (Testigo)
5	i1,f1.z1	Inducción al 15 % fermentación en madera en La zona de Los Ríos.
6	i1,f1.z2	Inducción al 15 % fermentación en madera en La zona de Guayas.
7	i1,f2.z1	Inducción al 15 % fermentación en hielera en La zona de Los Ríos.
8	i1,f2.z2	Inducción al 15 % de fermentación en hielera en La zona de Guayas.
9	i2,f1.z1	Inducción al 30 % fermentación en madera en La zona de Los Ríos.
10	i2,f1.z2	Inducción al 30 % de fermentación en madera en La zona de Guayas.
11	i2,f2.z1	Inducción al 30 % de fermentación en hielera en La zona de Los Ríos.
12	i2,f2.z2	Inducción al 30 % de fermentación en hielera en La zona de Guayas.

Nota. En la tabla 3, se presentan los arreglos de los tratamientos el número, código y descripción.

Resultados y discusión

Temperatura (°C)

Se pudo observar el efecto ascendente de la temperatura partiendo de 24,9 °C al inicio del experimento, alcanzando un promedio de 43,5 °C, a las 120 horas de culminando el proceso fermentativo. (Tabla 4)

Potencial de hidrógeno (pH)

En la variable pH, se obtuvo un valor inicial de 3,9, una vez culminado el periodo de fermentación alcanzo un pH de 4,51 (Tabla 5).

Índice de semilla y porcentaje de testa

En la Tabla 6, se presenta el análisis de varianza para el índice de semilla. Según el ANOVA se

observan diferencias significativas siendo el mayor promedio el T5 (Inducción al 15 % empelando el método fermentación en madera en la zona Los Ríos). Estadísticamente el T5 difiere con el T4 (Inducción al 0 % empelando el método fermentación en hielera plásticas en la zona Guayas (Testigo) con una media de 1,51 y un CV (%) de 5,04.

Cadmio

En la tabla 7 se presenta el análisis factorial que refleja significancia estadística ($p \leq 0,05$) valor en cadmio para la prueba de Tukey. En la zona Los Ríos la fermentación en cajas de Rohan disminuyo de (1,39 – 0,80 mg/kg) cumpliendose con los estandares de la “Unión Europea”, para este método. La fermentación en hielera plástica fue de (3,29 – 0,69 mg/kg), cumpliendo con la

normativa. Para la provincia de Guayas los valores obtenidos en las cajas Rohan fue de (4,06 – 0,86 mg/kg) y en hielera correspondió a (4,02 – 1,02

mg/kg), con promedio de 2,05 y coeficiente de variación 15,35 y Error estándar 0,27.

Tabla 4

Valores de temperatura (°C) registrados durante el proceso fermentativo con aplicación del Rhizobium japonicum.

Tratamiento	Temperatura				
	Día1	Día2	Día3	Día4	Día5
1	24,60	28,30	30,50	33,50	39,00
2	22,40	27,10	30,50	33,50	38,50
3	28,30	27,90	31,50	34,00	38,00
4	25,40	28,40	32,50	34,00	38,00
5	24,40	29,50	34,50	36,50	44,50
6	25,70	31,50	35,00	37,00	46,00
7	24,10	33,20	35,00	37,00	46,60
8	22,90	33,00	36,00	37,50	46,50
9	26,60	34,50	36,50	37,50	46,50
10	25,60	34,00	37,00	38,50	47,50
11	24,90	34,50	37,00	39,00	44,60
12	24,70	34,00	37,50	39,50	46,60
Promedio	24,97	31,33	34,46	36,46	43,53
CV (%)	3,21	3,11	3,90	3,19	2,17
E.E	0,75	0,88	1,10	1,19	1,20

Nota. Elaboracion propia

Tabla 5

Valores de potencial de hidrogeno pH registrados durante el proceso fermentativo con aplicación del Rhizobium japonicum

Tratamiento	pH				
	Día1	Día2	Día3	Día4	Día5
1	3,90	4,00	4,10	4,10	4,22
2	3,90	4,00	4,15	4,20	4,30
3	3,90	4,00	4,15	4,10	4,10
4	3,95	4,00	4,10	4,20	4,25
5	3,90	4,10	4,25	4,35	4,44
6	3,90	4,11	4,23	4,44	4,54
7	3,90	4,10	4,23	4,43	4,62
8	3,90	4,20	4,25	4,45	4,54
9	3,95	4,20	4,30	4,34	4,55
10	3,90	4,10	4,30	4,43	4,66
11	3,90	4,25	4,30	4,42	4,60
12	3,90	4,25	4,30	4,35	4,75
Promedio	3,91	4,11	4,22	4,32	4,51
CV (%)	3,01	3,44	3,10	4,10	3,17
E.E	0,99	0,54	0,88	0,79	1,33

Nota. Elaboracion propia

Tabla 6

Valores promedio registrado para índice de semilla (IS) y porcentaje de testa (Testa %) en el estudio de Efectos de dos métodos fermentativos en cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad de origen Trinitario, inducido con microorganismos

Tratamiento	Índice de Semilla (g)				Testa (%)	
1	1,54	a	b	c	14,13	a
2	1,47	a	b	c	14,85	a
3	1,64	a	b		14,00	a
4	1,30			c	13,94	a
5	1,65	a			14,07	a
6	1,40	a	b	c	13,39	a
7	1,63	a	b		12,10	a
8	1,41	a	b	c	9,88	a
9	1,61	a	b		15,57	a
10	1,34		b	c	15,39	a
11	1,64	a	b		12,08	a
12	1,44	a	b	c	11,92	a
Promedio	1,51				13,44	
CV (%)	5,04				17,88	
E.E	0,05				1,70	

Nota. Elaboracion propia

Tabla 7

Valores promedios registrado para Cadmio (Cd) en el estudio de efectos de dos métodos fermentativos en cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Trinitario, inducido con microorganismos eficientes en la disminución de cadmio

Tratamiento	Detalles	Cd			
1	Inducción al 0 % fermentación en cajas Rohan, en Los Ríos. (Testigo)	1,36		c	a
2	Inducción al 0 % fermentación en cajas Rohan en Guayas. (Testigo)	4,06	a	b	a
3	Inducción al 0 % fermentación en hielera en Los Ríos. (Testigo)	3,29		c	a
4	Inducción al 0 % fermentación en hielera en Guayas. (Testigo)	4,02	a	b	a
5	Inducción al 15 % fermentación en cajas Rohan en Los Ríos.	0,83		c	a
6	Inducción al 15 % fermentación en cajas Rohan en Guayas.	2,64	a	b	a
7	Inducción al 15 % fermentación en hielera en Los Ríos.	2,39		c	a
8	Inducción al 15 % de fermentación en hielera en Guayas.	2,65	a		a
9	Inducción al 30 % fermentación en madera en Los Ríos.	0,80		c	a
10	Inducción al 30 % de fermentación en madera en Guayas.	0,86		b	a
11	Inducción al 30 % de fermentación en hielera en Los Ríos.	0,69		c	a
12	Inducción al 30 % de fermentación en hielera en Guayas.	1,02	a		a
Promedio		2,05			
CV (%)		15,35			
E.E		0,27			

Nota. Elaboracion propia

Porcentaje de fermentación

En la **Tabla 8**, se indica el análisis físico de prueba de corte donde se observó que existe incremento de almendras bien fermentadas en cuanto a la adición de *Rhizobium japonicum* durante el proceso de fermentación, no existió significancia estadística, según Tukey ($p \leq 0,05$), obteniendo un promedio general 49,17 mientras el Coeficiente de variación 11,64 y Error estándar 4,05.

Según el ANOVA el valor de medianamente fermentadas no se evidencio diferencia significativa entre tratamientos según Tukey ($p \leq 0,05$), con promedio general 31,74; Coeficiente de variación 20,73 y Error estándar 4,65.

De acuerdo con el análisis de varianza, la variable fermentación total, el análisis estadístico no presentó significancia estadística entre tratamientos según Tukey ($p \leq 0,05$), con promedio general de 80,92, coeficiente de variación igual a 7,89, error estándar de 4,51. Considerando las normas INEN 076 2018, es un grano cacao Superior Selecto (C.S.S)

Análisis de componentes principales

Es posible observar en la **Tabla 9** el estudio de prueba sensorial. Según al análisis de componentes de varianza evaluando el atributo

“aroma cacao” los tratamientos T2 (Inducción al 0 % fermentación en madera en Guayas. (Testigo)), obtuvieron el mayor perfil a sabor floral. Dado por un porcentaje igual al 53,3 %.

El atributo sensorial floral agrupa los tratamientos: T1 (Inducción al 0 % fermentación en madera en Los Ríos. (Testigo)), el T7 (Inducción al 15 % fermentación en hielera en Los Ríos), T8 (Inducción al 15 % de fermentación en hielera en Guayas), T5 (Inducción al 15 % fermentación en madera en Los Ríos), T9 (Inducción al 30 % fermentación en madera en Los Ríos), respectivamente en los atributos frutales/sabor cacao/ sabor nuez dentro del grupo de los denominado arriba, con acentos a sabor a cacao T10 (Inducción al 30 % de fermentación en madera en Guayas).

Los tratamientos que presentaron atributos frutales fueron T11 (Inducción al 30% de fermentación en hielera en Los Ríos) con sabor a cacao moderado, el vigor fuerte de Astringencia lo presenta T3 (Inducción al 0 % fermentación en hielera en Los Ríos. (Testigo) el amargor moderado presentó el T12 (Inducción al 30 % de fermentación en hielera en Guayas), T4 (Inducción al 0 % fermentación en hielera en Guayas. (Testigo) con tonalidades y roma nuez/aroma fruta/aroma cacao, como podemos observar en la **Figura 1**.

Tabla 8

Valores promedios registrados para bien fermentadas, medianamente fermentadas, fermentación total en el estudio de efectos de dos métodos fermentativos en cacao Trinitario, inducido con microorganismos

Tratamientos	Bien fermentadas		Medianamente fermentadas		Fermentación Total		NTE INEN 0176 2018
1	51,50	a	35,50	a	87,0	a	C.S.S
2	51,50	a	31,00	a	82,5	a	C.S.S
3	50,50	a	32,50	a	83,0	a	C.S.S
4	52,00	a	31,50	a	83,5	a	C.S.S
5	48,50	a	32,50	a	81,0	a	C.S.S
6	48,00	a	27,50	a	75,5	a	C.S.S
7	45,00	a	30,00	a	75,0	a	C.S.S
8	47,00	a	32,50	a	79,5	a	C.S.S
9	52,00	a	34,00	a	86,0	a	C.S.S
10	56,50	a	22,50	a	79,0	a	C.S.S

Tratamientos	Bien fermentadas		Medianamente fermentadas		Fermentación Total		NTE INEN 0176 2018
11	42,00	a	38,50	a	80,5	a	C.S.S
12	45,50	a	33,00	a	78,5	a	C.S.S
Promedio	49,17		31,75		80,92		
CV (%)	11,64		20,73		7,89		
E.E	4,05		4,65		4,51		

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Cacao Superior Selecto (C.S.S).

Tabla 9

Análisis de componentes principales correspondiente a la prueba sensorial de propiedades organolépticas

Có-digo	Re-peti-ción	Trata-mien-to	Aro-ma cacao	Aro-ma floral	Aro-ma frutas	Aroma nuez	Dul-zor	Tex-tura	Astrin-gencia	Sabor cacao	Sabor nuez	Sabor Acido	Sabor frutal	Sabor floral
R1.i0.f1.z1	I	1	0,75	0,35	0,35	1,50	1,00	2,50	2,50	1,25	2,00	0,90	0,35	0,20
R1.i0.f1.z2	I	2	1,80	3,00	1,00	0,20	0,00	0,30	1,80	0,00	1,00	0,10	1,00	3,00
R1.i0.f2.z1	I	3	4,00	1,00	2,00	1,75	1,50	2,50	1,25	3,00	2,10	0,90	0,75	0,35
R1.i0.f2.z2	I	4	2,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	2,00	1,00	0,00	1,00	0,30
R1.i1.f1.z1	I	5	2,00	1,00	0,50	0,40	0,00	0,70	2,40	0,80	1,00	2,00	0,50	1,00
R1.i1.f1.z2	I	6	3,00	2,00	1,00	1,00	2,00	1,00	1,00	3,00	1,00	2,00	1,00	1,00
R1.i1.f2.z1	I	7	1,00	1,25	0,35	2,50	0,90	2,25	1,90	1,75	2,50	1,85	0,20	0,20
R1.i1.f2.z2	I	8	1,00	0,00	0,00	1,00	2,00	0,10	2,00	2,00	0,00	0,10	1,00	2,00
R1.i2.f1.z1	I	9	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	4,00	0,00	0,30	0,00	1,00
R1.i2.f1.z2	I	10	1,00	0,00	1,00	3,00	0,00	0,10	0,00	3,00	3,00	0,30	0,00	1,50
R1.i2.f2.z1	I	11	1,50	0,50	0,00	1,00	0,20	0,40	0,80	3,00	4,00	0,10	0,00	0,50
R1.i2.f2.z2	I	12	1,00	0,00	0,00	1,00	2,00	0,10	3,00	3,00	2,00	0,80	0,00	0,20
R2.i0.f1.z1	II	13	2,00	1,00	0,00	1,10	0,20	0,10	1,00	2,00	2,00	0,80	0,00	3,00
R2.i0.f1.z2	II	14	2,00	2,00	0,00	2,00	1,00	1,00	1,00	2,00	2,00	1,00	0,00	3,00
R2.i0.f2.z1	II	15	4,00	2,00	3,00	2,00	0,00	2,00	4,00	3,00	1,00	1,00	1,00	0,20
R2.i0.f2.z2	II	16	2,50	0,60	1,25	2,25	1,00	1,00	2,25	3,00	2,75	1,00	0,35	0,20
R2.i1.f1.z1	II	17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,10	3,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00
R2.i1.f1.z2	II	18	2,25	1,00	0,25	3,50	0,75	1,75	1,00	1,25	2,75	1,00	0,90	1,50
R1.i1.f2.z1	II	19	0,60	0,00	0,00	0,30	0,00	0,01	2,54	2,00	4,00	0,30	0,00	0,00
R2.i1.f2.z2	II	20	1,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,20	0,00	1,50	2,00	0,10	0,00	0,00
R2.i2.f1.z1	II	21	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	4,00	0,00	0,30	0,00	1,00

Có- digo	Re- peti- ción	Trata- mien- to	Aro- ma cacao	Aro- ma floral	Aro- ma frutas	Aroma nuez	Dul- zor	Tex- tura	Astrin- gencia	Sabor cacao	Sabor nuez	Sabor Acido	Sabor frutal	Sabor floral
R2.i2. f1.z2	II	22	1,00	0,00	1,00	3,00	0,00	0,10	0,00	3,00	3,00	0,30	0,00	1,50
R2.i2. f2.z1	II	23	2,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,10	1,00	1,00	2,00	0,20	0,40	2,00
R2.i2. f2.z2	II	24	2,50	0,65	0,95	3,00	1,75	1,00	0,50	1,25	2,75	0,50	0,50	0,20

Nota. Elaboración propia.

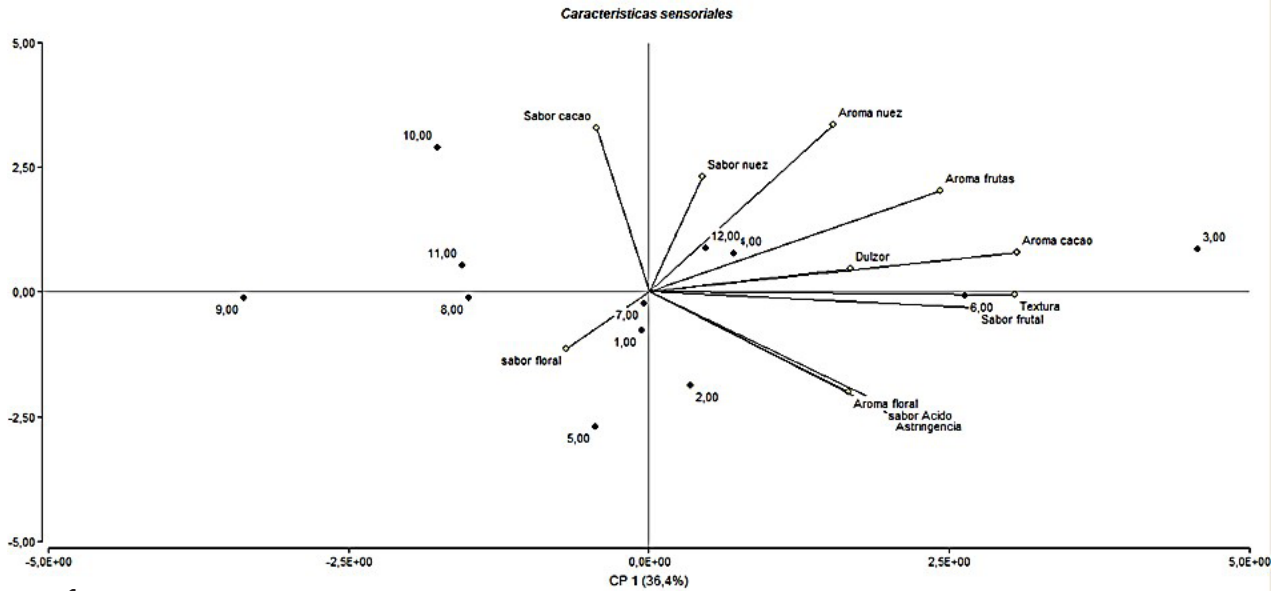


Figura 1

Análisis de componentes principales del proceso de fermentación inducidas con Rhizobium japonicum.

Nota. Elaboración propia.

En cuanto a lo encontrado en la evaluación de los efectos de dos métodos fermentativos en cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad de origen trinitario, inducido con *Rhizobium Japonicum* en la disminución de cadmio, en donde el proceso de fermentación se alcanzó a los 42 °C siendo esta la temperatura más alta registrada, guarda relación con lo reportado por (Dubón, 2016), en su investigación realizada en Brasil quienes concluyeron que la temperatura no debe ser superior 51°C lo cual afectaría a la calidad del grano por una sobre fermentación, según (Vásquez *et al.*, 2022) indica que realizando la aplicación de *Rhizobium Japonicum* en la masa fresca de las almendras de cacao mejora la calidad y cualidades del grano ayudando a elevar de manera paulatinamente la temperatura, La diferencia marcada entre las temperaturas de fermentación

alcanzadas en las dos investigaciones se debe principalmente a que corresponden a zonas geográficas distintas (Galvis y Rodríguez, 2022). Palma *et al.* 2021 afirman que, las diferencias de temperaturas durante la fermentación de las almendras de cacao a partir de las 48 horas tienen relación directa con los valores de pH de la testa y el cotiledón.

Alvarado *et al.* 2022, mencionan en su estudio que la utilización de microorganismos como la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) ayuda a incrementar la temperatura de una manera no tan acelerada para que pueda existir un proceso químico y se cumplan las tres fases de la fermentación la fermentativa, la acética y oxidativa.

Según Vargas *et al.* (2008) en la investigación realizada en la parroquia San Carlos, el proceso de fermentación culminó a las 120 horas se obtuvo un pH de 4,51 se observa el efecto estable del pH cuyo promedio general es de 3,9, mientras que, en su investigación la calidad del clon de cacao pH - 16 en la región cacaotera de Bahía, Brasil concluyeron que el pH promedio de granos de cacao fermentados obtuvo valores superiores de 5,0. Cabe mencionar que un pH muy bajo en las almendras de cacao puede tener un efecto negativo en el sabor del producto. Así lo indican estos autores:

Llerena y Uriña (2017), afirman que si el pH es menor a 5.0 indica la presencia de ácidos no volátiles indeseables para el desarrollo del aroma y sabor del cacao (Erazo y Mendoza, 2015). En este sentido, Loureiro *et al.* (2016) ratifican que el pH es un atributo importante en la calidad del cacao y debe encontrarse entre 5,0 y 5,4. Finalmente, el Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (1993) considera como un cacao seco de calidad aquellos relacionados con pH más altos de 5,2.

Alvarado *et al.* 2022, manifiesta que los microorganismos como la levadura tiene una gran actividad en pro de la fermentación. Es decir que ha mayor aplicación de la levadura mayor será el grado de fermentación alcanzando valores de 80,67 % con acuerdo con la investigación de (Vasquez *et al.*, 2022) en la aplicación de la inoculación en fase anaeróbica de *Bradyrhizobium japonicum* para mejorar la postcosecha y actividad fermentativa lo cual indica que la aplicación de 5 % obtuvo 77,75 % de granos bien fermentados.

De igual manera, Morejon *et al.* (2022) en su estudio de investigación usando el proceso fermentativo con las almendras de cacao y aplicando levadura madre para poder disminuir cadmio, lo cual dio resultados favorables, alcanzando los límites estipulados por el

reglamento de la Unión Europea. De la misma manera (Alvarado *et al.*, 2022) indica que al utilizar levadura al 1% disminuyó de (0,32 mg/kg a 0,20 mg/kg de cadmio), corrobora Vasquez *et al.* (2022) que la inducción de *Rhizobium japonicum* en la etapa fermentativa a mayor aplicación del 5 % alcanzó disminuir de (0,36 mg/kg a 0,29 mg/kg de cadmio), lo cual estos resultados y metodología ayudarán a los agricultores.

Conclusiones

En función de los resultados encontrados se concluye que los contenidos de cadmio en el presente estudio cumplen con la norma establecida por la Unión Europea lo N° 2021/1323 para los diferentes tratamientos obtenidos los cuales son resultados favorables para la disminución del cadmio en almendras de cacao por la aplicación de *Rhizobium japonicum*.

Se observaron efectos concluyentes con respecto a la prueba de corte y análisis sensorial, lo cual demuestra que la aplicación de *Rhizobium japonicum* es favorable en la actividad fermentativa de los granos de cacao. Respecto al análisis de las variables fisicoquímicas se observó una reacción positiva en la inducción de este microorganismo, lo cual se ve reflejada en la calidad de las almendras de cacao.

Referencias

Abad, A., Acuña, C., y Naranjo, E. (2020). El cacao en la Costa Ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. Estudios de La Gestión. Revista Internacional de Administración, 7(7), 59–83. <https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>

Alvarado, K., Vera, J., Tuarez, D., y Intriago, F. (2022). Fermentación de cacao (*Theobroma cacao* L.) con adición de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y enzima (PPO's) en la disminución de metales Fermentation of cacao (*Theobroma cacao* L.) With addition of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) and enzyme. Centrosur, 2014(1), 24. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/361380137_Fermentacion_de_cacao_Theobroma_cacao_L_con_adicion_de_levadura_Saccharomyces_cerevisiae_y_enzima_PPO_s_en_la_disminucion_de_metales_pesados

Comisión Europea. (2021). REGLAMENTO (UE) 2021/1323. Diario Oficial de La Unión Europea, 10(1), 13–18. <https://boe.es/doue/2021/288/L00013-00018.pdf>

- Cruz, E., y Pereira, I. (2019). Historias, Saberes y Sabores en torno al cacao (*Theobroma cacao* L.) en la subregión de Barlovento, Estado Miranda. *Sapiens*, 10(2), 97–120. <https://www.redalyc.org/pdf/410/41021266005.pdf>
- Dubón, A. (2016). Protocolo para el Beneficiado y Calidad del Cacao Protocolo para el Beneficiado y Calidad del Cacao. Honduras: Fhia, Recuperado de http://www.fhia.org.hn/descargas/Proyecto_de_Cacao_SECO/Protocolo_para_el_Beneficiado_y_Calidad_del_Cacao_2016.pdf
- Erazo, R., y Mendoza, C. (2015). Evaluación de la aplicación de *Lactobacillus fermentum* y *Acetobacter acetii* en la fermentación del cacao CCN-51 y su efecto en la calidad de las almendras. [Tesis de pregrado, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. Repositorio Institucional de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10232/3/T-ESPE-002777.pdf>
- Galvis, A., y Rodriguez, S. (2022). Desarrollo de un prototipo de fermentador cilíndrico con control de temperatura, humedad y agitación durante el proceso de fermentación del cacao. [Tesis de pregrado, Universidad El Bosque]. Repositorio Universidad El Bosque https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/8358/2021-1_P_Rodriguez_Galvis_Documento_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, I. (1993). *Manual para análisis de cacao en laboratorio*. IICA-CIDIA. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/8995/BVE20038007e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Llerena, K. E., y Uriña, Z. B. (2017). *Uso de cultivos iniciadores (Starter) en la fermentación de cacao tipo Nacional clon 103 y CCN51 en la Estación Experimental Pichilingue ubicada en Quevedo- Provincia de Los Ríos*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil]. Repositorio Universidad de Guayaquil. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/28030>
- Loureiro, G., Araujo, Q., Sodré, G., Valle, R., Souza, J., Ramos, E., Comerford, N., y Grierson, P. (2016). Cacao Quality: Highlighting Selected Attributes. *Food Reviews International*, 9129(April). <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175011>
- Melo, O., López, L., y Melo, S. (2020). *Diseño de experimentos métodos y aplicaciones* (U. N. de Colombia (ed.); 2nd ed.). http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Estadística/Diseño_de_Experimentos/Diseño de Experimentos.pdf
- Morejon, R., Vera, J., Salgada, I., Flores, C., y Morejón, M. (2022). Use of enzymes and leavening agents as a strategy to reduce the presence of cadmium in the fermentation process of *Theobroma cacao* L. almonds. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13(3), 604–614. <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.03.089>
- Palma, H. J., Intriago Flor, F. G., Andrade Andrade, V. V., Gorozabel Muñoz, W. A., y Zambrano Sanchez, M. J. (2021). Determinación de los niveles de cadmio en el beneficio de la almendra de cacao con diferentes concentraciones de salmuera. *Revista Pertinencia Académica*, 5(1). <https://doi.org/10.5281/zenodo.4796595>
- Silva, C. G., Medina, N. G., Pajilla, B. L., y Universitaria, C. (2012). Efecto de la proporción de naranja (*Citrus sinensis*), papaya (*Carica papaya*) y piña (*Ananas comosus*) en la aceptabilidad sensorial de un néctar mixto. *Agroindustrial Science*, 2(2), 132–138. <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2012.02.02>
- Vargas, S., Pilar, A., Domínguez, C., y Domínguez, M., K. P. (2008). Mejoramiento de la poscosecha del cacao a partir del roadmapping. *Ingeniería e Investigación*. 2008;28(3):150–158. ISSN: 0120–5609. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=64328323>
- Vásquez, L., Vera, J., Erazo, C., y Intriago, F. (2022). Induction of *rhizobium japonicum* in the fermentative mass of two varieties of cacao (*Theobroma Cacao* L.) as a strategy for the decrease of cadmium. *International Journal Of Health Sciences*, 6(3), 11354–11371. <https://doi.org/https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS3.8672>
- Vasquez, L., Vera, J., Intriago, F., y Alvarado, K. (2022). Inducción anaeróbica de *bradyrhizobium japonicum* en la postcosecha de híbridos experimentales de cacao y su mejoramiento en la calidad fermentativa. *Journal of Science and Research*, 7(2), 50–69. <https://doi.org/https://doi.org/10.5281/zenodo.7723254>