

Diseño y evaluación de un recubrimiento comestible, funcionalizado con compuestos activos, y pectina obtenida de la cáscara de cacao, para la conservación de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth)

Gina Katerine Andrade Moreno

Asesora

Leidy Gómez Sampedro
(Ingeniera de Alimentos, MSc, PhD. Docente ECBTI)

Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería ECBTI

Especialización en Ingeniería de Procesos de Alimentos y Biomateriales

2023

Nota de Aceptación

Firma del Asesor

Firma del Jurado

Firma del jurado

Ciudad y fecha (día/mes/año)

Dedicatoria

A Dios, y a mi madre, que son mi soporte y motivación

Agradecimientos

A la Doctora Leidy Johanna Sampedro Gómez – docente investigadora de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD Medellín, por su orientación y acompañamiento durante la construcción del presente trabajo de investigación.

A la Universidad del Tolima y al Centro Agropecuario “La Granja” – Sena Regional Tolima, por apoyar el desarrollo del siguiente trabajo de grado, a través de diferentes espacios, material de apoyo y protocolos desde los laboratorios de “Poscosecha, y Gipronut”.

Resumen

A pesar de los grandes avances en el campo de la conservación de alimentos, la industria se enfrenta a elevadas pérdidas económicas, por descomposición y disminución en la calidad final del producto, como: apariencia, textura, sabor, olor y vida útil. Es la mora de castilla uno de los productos hortofrutícolas con mayor producción y demanda en el país, de acuerdo al anuario estadístico de MADR¹ “la producción de mora en Colombia para el año 2020 fue de 178.161,59 toneladas”; sin embargo, representa también una de las frutas más perecederas debido a su alto contenido de agua y carbohidratos simples. Con el presente proyecto de investigación se buscó diseñar y evaluar un recubrimiento comestible (RC), empleando para ello pectina obtenida a partir de los residuos generados durante la cosecha y postcosecha de dos variedades de cacao (*criollo* y *trinitario*), adicionado con almidón de maíz, glicerol, como plastificante, y aceite de canela nanoemulsionado, como ingrediente bioactivo que le generó a la película un carácter antioxidante y antimicrobiano. Para el montaje del recubrimiento comestible se estableció un diseño experimental factorial 2² por triplicado, para evaluar el efecto de la relación surfactante-aceite (T/A), y pectina-almidón (P/A), sobre la funcionalidad y resistencia de la película. Finalmente, con los resultados se realizó un proceso de optimización para determinar las mejores condiciones para la elaboración del recubrimiento, y bajo estas condiciones se desarrolló la solución filmogénica. La película comestible optimizada, fue elaborada con pectina de cacao a una concentración de (1% p/p), y almidón de maíz al (1,22% p/p), formando así la solución matriz; adicionada con glicerol al (2% p/p) y aceite esencial de canela nanoemulsionado al (0,02% p/p); la cual fue sometida a pruebas de calidad, para posteriormente ser aplicada a la fruta en estado líquido por inmersión.

¹ Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia

Los resultados del ANOVA del diseño experimental mostraron que no se evidenció efecto significativo de las variables independientes %P y (P/A), sobre el color del RC, contrario a lo que sucedió con las variables de respuesta de la actividad antioxidante y resistencia del RC optimizado. La mora de castilla con grado de madurez comercial (5), se expuso a condiciones controladas de temperatura y humedad relativa, 5°C y 64% respectivamente, durante 11 días de almacenamiento. Finalmente, las propiedades mecánicas y bioactivas en la película formada, permitieron ampliar la vida útil de la mora de castilla por un periodo corto de almacenamiento de 11 días, a temperatura de refrigeración en un rango de 5 °C, con una humedad relativa de 64%, logrando conservar óptimamente las características de calidad de la mora de castilla, en términos fisicoquímicos y sensoriales.

Palabras clave: biopolímeros, nano-emulsión, aceite esencial de canela, pectina de cacao, conservación, recubrimientos comestibles, y actividad antioxidante.

Abstract

Despite the significant advances in food preservation, the industry faces high economic losses due to decomposition and a decrease in the product's final quality, such as appearance, texture, taste, smell, and shelf life. The Castilla blackberry is one of the fruit and vegetable products with the highest production and demand in the country; according to the MADR statistical yearbook, "blackberry production in Colombia for the year 2020 was 178,161.59 tons"; however, it is also one of the most perishable fruits due to its high water content and simple carbohydrates. With the present research project, we sought to design and evaluate an edible coating (RC), using for this purpose pectin obtained from the residues generated during the harvest and post-harvest of two varieties of cocoa (criollo and trinitario), added with corn starch, glycerol, as a plasticizer, and nano-emulsified cinnamon oil, as a bioactive ingredient that gave the film an antioxidant and antimicrobial character. For the assembly of the edible coating, a 2^2 factorial experimental design was established in triplicate to evaluate the effect of the surfactant-oil (T/A) and pectin-starch (P/E) ratio on the functionality and resistance of the coating. Finally, with the results, an optimization process was carried out to determine the best conditions for the coating preparation, and under these conditions, the filmogenic solution was developed. The optimized edible film was made with cocoa pectin at a concentration of (1% p/p), and corn starch (1.22% p/p), thus forming the matrix solution; added with glycerol (2% p/p) and nano-emulsified cinnamon essential oil (0.02% p/p); which was subjected to quality tests, to be later applied to the fruit in a liquid state by immersion.

The results of the ANOVA of the experimental design showed no significant effect of the independent variables %P and (P/A) on the color of the RC, contrary to what happened with the response variables of antioxidant activity and resistance. Of the optimized RC. The blackberry

with commercial maturity degree (5) was exposed to controlled temperature and relative humidity conditions, 5°C and 64%, respectively, during 11 days of storage. Finally, the mechanical and bioactive properties in the formed film allowed to extend the useful life of the blackberry for a short storage period of 11 days, at a refrigeration temperature in a range of 5 °C, with a relative humidity of 64%, managing to optimally preserve the quality characteristics of the Castilla blackberry in physicochemical and sensory terms.

Keywords: Biopolymers, nano-emulsion, cinnamon essential oil, preservation, edible coatings, antioxidant activity.

Tabla de Contenido

Introducción.....	16
Justificación.....	19
Objetivos	22
Objetivo General.....	22
Objetivos Específicos	22
Antecedentes	23
Marco conceptual y teórico.....	30
Factores que afectan la calidad de productos hortofrutícolas frescos	30
Factores cosecha y postcosecha que determinan la conservación en las frutas frescas.....	30
Generalidades sobre la mora de castilla (<i>Rubus glaucus</i> Benth).....	33
Enfermedades del fruto.....	34
Producción de mora de castilla en colombia.....	35
Mercado nacional y externo de la mora de castilla.....	38
Envases activos	38
Recubrimientos o películas comestibles.....	40
Técnicas de elaboración de nanoemulsiones.....	49
Técnicas de elaboración de recubrimientos comestibles.....	51
Metodología	53
Diseño experimental seleccionado	53
Materiales y reactivos.....	55

Métodos empleados	56
Preparación de la nanoemulsión	56
Preparación de la solución filmógena.....	58
Evaluación propiedades del Recubrimiento Comestible	59
Optimización de la solución filmogénica	63
Acondicionamiento de la fruta.....	63
Ensayo Aplicación Película Comestible a la Fruta Entera	64
Evaluación características de calidad de la fruta.....	65
Resultados y Discusión.....	69
Características Físicas de la Nanoemulsión a Base de Aceite Esencial	69
Elaboración del Recubrimiento Comestible a partir de Aceite Esencial de Canela y Pectina de Cacao	71
Evaluación Fisicoquímica de la Solución Filmogénica.....	72
Evaluación Antioxidante de la Solución Filmogénica.....	72
Evaluación del color	75
Resistencia de la Película Comestible	77
Evaluación Fisicoquímica de la Solución Filmogénica Optimizada	77
Análisis del Diseño Experimental y Formulación Optimizada.....	77
Evaluación del Color	82
Evaluación de las Características de la Mora de Castilla Sometida a un Recubrimiento Comestible a partir de Pectina de Cacao con Adición de Sustancias Bioactivas	83

Caracterización Inicial de la Muestra	83
Pérdida de Peso de la Fruta	86
Grado de Deterioro en la Fruta	89
Conclusiones	93
Recomendaciones	97
Referencias Bibliográficas	99
Apéndices	103

Lista de Tablas

Tabla 1 <i>Tasa de respiración de la mora a diferentes temperaturas.....</i>	31
Tabla 2 <i>Producción variedad mora de castilla por departamento para el año 2021.....</i>	37
Tabla 3 <i>Los factores de estudio para el diseño experimental tipo factorial 2².....</i>	54
Tabla 4 <i>Formulaciones para las muestras de nanoemulsión con aceite esencial de canela 2% p/p, por ultrasonido.....</i>	57
Tabla 5 <i>Formulación usada para elaborar el recubrimiento biodegradable. Diseño Experimental Propuesto</i>	59
Tabla 6 <i>Escala de medición cualitativa de la resistencia mecánica - tracción.....</i>	62
Tabla 7 <i>Porcentaje de inhibición del radical DPPH en muestras de recubrimiento biodegradable con aceite de canela al 0,02%, y lectura de absorbancia a una longitud de onda en espectro de 515 nm.....</i>	74
Tabla 8 <i>Coordenadas CIELab - prueba de color.....</i>	76
Tabla 9 <i>Corridas por tratamiento preliminar para la elaboración del RC optimizado</i>	77
Tabla 10 <i>Formulación optimizada por diseño para elaborar el recubrimiento biodegradable a partir de pectina de cacao al 1%; y una relación P/A (1/1,22).....</i>	80
Tabla 11 <i>Valores predichos y experimentales en la optimización de %P y A/P para formulación de la solución filmogénica para elaboración de los RC (sin diluir).....</i>	82
Tabla 12 <i>Coordenadas Prueba de Color – CIELab en la Película Comestible Optimizada.....</i>	83
Tabla 13 <i>Coordenadas prueba de color – CIELab en la Solución Filmógena.....</i>	83
Tabla 14 <i>Parámetros fisicoquímicos de la mora de castilla Grado de madurez 5 con respecto a la norma.....</i>	84

Tabla 15 <i>Resultados de la conductividad durante el calentamiento de la mezcla de aceite de aguacate, a 1200 RPM.</i>	106
--	-----

Lista de Figuras

Figura 1 <i>Área cosechada y producción de mora de castilla en Colombia (2007 - 2020)</i>	36
Figura 2 <i>Estructura de una molécula surfactante</i>	47
Figura 3 <i>Proceso de emulsificación por formación espontánea</i>	50
Figura 4 <i>Colorímetro digital 3nh ys3020</i>	60
Figura 5 <i>Montaje solución lipídica por técnica de emulsión vs nanoemulsión con aceite esencial de canela al 2.0 % p/p</i>	70
Figura 6 <i>Servido de recubrimiento comestible por diferentes técnicas: m1; m2; m3</i>	72
Figura 7 <i>Curva de calibración del antioxidante trolox – antioxidante patrón, por espectroscopia a 515 nm</i>	75
Figura 8 <i>Gráficos de contornos del efecto de los factores % pectina y relación (P/A) sobre las características del recubrimiento comestible</i>	79
Figura 9 <i>Composición de la solución filmogénica y parámetros esperados de la muestra optimizada, empleando software desing expert – factorial 2²</i>	81
Figura 10 <i>Pérdida de masa acumulativa de la mora de castilla, con aplicación y sin aplicación de RC, durante el almacenamiento</i>	86
Figura 11 <i>Pérdida de masa de la mora de castilla, con aplicación y sin aplicación de RC, durante el almacenamiento</i>	86
Figura 12 <i>Efecto de la aplicación del RC incorporado con aceite esencial de canela, en la pérdida de peso de moras de castilla, refrigeradas a 5°C, durante 11 días</i>	88
Figura 13 <i>Grado de deterioro del fruto, durante un periodo de 11 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración: 5°C y 64% HR, con aplicación y sin aplicación de RC</i>	90
Figura 14 <i>Daño biológico en la fruta después de ser sometida a los tratamientos</i>	90

Lista de Apéndices

Apéndice A <i>Obtención de la nano-emulsión a partir de aceite de aguacate 2,5% P/P, por el método de inversión de fase</i>	103
Apéndice B <i>Control de variables del proceso: Conductividad vs Temperatura, elaboración nanoemulsión con aceite de aguacate. Método temperatura de inversión de fase - PIT.....</i>	104
Apéndice C <i>Homogenización de la emulsión por ultrasonido: Empleando sonicador de sonda de 700 W, con amplitud del 85%.....</i>	105
Apéndice D <i>Montajes solución lipídica por técnica de emulsión vs nanoemulsión con aceite de aguacate al 2,5%.....</i>	106
Apéndice E <i>Resultados de la conductividad durante el calentamiento de la mezcla de aceite de aguacate, a 1200 RPM, por método PIT.....</i>	107
Apéndice F <i>Muestra solución filmogénica con aceite esencial de canela 2% p/p.....</i>	108
Apéndice G <i>Degradación del radical DPPH en muestras de solución filmogénica, a una concentración inicial de 0,02% p/p de aceite esencial de canela (sin diluir). Prueba capacidad antioxidante. Previo a la optimización.....</i>	109
Apéndice H <i>Resultado colorimétrico de muestras de películas comestibles por método coordenadas CIELab</i>	110

Introducción

En el campo del envasado y la conservación de los alimentos, juega un papel muy importante el uso de los polímeros biodegradables para la fabricación de envases biodegradables (mono y multicapa), envases activos, Películas Comestibles (PC) y Recubrimientos Comestibles (RC) sobre frutas, carnes, pescados y otros alimentos procesados cárnicos y lácteos principalmente, con el fin de prolongar su vida útil, y mantener sus características físicas, químicas y sensoriales el mayor tiempo posible, permitiéndole al consumidor disponer de ellos en cualquier momento (Parzanese, 2016).

El empleo de alternativas emergentes en la conservación de los alimentos, se convierte en un aliado para la industria de productos alimentarios, que se enfrenta cada día con un problema en la conservación del producto final; lograr que los productos terminados mantengan sus características físicas, químicas y sensoriales el mayor tiempo posible, permitiéndole al consumidor disponer de ellos en cualquier momento en el mercado, es un desafío en el desarrollo de técnicas eficientes y seguras ambientalmente.

La rápida descomposición y daños generados por el mal manejo durante la distribución y almacenamiento del producto, ha traído consigo pérdidas por devolución, afectando social y económicamente el sector de la industria alimentaria. De acuerdo a datos reportados por la FAO² anualmente se pierden alrededor de 1300 millones de toneladas de alimentos, estas pérdidas se deben a factores como: altas tasas de respiración, deshidratación, transpiración, degradación enzimática natural y provocada por agentes microbianos, factores que se ven favorecidos por problemas como: mal almacenamiento, falta de control de temperatura y humedad relativa de los cuartos fríos y carros transportadores, falta de higiene, envases inadecuados según el tipo de

² Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

producto, mal manejo por parte de los intermediarios, exceso de manipulación del producto, entre otros (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2012).

La variedad mora de castilla, fruto muy apetecido en el mercado nacional por su composición nutricional (vitaminas y minerales), comparada con otras variedades de la familia Rosáceae es un fruto altamente perecedero y tiene menor vida útil que las demás, debido a daños biológicos, mecánicos y fisiológicos; su deterioro se incrementa debido a la pérdida de firmeza, lo que facilita el ataque y degradación por microorganismos principalmente bacterias y hongos, al igual que incrementa la pérdida de pigmentación y nutrientes. Por otro lado, la tasa elevada de respiración, trae consigo efectos como pérdida de atributos sensoriales (color, aroma, sabor y textura), haciendo que el producto rápidamente llegue a la senescencia (Ramírez, 2013).

En los últimos años, se ha avanzado en la investigación de técnicas para la conservación de alimentos, muchos de ellos enfocados en el mercado hortofrutícola, demostrando efectos acertados en la preservación de la frescura, firmeza y calidad biológica de frutas y hortalizas frescas y mínimamente procesadas. En el campo específico de los envases activos biodegradables, se han logrado resultados positivos en la extensión de la vida útil, e incremento en la calidad sensorial y funcional del producto terminado. El empleo de pectina extraída por hidrólisis ácida y precipitación alcohólica, a partir de cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), ha sido utilizada para el diseño de prototipos de envases biodegradables, para la conservación de papaya, plátano y piña troceada; mostrando aceptables características sensoriales por pruebas hedónicas, alta solubilidad al agua, y mediana biodegradabilidad (Del Águila Flores & Zegarra Jumanga, 2016). Sin embargo, es necesario evaluar no sólo la aceptación sensorial del producto

aplicando este tipo de tecnología emergente, es preciso verificar su utilidad en la extensión de la vida útil del mismo.

A través del presente trabajo de grado construido en las bases de la línea de investigación *de Ingeniería en Procesos de Alimentos y Biomateriales: Procesos Biotecnológicos en la industria de alimentos y biomateriales*, se desarrolló y evaluó un recubrimiento biodegradable a partir de la pectina de cacao, con incorporación de aceite de esencial de canela al 2% p/p, esto con el fin de evitar las pérdidas de la mora de castilla, producto de gran demanda en el mercado hortofrutícola del país, pero altamente perecedero y con demasiadas deficiencias en cuanto a su manejo postcosecha, lo que genera alrededor del 40 % de pérdidas anuales de su producción total (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2012).

Con el desarrollo y aplicación del recubrimiento comestible a la mora de castilla, destinada para su consumo en fresco, o como materia prima para el sector agroindustrial, se quiso no solo extender su vida útil bajo condiciones controladas, y permitir que el consumidor reciba un producto en óptimo estado de calidad, sino también, lograr apoyar su cadena productiva en Colombia, por medio de la reducción de pérdidas del producto durante su distribución y comercialización, traducidas en una regulación del precio de la fruta, y un incremento de los ingresos para el productor, y demás actores que conforman la cadena.

Justificación

En la actualidad el tema de conservación de los alimentos se ha convertido en una preocupación para el sector alimentario, dado que con ella se busca no sólo contribuir a la preservación de la calidad del producto, sino también evitar las pérdidas por rápida descomposición de los alimentos durante la cadena productiva, e inclusive cuando este ya ha llegado a las alacenas de los consumidores, lo que ha generado enormes bajas económicas para los fabricantes y distribuidores.

Es la mora de castilla uno de los productos hortofrutícolas con mayor producción y demanda en el país, no solo para su consumo en fresco, sino también como materia prima en el sector agroindustrial. Del total de la producción de mora en Colombia, el 80 % se destina para la demanda nacional, de la cual el 60% es adquirida para la elaboración de jugos, mermeladas y salsas, el 20 % de la producción restante es exportada principalmente a Estados Unidos y Europa (MADR, 2020). La variedad mora de castilla, por ser una fruta altamente perecedera debido a su alto contenido de agua y carbohidratos simples, reporta grandes pérdidas ocasionadas por su acelerada fermentación, pérdida de peso y daño microbiológico por mal manejo durante su distribución y punto de venta. Lo anterior, determinó la necesidad de buscar una alternativa emergente y relativamente económica, para aumentar su conservación de la fruta por medio del uso de un recubrimiento biodegradable, utilizando para ello agentes antioxidantes y gelificantes, como son los aceites esenciales y la pectina obtenida a partir de residuos de cacao, gracias a su propiedad funcional gelificante, pues más del 50 % de su estructura química es considerada ácido galacturónico (Hennessey-Ramos et al., 2021).

El dato reportado por la FAO, con respecto a las pérdidas por descomposición de los alimentos a lo largo de la cadena alimentaria, por las causas ya mencionadas, como: condiciones inadecuadas para la conservación durante el transporte y el almacenamiento, problemas con el

envasado, y falta de instalaciones y logística adecuada para su disposición final; sugieren que alrededor de un tercio de la producción de los alimentos destinados al consumo humano se pierde o desperdicia en todo el mundo, lo que equivale a aproximadamente 1300 millones de toneladas de productos alimentarios que se pierden al año, lo que incluye el 30% de los cereales, entre el 40 y el 50% de las raíces, frutas, hortalizas y semillas oleaginosas, el 20% de la carne y productos lácteos y el 35 % de los pescados. La FAO estima que el 6% de las pérdidas mundiales de alimentos se dan en América Latina y el Caribe (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO], 2012).

En Colombia, los alimentos que más se pierden durante la cadena productiva son las frutas y las verduras con un 62 %, el equivalente a 6,1 millones de toneladas, le siguen las raíces y los tubérculos con un 25 % , el equivalente a 2,4 millones de toneladas, y por último los cereales, los productos cárnicos, las oleaginosas y legumbres, el pescado y productos lácteos ocupando un 13%, para un total de 9,76 millones de toneladas de alimentos que se desperdician durante el año; este valor representa el 34% con respecto a la oferta nacional de alimentos en Colombia. Es el eslabón primario de la cadena productiva agrícola, el responsable de la mayor pérdida y desperdicios de los alimentos con un 40,5% del total, seguido por la distribución, postcosecha y almacenamiento, consumo y finalmente el sector de procesamiento industrial (DNP, 2022).

Por otro lado, el enorme daño generado al ambiente resultado de las actividades cotidianas, industriales, comerciales, entre otros, ha llevado a la necesidad de emplear materiales biodegradables para su uso en la fabricación de envases primarios para productos alimenticios; es el caso de la fabricación de películas y recubrimientos alimentarios como aporte al desarrollo sostenible del sector agroindustrial, y de garantizar un periodo más largo para la conservación de

los alimentos.

Dada las enormes pérdidas de productos alimenticios generados a lo largo de la cadena productiva, y los anteriores impactos que puede llegar a generar la utilización de películas biodegradables para la conservación de frutas, se sustenta la estructuración de la idea de esta propuesta de investigación, con la que se busca diseñar y evaluar una película o recubrimiento comestible (PC/RC), con el fin de su posterior aplicación para ampliar la vida útil de la mora de castilla (*Rubus glaucus*), generando un impacto social, ambiental y económico en la región y en el país.

Para el desarrollo de la película comestible se usó pectina extraída de los desechos generados durante la cosecha y postcosecha del cacao, con lo cual no solo se proporcionará a la película las características de plasticidad, elasticidad y resistencia, sino que se espera potencializar el uso y valorización de este tipo de subproductos.

Adicionalmente, dada la tendencia del mercado, del uso de productos saludables, que aporten mayores beneficios al cuerpo, se busca que la película comestible además de conservar y mejorar la presentación del producto final, también genere un beneficio adicional a la salud el consumidor, a través de la utilización de ingredientes activos, como son los antioxidantes y aceites esenciales comestibles.

Objetivos

Objetivo General

Evaluar el efecto de un recubrimiento comestible funcionalizado con compuestos activos, y pectina extraída de la cáscara de cacao, sobre la vida útil de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth).

Objetivos Específicos

Establecer la formulación óptima para la obtención de un recubrimiento comestible RC, a partir de pectina de cacao y aceite esencial de canela, con incorporación de otros biomateriales.

Evaluar la actividad antioxidante, y la calidad del recubrimiento comestible RC obtenido, mediante pruebas mecánicas y morfológicas, de acuerdo a la normatividad vigente.

Evaluar las características fisicoquímicas y sensoriales de la mora de castilla, después de someterla al tratamiento con el recubrimiento biodegradable obtenido, esto con el fin de determinar si es viable su conservación por este método.

Antecedentes

Fernández, Bautista, Ocampo, García y Falcón (2015), mencionan 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 como inadecuado proceso de recolección, empaques no apropiados e insuficientes vías para la transportación, entre otros, lo que se traduce en un corto período de almacenamiento. Para evitar las pérdidas postcosecha de la mora de castilla, en este proyecto investigativo se propone el diseño y evaluación de una película comestible (RC) a base de pectina obtenida de la cáscara de cacao, y funcionalizada con aceite esencial de canela, para la conservación y mejora de la calidad de la fruta, disminuyendo la pérdida de agua, la respiración y retardando el envejecimiento de la fruta contribuyendo así al valor nutritivo (Fernández Valdés et al., 2015).

Del Águila et al. (2016), con su trabajo de investigación proponen varias alternativas, para el uso de los residuos generados por el cultivo del cacao. En los últimos años se ha incentivado la producción y la exportación de la semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.), en los mercados de los Estados Unidos y Europa, con una producción mundial en grano de alrededor de 4 millones de toneladas métricas anuales; sin embargo, durante el procesamiento del cacao se generan gran cantidad de residuos orgánicos como son las cáscaras (aproximadamente el 75% del total del fruto), lo cual aumenta los costos de disposición y tratamiento de los mismos. Es la razón por la cual se busca una alternativa que permita aprovechar los residuos generados por la industria del cacao, disminuir el impacto ambiental y generar ingresos económicos por la venta de los subproductos, lo que justifica las muchas investigaciones realizadas a la cáscara de cacao, como una posible fuente comercial de pectina y su aprovechamiento por la industria de los alimentos.

Las pectinas, polisacáridos presentes en las paredes celulares de las plantas, y productos hortofrutícolas; presentan propiedades biológicas que los hacen adecuados para su uso en la industria alimentaria, destacando, para este sector, sus características prebióticas y tecnofuncionales por su poder gelificante, emulsificante, espesante y estabilizante. Por lo anterior, cabe mencionar que Muñoz (2016), realizó un trabajo de investigación acerca de la caracterización fisicoquímica y reológica de las pectinas cítricas, determinando que gracias a su contenido de ácido galacturónico mayor al 65 %, y a su multifuncionalidad atribuida a la presencia de regiones polares y apolares dentro de su molécula, puede ser, por tanto, considerada como aditivo E-440, para su incorporación en diferentes matrices alimenticias (p.5).

Las películas comestibles según Fernández et al., (2015) lo define como una matriz transparente continua, comestible y delgada, que se estructura alrededor de un alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento con el fin de preservar su calidad y servir de empaque. Las soluciones que conforman la película comestible poseen espesor mayor que los recubrimientos comestibles, polisacáridos, lípidos, compuestos naturales proteicos y ambas cumplen la función de actuar sobre el alimento como barrera ante el vapor de agua y gases en el alimento que causan el deterioro disminuyendo así el tiempo de vida útil de frutas o alimentos. Los recubrimientos comestibles contienen polisacáridos que los hacen fundamental en la industria alimentaria entre los polisacáridos más aplicados en RC y PC se hallan los derivados del almidón, alginato, quitosano y pectinas los cuales se encuentran en los subproductos generados en el procesamiento de frutas y así se contribuye a un ambiente sostenible.

De Ancos et al. (2015), El uso de películas y recubrimientos comestibles es una alternativa prometedora para mejorar la calidad de los alimentos durante su procesado,

distribución y almacenamiento; están constituidas por finas películas de polímeros naturales (polisacáridos, proteínas, lípidos) biodegradables, siendo así una tecnología respetuosa con el medio ambiente. Las películas/recubrimientos comestibles, como tecnología emergente, logra generar una barrera selectiva a los gases (O₂, CO₂, etileno), reducen la pérdida de agua, los procesos oxidativos (pardeamiento enzimático), el crecimiento microbiológico y aumentan la resistencia mecánica de la fruta y hortaliza mínimamente procesadas. Además, los recubrimientos y películas comestibles pueden ser considerados envases activos ya que pueden incorporar en la matriz polimérica aditivos naturales como antimicrobianos, antioxidantes, reafirmantes de la textura, nutrientes o ingredientes bioactivos con el objetivo de incrementar la seguridad y las características sensoriales, nutricionales y funcionales de las frutas y hortalizas mínimamente procesadas.

Medina et al., (2016) lograron diseñar un recubrimiento comestible bioactivo para su aplicación en frutilla (*Fragaria vesca*), empleando diferentes formulaciones con un diseño factorial 2³ donde los factores estudiados, fueron: cantidad de agar-agar (10 g y 20 g), cantidad de almidón (10 g y 20 g), y la temperatura (35 °C y 45 °C); además, utilizaron en la elaboración del recubrimiento 20 g de glicerol como plastificante, y 250 ppm (0,025% p/p) de aceite esencial de canela como compuesto bioactivo. La fruta la almacenaron a 5 °C de temperatura, y 85 % de humedad relativa aproximadamente. Los factores de estudio seleccionados, fueron: por 20 g de glicerol, 250 ppm de aceite esencial de canela, 20 g de almidón, 10 g de agar – agar y aplicados a 45 °C temperatura, lo que les permitió retardar la senescencia del fruto, a través de una disminución en la pérdida de la firmeza en la fresa comparada con la fruta sin recubrimiento.

Ramírez (2012), logró conservar la Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Beth) mediante la aplicación de un recubrimiento comestible de gel de mucílago de penca de sábila (*Aloe*

barbadensis Miller), el RC fue aplicado a los frutos por inmersión y secado a temperatura ambiente, los frutos fueron empacados en cajas termoformadas y almacenados en refrigeración durante 10 días, los frutos control se sumergieron en agua destilada y se les realizó el mismo tratamiento posterior. Las variables estudiadas en ambos tratamientos se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza y prueba de comparación múltiple con un nivel de confianza 13 del 95%. Los frutos con RC mostraron una menor pérdida de peso (33 % menos) y tasa de respiración (47 % menos), y una disminución de los sólidos totales solubles, el pH y la acidez titulable, conservando mejor estas propiedades a partir del día 3 hasta el día 10, en comparación de los frutos analizados como control. (p. 37). Considerando el deterioro rápido de las propiedades de la Mora la evaluación con este recubrimiento, logra un buen método de conservación retardando cambios rápidos en las variables estudiadas como intensidad respiratoria, sólidos solubles, acidez y pH logrando el objetivo de mantener la calidad de la mora hasta por 10 días de almacenamiento en ambiente de refrigeración y además que esta puede ser tratada o evaluada con emulsiones derivadas del aloe vera y otras ceras teniendo en cuenta la variación de la emulsión.

Del Águila et al., (2016) propuso un prototipo de empaque alimentario, a través del uso de pectina extraída por hidrólisis ácida y precipitación alcohólica a partir de las cáscaras de cacao híbrido CCN51 (*Theobroma cacao* L.) para la fabricación del prototipo agregó agua destilada y el plastificante (glicerina) en las proporciones de 0,75%; 1,00% y 1,50% con agitación (1000 RPM) y temperatura ambiente, adicionándose la cantidad de agua requerida para completar el 100% de la solución (200 mL). Se estableció para el prototipo de empaque una humedad del 10% aproximadamente, a fin de mantener el 65% del contenido de humedad de los productos a empaquetar (trozos de papaya, plátano y piña), lo más estables. En esta investigación

como primera medida se determinó las características de la pectina usando como método extracción la hidrólisis ácida con ácido cítrico un precipitado con alcohol etílico para poder obtener las características y propiedades óptimas requeridas para la elaboración del recubrimiento comestible como son el grado de esterificación, tiempo de gelificación, acidez libre y sólidos solubles.

Con la pectina resultante realizaron experimentos con 9 tratamientos para el diseño del empaque alimenticio y fueron analizados estadísticamente con un arreglo factorial (DCA) de 3x2 con 3 repeticiones; donde la mejor formulación T1 que de acuerdo a Del Águila et al; (2016). T1 (concentración de pectina del 3% y glicerina del 1,50%) que presentó las siguientes características: Transparencia (UT x nm.) de 25 623,24; Opacidad (UA x nm) de 43,8; Solubilidad en agua del 84,23%; Cenizas de 2,98%; Humedad de 12,58% y Biodegradabilidad del 35,57% a los 5 días final 3 tratamientos con la mejor fórmula para cubrirlo con el recubrimiento frutas como plátano, papaya y piña y alargar la vida útil de estas frutas.

Villagómez (2011), diseñó y evaluó un recubrimiento comestible para extender la vida útil del Babaco (*Carica Pentagona*), en aproximadamente 30 días a una temperatura de refrigeración de 12°C; para ello empleó la siguiente composición: 20% glicerol, 70% aceite esencial de anís, 10% solución de agua y almidón de maíz; evaluando parámetros experimentales, como: sólidos solubles (°Brix), microorganismos aerobios totales (UFC/g) y tiempo de vida útil.

Segura (2019), desarrolló un recubrimiento comestible a base de una nanoemulsión de aceite de canela (*Cinnamomun verum*), y alginato de sodio (0.2 – 0.3) % p/p, para su posterior aplicación en arándano azul (*Vacinium corymbosum*), evaluando su capacidad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* O157:H7, y el efecto de la temperatura de

secado (25, 30 y 35°C) durante la aplicación del tratamiento, en parámetros fisicoquímicos del fruto, como: °Brix, actividad de agua, pH, y acidez. Para el desarrollo de la nanoemulsión, tuvo en cuenta factores como: el efecto de la goma arábiga, tiempo de agitación, RPM, concentración del aceite esencial de canela, y el método ultrasonido sobre el tamaño de gota de grasa, actividad de agua y conductividad de la solución.

De los Santos (2020), logró evaluar el efecto de recubrimientos comestibles a base de almidón (2% p/v) y mucílago de Jamaica, sobre la maduración de los frutos de guanábana almacenados a una temperatura que osciló entre (15 – 22) °C y una humedad relativa de 90%. Estudiando cambios en el fruto, como: pérdida de peso, firmeza, pH, sólidos solubles totales, acidez titulable y color, así como la actividad antioxidante por los métodos DPPH, ABTS y FRAP, el contenido de fenoles, flavonoides y vitamina C. Los frutos con recubrimiento, presentaron menor pérdida de peso y mayor firmeza, así, como una mayor actividad antioxidante expresada en porcentaje de inhibición por método DPPH.

Con respecto a las propiedades mecánicas y de barrera de las películas comestibles, Castillo (2021), evaluó el efecto de la proporción en el uso de gelatina, harina de cáscara de papa y aceite esencial de romero en la elaboración de una película comestible; además determinó la actividad antimicrobiana de la película contra *Listeria Monocytogenes* y *Salmonella Typhimurium*. Dicho estudio logró establecer que películas con 12.8 % de gelatina, 4.3 % de harina de papa, 6.4 % de glicerol y 1.5 % aceite esencial de romero, mejoraron características como: la resistencia a la perforación y la fuerza de tensión, por otro lado, el aceite esencial de romero inhibió el desarrollo de *S. Typhimurium*.

En Colombia se han evaluado algunos recubrimientos comestibles para extender la vida útil de la mora de castilla, empleando diferentes matrices, y agentes activos; ante el objetivo de

este proyecto investigativo no existen recubrimientos a base de pectina de cáscara de cacao funcionalizado con aceite esencial de canela, aplicado a la mora de castilla; actualmente han sido desarrollados y aplicados en frutos de papaya, plátano y piña; el uso de recubrimiento comestible cada vez es más importante aplicarlo en la industria de alimentos ya que estos poseen propiedades funcionales y antimicrobianas, que generan un efecto positivo en la conservación del valor nutritivo y aumento de la vida anaquel de la mora de castilla.

Marco Conceptual y Teórico

Factores que Afectan la Calidad de Productos Hortofrutícolas Frescos

Son varias las características que definen a un producto fresco de óptima calidad: la apariencia fresca, textura aceptable, buen sabor y olor, seguridad sanitaria y vida útil amplia que permita mantener al producto en un canal de distribución, llegando al consumidor final con sus características ideales. Cuando los criterios anteriormente mencionados no se cumplen, o alguno de ellos se ha perdido, dichos alimentos pierden automáticamente su valor comercial.

Los factores pre cosecha, cosecha y postcosecha, que intervienen en la calidad final del producto son: tipo de cultivar, estado de madurez al momento de la recolección, manipulación postcosecha (selección, clasificación, acondicionamiento, envasado y almacenamiento), y las condiciones de distribución del producto: temperatura, humedad y plan de saneamiento (Rojas, 2006)

Factores Cosecha y Postcosecha que Determinan la Conservación en las Frutas Frescas

los factores que afectan la calidad del producto y que inciden en la conservación del mismo son: la maduración, la respiración, la transpiración, deshidratación, los daños por frío, daños de tipo biológico y mecánico.

Con respecto a la Maduración, esta se considera como un complejo fenómeno secuencial de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que conducen a la formación de un fruto apto para el consumo humano, estos cambios se ven controlados esencialmente por cuatro mecanismos reguladores: a) un aumento de la síntesis de enzimas y ácidos nucleicos; b) la regulación de sistemas enzimáticos; c) cambios de permeabilidad en membranas, y d) una modificación de los mecanismos hormonales (Rojas, 2006). Durante la maduración se produce una mayor producción de etileno y un incremento en la tasa de respiración (ver tabla 1). El

etileno es el responsable de la síntesis de enzimas involucradas en diversos cambios físicos, químicos y metabólicos en los tejidos vegetales influenciando en las características sensoriales relacionadas con el sabor y la firmeza del fruto (Rojas, 2006).

Por otra parte, el manejo de los productos durante la Postcosecha, depende inicialmente de la determinación del momento óptimo de madurez, así como del mantenimiento de las propiedades sensoriales del producto durante las diferentes etapas de la post-recolección. El término postcosecha puede definirse según Rojas, (2006) como “el período que incluye todas las fases de comercialización de los productos hortofrutícolas, desde la recolección, pasando por la manipulación, conservación y distribución, hasta el consumo. De un adecuado manejo postcosecha depende la minimización de los daños generados, como son: daño a los tejidos, desórdenes fisiológicos del vegetal y proliferación microbiana.

Tabla 1

Tasa de respiración de la mora a diferentes temperaturas

mg CO ₂ kg ⁻¹ h ⁻¹	Temperatura °C
18 – 20	0
31 - 41	4 – 5
62	10
75	15 - 16
100 – 130	20

Fuente. Perkins, 2004

La principal manifestación de desórdenes fisiológicos que experimentan las frutas y hortalizas es la Respiración, la cual se incrementa durante las operaciones postcosecha, resultado de las lesiones tisulares y celulares. Este incremento en el metabolismo se traduce en un rápido consumo de oxígeno bien sea dentro de un envase o del ambiente que le rodea, y en una

acelerada producción de etileno; ésta es estimulada por el estrés al que se someten los tejidos vegetales, siendo su velocidad de producción proporcional al área superficial dañada y a la intensidad de ese estrés (Rojas, 2006).

El Pardeamiento Enzimático, es una de las principales reacciones bioquímicas que ocurren en cuanto a la alteración del color, en el que los compuestos fenólicos son oxidados hasta quinonas mediante reacciones catalizadas por enzimas denominadas genéricamente polifenoloxidasas (PPO), que varía de un tejido vegetal a otro, de acuerdo a la ubicación de estas enzimas en el componente celular, y del corte que se realice o no al producto hortofrutícola. La ruptura del tejido que ocurre como consecuencia del pelado o troceado de la fruta hace que las enzimas y sus sustratos, entren en contacto entre sí, y reaccionen formando compuestos activos. Éstos a su vez experimentan procesos de polimerización que dan lugar a pigmentos llamados melaninas, produciendo el pardeamiento superficial del producto y disminuyendo así su calidad visual; este proceso de degradación sensorial se ve afectado por el grado de madurez de la fruta, la presencia de oxígeno, y la ubicación de las enzimas oxidativas (Rojas, 2006).

La pérdida de Firmeza, es otro cambio que evidencia el deterioro en la calidad de las frutas, esta se debe principalmente a la acción de enzimas proteolíticas y pectolíticas sobre los componentes de la pared celular. La liberación de estas enzimas se puede dar por daños mecánicos o por cortes a la estructura, las células dañadas por el corte liberan estas enzimas que se difunden hacia el interior de los tejidos, provocando ablandamiento (Rojas, 2006).

Los mencionados fenómenos y reacciones que se dan al interior del fruto, resultado de la composición química y las condiciones ambientales, se han controlado con el fin de mejorar la conservación del producto, por medio del uso de métodos químicos, principalmente con sales de conservación. Una herramienta de uso emergente es el envasado activo, con plásticos de

permeabilidad selectiva, el envasado en atmósfera modificada, y el uso de películas comestibles, que ha permitido ampliar significativamente la vida útil de los productos frescos enteros y cortados, disminuyendo, entre otras cosas, la actividad respiratoria, la biosíntesis y acción del etileno.

Las frutas, necesitan tras su recolección y durante el período de comercialización, emplear técnicas que permitan retrasar su senescencia, reducir las pérdidas de peso, controlar la deshidratación - transpiración, por ende, cambios en su textura, incrementar el período de comercialización y mejorar su aspecto (brillo); evitando al mismo tiempo procesos internos fermentativos que puedan producir degradación de azúcares y producción de alcoholes, ácidos y aldehídos productores de malos sabores. Una nueva alternativa emergente para la conservación de los alimentos, es el uso de recubrimientos o películas comestibles, aparte del empleo de ceras de tipo alimentario (Gómez, 2011).

Generalidades sobre la Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth)

La Mora es una fruta originaria de Centro América, y crece en todo el trópico americano. La variedad de Mora de Castilla es la más cultivada debido a su capacidad de adaptabilidad a las variaciones climáticas y de niveles de humedad. La Producción de Mora en Colombia, ascendió para el año 2018 a las 130.000 toneladas. El cultivo está distribuido en el país desde el Putumayo hasta el Magdalena Medio y se siembra a una altitud de 1.600 y 2.400 m.s.n.m (MADR, 2020).

La mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) es un producto agrícola de gran demanda en el país, es empleada como materia prima en la elaboración de múltiples productos alimenticios, conservando su valor nutritivo y características de calidad. Su uso principal está en la fabricación de jugos, pulpas, conservas, compotas, jaleas, néctares, helado, yogurt, mermelada, concentrados, vinos, brandy, esencia, licor y tintas (MADR, 2020).

El fruto de la mora de castilla es una polidrupa, que contiene entre 70 y 100 drupeolas por receptáculo (cada una de ellas con una semilla en su interior); los frutos pueden ser de tamaño grande, mediano o pequeño; con forma circular o cónico elíptico; su maduración es dispereja debido a que la floración no es homogénea (Mora-Ramos, 2020).

La mora de castilla se caracteriza por ser un fruto no climatérico y de vida útil muy corta, tiene un alto contenido de compuestos orgánicos y bioactivos, su estructura morfológica es frágil, y no presenta corteza, lo que facilita su pérdida de agua, pigmentos y nutrientes, facilitando la rápida deformación del fruto; es una fruta que presenta continuos cambios fisicoquímicos, como son la fermentación y la proliferación de hongos como *Botrytis Cinerea*, afectando su calidad y tiempo de permanencia en anaquel (Ayala et al., 2013).

Enfermedades del Fruto

El cultivo de mora de castilla presenta problemas fitopatológicos que ocasionan pérdidas de la fruta tanto en campo como en poscosecha. Una de las enfermedades más agresivas es el moho gris ocasionado por el hongo *Botrytis cinerea*, el cual infecta las estructuras florales en donde el micelio se establece durante la floración hasta la formación del fruto. Una vez el fruto madura, el hongo se desarrolla agresivamente, produciendo abundantes conidios, los cuales, a su vez, infectarán otros frutos, dando como resultado grandes pérdidas. La mayoría de los frutos, aunque están infectados, son asintomáticos en el momento de su recolección, lo que provoca pérdidas que pueden oscilar entre el 50% y el 76% de la fruta cosechada (Mora-Ramos et al., 2020).

Este hongo, puede afectar los frutos en todos los estados de desarrollo y presentar decoloración, pudrición, deshidratación, crecimiento de un moho de aspecto aterciopelado, de color gris, verde oliva o café claro que cubre parcial o totalmente la superficie del fruto (Mora-

Ramos et al., 2020). La enfermedad es favorecida por temperaturas bajas, humedad relativa alta y agua libre sobre los tejidos. Cuando la enfermedad se presenta en frutos ya formados, el moho causa una pudrición húmeda que los descomponen totalmente; mientras que en los frutos que apenas se están formando, ocasiona necrosis y momificación (Leiva, 2011).

Otra enfermedad muy frecuente en los cultivos de frutales, es la Antracnosis ocasionada por *Colletotrichum gloeosporioides*, hongo que afecta principalmente los tallos y ramas donde se observan manchas ovaladas de color morado (Mora-Ramos et al., 2020). En los frutos, hojas y flores, esta enfermedad se caracteriza por producir lesiones necróticas, con tonalidades negras o marrones, con formas redondeadas u ovaladas, tamaños variables entre un diámetro de 1 mm hasta 5 cm; en algunas ocasiones, las lesiones se presentan ligeramente sumidas o poseen un contorno levemente elevado (Abella Montaña, 2015).

Mildeo veloso, es una enfermedad fúngica ocasionada por *Peronospora sparsa*, el mildeo veloso ocasiona en frutos agrietamientos y deformaciones; en los frutos inmaduros infectados, genera enrojecimiento prematuro, deteriorando su calidad, incrementa especialmente en épocas lluviosas (Mora-Ramos et al., 2020). Los frutos atacados por este hongo, se reconocen por el color blancuzco que toman, afectando la calidad del producto; su crecimiento se ve favorecido por ambientes con elevada humedad, y temperaturas moderadas a bajas (DANE, 2017).

Producción de Mora de Castilla en Colombia

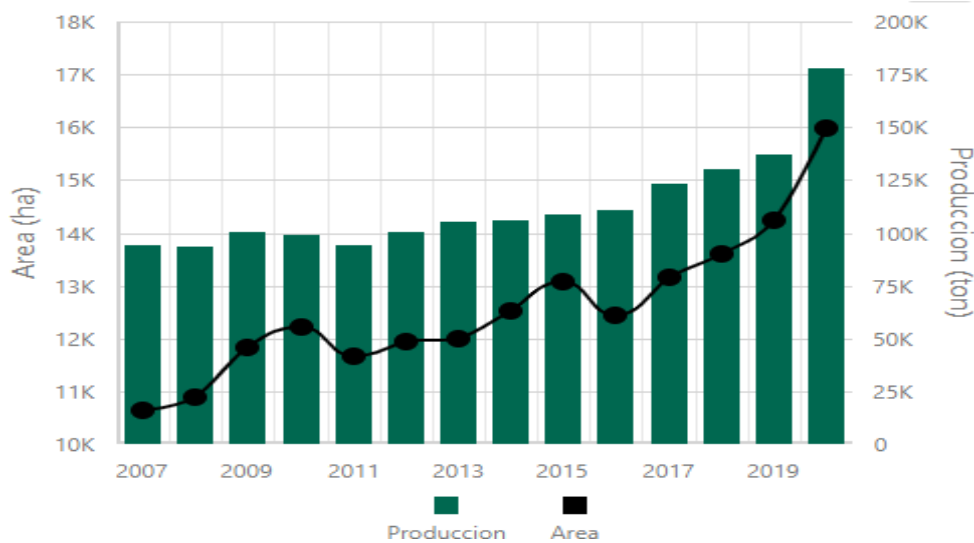
La Mora se cultiva en 18 de los 32 departamentos del País. Entre el año 2015 y 2018, las áreas cultivadas en Mora presentaron un aumento de 3.6% con respecto a los años anteriores. Cundinamarca, con un 26% del volumen total de la producción anual, seguido de Santander y Antioquia, son los departamentos más representativos en producción y comercialización de la

mora. Además de Cundinamarca, principal productor, los departamentos de Caldas, Risaralda y Tolima presentan los mayores rendimientos por hectárea, como puede verse en la tabla 2, para el año 2020 Colombia tuvo un área cultivada de mora de 1.567,41 hectáreas. (MADR, 2020).

La mora se destaca por ser un producto de alta demanda, entre los años comprendidos 2012 a 2015, se observaron incrementos significativos en cuanto a su producción de 38%, esto gracias a la generación y desarrollo de tecnología que ha favorecido al sector agrícola, incrementando su rendimiento (figura 1), para el año 2020 la producción total de mora de castilla fue de 178.161,50 toneladas en el territorio nacional.

Figura 1

Área cosechada y producción de mora de castilla en Colombia (2007 - 2020)



Fuente. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021

Tabla 2*Producción variedad mora de castilla por departamento para el año 2021*

Departamento	Área (ha)	Producción (ton)	Participación Producción Nal. (%)
Antioquia	935,90	8.613,95	5,07
Boyacá	1.136,13	12.604,48	7,43
Caldas	861,00	14.699,50	8,66
Casanare	16,00	74,25	0,04
Cauca	403,20	2.649,91	1,56
Cesar	219,00	1.215,00	0,72
Choco	3,00	15,00	0,01
Cundinamarca	4.331,40	57.467,32	33,85
Huila	1.419,95	9.303,56	5,48
Magdalena	4,50	40,50	0,02
Meta	22,00	361,00	0,21
Nariño	2.048,00	13.601,55	8,01
N. Santander	676,59	6.202,32	3,65
Putumayo	132,00	1.175,00	0,69
Quindío	46,60	222,40	0,13
Risaralda	146,71	1.242,90	0,73
Santander	3.210,00	32.136,15	18,93
Tolima	550,00	4.274,00	2,52
Valle del cauca	507,15	3.852,46	2,27

Fuente. Evaluaciones Agropecuarias del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021

La producción de Mora, puede concebirse en dos grandes núcleos, la “Zona Pacifico – Bajo Cauca”, conformada por departamentos como: Nariño, Cauca, Valle, Huila, Antioquia y el Eje Cafetero; esta zona presenta vías secundarias adecuadas y acceso a puertos marítimos. Por otro lado, está la “Zona Centro – Oriente”, conformada por los departamentos de Tolima, Cundinamarca, Boyacá, Santander, Norte de Santander, Cesar y las zonas norte del Casanare y el Meta (MADR, 2020).

Mercado nacional y externo de la Mora de Castilla

En Colombia, el principal destino de la mora se va para la agroindustria con un 60% de la producción total nacional, para la elaboración de jugos, pulpas, refrescos, conservas, confites, postres y mermelada principalmente; un 38% para el mercado en fresco de venta en supermercados y plazas de mercado; y un 2% de la producción es destinado para su exportación. Con respecto al mercado externo, los principales destinos de exportación de mora en fresco, congelada y procesada, son países como España, Curazao, EE.UU., Rusia, Reino Unido, Australia, Panamá (MADR, 2020).

De las 130.000 toneladas de mora que se produjo en el país en 2018, el 37%, es decir 47.592 toneladas del fruto, fueron distribuidas en el comercio mayorista de centrales de abasto, siendo la principal plaza de mercado CORABASTOS, en Bogotá seguida de CENTRO ABASTOS de Bucaramanga y Medellín (MADR, 2020).

En cuanto al precio del producto, la corta vida útil de la mora resultado de su composición en azúcares simples, y la rápida deshidratación que experimenta el fruto debido a su carácter múltiple - carnosos, genera que las cosechas se fermenten rápidamente; el temor en perder la producción, hace que los productores primarios vendan el producto, muchas veces a precios muy bajos.

Envases Activos

También llamados envases funcionales, hacen parte de una nueva tendencia en la tecnología del envasado de alimentos, cuyo propósito es mantener o alargar la vida útil del producto, mediante dos técnicas básicamente: retener sustancias indeseables del producto o su entorno (O, H₂O, CO₂), y liberar sustancias benéficas al producto (antioxidantes, antimicrobianos, etileno, entre otros). Con este nuevo sistema de envasado, se da respuesta a la

demanda de consumidores que buscan en los productos: alta calidad nutritiva, sensorial, sanitaria y de conservación, productos más naturales, con menos aditivos conservantes, pero a la vez con mayor vida útil (Instituto Tecnológico del Embalaje, Transporte y Logística [ITET], 2008). Por otro lado, puede denominarse empaque/envase activo aquel que desarrolla alguna función adicional al de servir como barrera a las condiciones externas del contenido (Rodríguez et al., 2014).

El envasado activo se fundamenta en el intento por prolongar la vida útil de los alimentos, manteniendo su calidad nutricional, inhibiendo el crecimiento de organismos patógenos y de deterioro, previniendo y/o indicando la migración de contaminantes y mostrando cualquier fuga o daño que pueda presentar el envase que contenga el alimento, garantizando así la inocuidad y la frescura de los alimentos (Ozdemir y Floros, 2004). Esta industria de los envases activos se preocupa por la minimización en la producción de desperdicios, ocupándose de aspectos como garantizar la inocuidad del alimento, por medio de la emisión de sustancias antimicrobianas, absorción de grasas, control de temperatura y monitoreo del estado del producto, buscando extender su vida útil (Manly, 2016).

En principio el objetivo del envasado era llevar el contenido del producto desde su producción hasta el consumidor final, protegiéndolo de daños y contaminación, además de llevar información acerca de la marca y sus beneficios. Sin embargo, sus funciones siguen evolucionando, más aún para la industria de los alimentos, donde es fundamental garantizar la inocuidad de los productos, lo cual ha sido el factor clave para generar la confianza y la satisfacción del consumidor. Es por ello que el envase activo cumple el papel principal a la hora de garantizar las condiciones óptimas del producto. En dicha evolución, la tecnología del envasado se integra desde todos los ámbitos, sirviendo a la fabricación de envases más amigables

y confiables, de tipo primario principalmente, ligando la parte social con la productiva, incluyendo así la batalla contra la falsificación que amenazan la salud de los consumidores y la rentabilidad de las empresas (Rodríguez, Rojo, Martínez, Piña, Ramírez, & Vaquera, 2014).

Los materiales empleados para elaborar los envases activos, proporcionan funciones adicionales que de alguna manera permiten que el envase interactúe con el alimento, para mejorar su calidad, seguridad y conveniencia. Con respecto a la liberación de compuestos volátiles de los envases, es un proceso de transferencia de masa por el cual sustancias de baja masa molecular inicialmente presentes en el envase, se libera en el producto contenido (Higuera, Soto, Acedo, & Peralta, 2015).

Algunos ejemplos de envases activos, son las películas y los recubrimientos comestibles, que en muchas ocasiones utilizan biopolímeros cuya materia prima para su fabricación es extraída de origen animal y vegetal, como, caparazones de crustáceos, plumas, tejido conectivo de animales, y residuos vegetales resultantes de la producción primaria agrícola; estos sirven como barrera contra la transferencia de diferentes sustancias, además protegen de la luz ultravioleta y permiten la incorporación de ingredientes activos, antioxidantes, antimicrobianos y mejoradores de textura por ejemplo.

Recubrimientos o Películas Comestibles

Márquez, Pierro, Mariniello, Esposito, Giosafatto & Parta, (2017). Afirman que “Se han considerado diversos criterios al definir los RC (Recubrimientos Comestibles) y las PC (Películas Comestibles): los RC forman una película directamente en la superficie del producto, en una o más capas, por tanto, se consideran parte del producto final. En cambio, las PC son láminas sólidas, que han sido pre-formadas y luego se aplican en la superficie o entre componentes de los alimentos”. Con respecto a la composición de los recubrimientos y

películas, Márquez et al. (2017), afirman “Los principales componentes de los RC y las PC son los hidrocoloides (polisacáridos y proteínas), lípidos y una mezcla de hidrocoloides y lípidos que forman los recubrimientos comestibles compuestos”.

Las principales diferencias entre una la película y un el recubrimiento comestible, radican en la forma de elaborarlos y de aplicarlos en el alimento. El recubrimiento, se define como un matriz transparente, comestible y delgada, que sirve de revestimiento de un producto, con una o varias capas finas de material polimérico natural; que se aplica en forma líquida, sobre la superficie del alimento, ya sea por inmersión o por aspersion de la disolución formadora del recubrimiento, con el fin de preservar su calidad y servir de empaque. Por otra parte, una película comestible es una matriz preformada como láminas sólidas, delgada de material comestible, obtenida por moldeo, cuyo espesor es siempre es mayor al de los RC y lista para su posterior uso sobre el alimento. 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 (De Los Santos Santos, 2020).

La importancia del uso de una PC o RC en aplicaciones alimentarias, es fundamental para aquellos alimentos altamente perecederos, como los son los productos hortofrutícolas; el empleo y selección de una película o recubrimiento comestible se basa en ciertas características tales como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto barrera para gases, resistencia estructural al agua, a microorganismos y su aceptabilidad sensorial. Las características mencionadas anteriormente, a su vez, están influenciados por parámetros como el tipo de material implementado como matriz estructural (polímeros, hidrocoloides, proteínas), las condiciones bajo las cuales se preforman las películas o se elaboran las soluciones filmogénicas,

y el tipo y concentración de los aditivos antimicrobianos, antioxidantes, plastificantes y emulsificantes, (Cerón, 2010).

Las PC y RC se han clasificado de acuerdo al material estructural utilizado en la formulación para obtenerlas, de modo que se habla de películas y recubrimientos comestibles basados en proteínas, lípidos, carbohidratos o compuestos. Una película o recubrimiento compuesto quiere decir que sus componentes estructurales o básicos pueden ser de dos tipos o más (lípidos e hidrocoloides, por ejemplo) combinados para formar una bicapa o un conglomerado, con la finalidad de aprovechar las propiedades y la sinergia de cada uno de los componentes, ya que las propiedades mecánicas y de barrera dependen de los compuestos que integran la matriz polimérica y de su compatibilidad (De Los Santos Santos, 2020).

De acuerdo a lo anterior, los recubrimientos y películas comestibles se pueden agrupar en tres categorías de acuerdo a su estructura: “Hidrocoloides”, aquellos que forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y barrera para los gases (O_2 y CO_2). Están constituidos por polisacáridos y proteínas de origen animal o de origen vegetal. *Lípidos*, aquellos que están formados por compuestos no poliméricos con poca capacidad de formar películas, se pueden combinar con hidrocoloides para mejorar las propiedades de barrera. “Polisacáridos”, son los más empleados por su propiedad para la formación de recubrimientos en frutas y hortalizas, son la celulosa, el almidón y el quitosano, los más usados (De Los Santos Santos, 2020).

Las películas basadas en emulsiones son menos eficientes en el control de la transferencia de agua que las películas bicapa, ya que no se logra una distribución homogénea de los lípidos en el recubrimiento o película; sin embargo, muestran buena resistencia mecánica y requieren un sencillo proceso para su elaboración y aplicación. En cuanto menor sea el tamaño de las

partículas de grasa y más homogéneamente estén distribuidas en la película, menor será la permeabilidad al vapor de agua de la misma (Cerón, 2010).

Los “polisacáridos” son polímeros que contienen grupos hidroxilos de carácter hidrofílico, por esta razón poseen alta adherencia a los productos alimenticios. Los RC preparados con estos componentes forman recubrimientos con una buena barrera frente al intercambio gaseoso, pero reducida protección a la pérdida de humedad. Poseen monómeros de carácter simple en comparación a los de las proteínas, y debido a la complejidad de su estructura molecular, resultan RC flexibles que no forman grietas al ser colocados en los alimentos. Los componentes ampliamente investigados para la formación de RC y PC son almidón y sus derivados, quitosano, alginatos, carragenina, celulosa y sus derivados, pectinas, y varias gomas (Valencia & Torres, 2016).

El uso de Componentes Bioactivos de origen vegetal, incorporados durante la elaboración de películas biodegradables, ha sido de gran interés para científicos, investigadores y población mundial, ya que su consumo se ha asociado con efectos beneficiosos sobre la salud física y salud mental de la población, porque proporcionan efectos en la prevención y el tratamiento contra una amplia gama de enfermedades. Algunos compuestos bioactivos tienen propiedades antioxidantes, actividades anticancerígenas, antiinflamatorias y antineurodegenerativas. (Nogueira et al., 2020). Cuando se aplican películas bioactivas en los alimentos, su interacción con el alimento (contacto directo), y/o medio, espacio de envasado vacío (contacto indirecto) en que se inserta el alimento, conduce a la liberación de compuestos bioactivos con diferentes propiedades (antioxidante o antimicrobiano) sobre la superficie del alimento, donde actuará para inhibir el crecimiento de microorganismos y prevenir la oxidación de lípidos, grasas y otros compuestos.

Ruiz Medina, M. D. (2015). Argumenta que los “aceites esenciales” han sido aplicados en recubrimientos por su perfume, sabor y acción conservante, esto debido a sus comprobadas propiedades antimicrobianas, haciendo de estos compuestos innovadores para la conservación de los alimentos por más tiempo. Los compuestos bioactivos responden a la exigencia de tener productos enriquecidos con sustancias naturales que mantengan sus cualidades, nutritivas y propiedades sensoriales además de aportar beneficios a la salud. Por otro, lado los aceites esenciales, además de sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, también ayudan a disminuir la permeabilidad del recubrimiento o película comestible al del vapor de agua.

El “aceite esencial de canela” (*Cinnamomum verum*), es utilizado como microbicida gracias a su componente principal, el eugenol, presente en un (70-95) % que le otorga propiedades antifúngicas y antioxidantes con potencial de ser utilizado como tratamiento postcosecha (Chasiloa Suarez, 2019). El aceite de canela ha sido empleado para controlar el crecimiento del hongo – moho gris “*Botrytis Cinerea*” en diversos frutos múltiples como la fresa, la frambuesa y la mora.

El “aceite esencial de clavo de olor”, cuya composición incluye componentes mayoritarios: eugenol 83,6 %, acetato de eugenilo 11,6 % y cariofileno 4,2 %, aunque estas cantidades pueden variar de la siguiente manera: eugenol (49-87 %), cariofileno (4-21 %), y acetato de eugenilo (0,5- 21 %), los cuales poseen una vasta y efectiva actividad antimicrobiana contra gran variedad de microorganismos para extender la vida de anaquel de una gran variedad de alimentos procesados (Chasiloa Suarez, 2019).

“Aceite esencial de romero”, diferentes estudios han encontrado que los aceites esenciales de romero poseen actividad antimicrobiana y antioxidante; su efecto antioxidante, se debe a que están conformados por una gran cantidad de compuestos de diferente naturaleza;

algunos informes sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de romero muestran que inhiben el crecimiento de bacterias y hongos, donde se necesitó un total de 0,5 % de extracto de romero. Para su empleo como antimicrobiano, debe ser activo en las condiciones fisicoquímicas específicas de los alimentos a bajas temperaturas entre (4 y 10) °C en comparación con 30 °C. Estudios reportados proporcionan evidencia de que el aceite esencial de romero y clavo, representan una fuente potencialmente rica de medicamentos y conservantes de alimentos contra microorganismos; mostraron actividad inhibitoria para *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Sánchez Calancha & Valdez Dávila, 2019).

El “Quitosano”, es un biopolímero, que ofrece un amplio potencial para su aplicación en la industria alimentaria debido a sus propiedades fisicoquímicas, tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad con los tejidos humanos, no es tóxico y en especial por sus propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Estos aspectos mencionados, hacen del quitosano un compuesto de interés para la preservación de alimentos y las tecnologías emergentes (Cerón, 2010).

“Gel de sábila”, el gel extraído de la pulpa de *Aloe vera* L, se ha utilizado en la elaboración de RC y PC, debido a su capacidad de actuar como recubrimiento, su actividad antioxidante como respuesta a la presencia de compuestos de naturaleza fenólica, y el hecho de que genera entre 4 y 2 reducciones logarítmicas en el crecimiento del micelio de mohos tales como *Penicillium digitatum*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria alternata* a concentraciones del gel a 250 mL/L (Cerón, 2010).

Con respecto al “componente proteico”, las películas comestibles elaboradas a base de proteína, como la gelatina, son barreras excelentes al oxígeno, dióxido de carbono y algunos compuestos aromáticos; no obstante, sus propiedades mecánicas no son tan eficientes. Los

materiales elaborados con un solo componente estructural, presentan deficientes propiedades de barrera y/o mecánicas, dependiendo del tipo de biopolímero utilizado, es necesario emplear mezclas de entre dos o más componentes con la finalidad de mejorar las propiedades y características del material resultante (León et al., 2018).

Las proteínas más utilizadas en la producción de recubrimientos comestibles son la gelatina, proteína de suero aislado, proteína de soja y gluten. Estos le imprimen fuerza y viscosidad a la solución matriz; las propiedades viscoelásticas están relacionadas con la composición de aminoácidos, el peso molecular medio y el grado de polimerización de las moléculas proteicas. La gelatina forma películas con alta transparencia y buena resistencia a la tracción; con el fin de mejorar sus propiedades mecánicas, se mezcla con diferentes hidrocoloides (Nogueira et al., 2020).

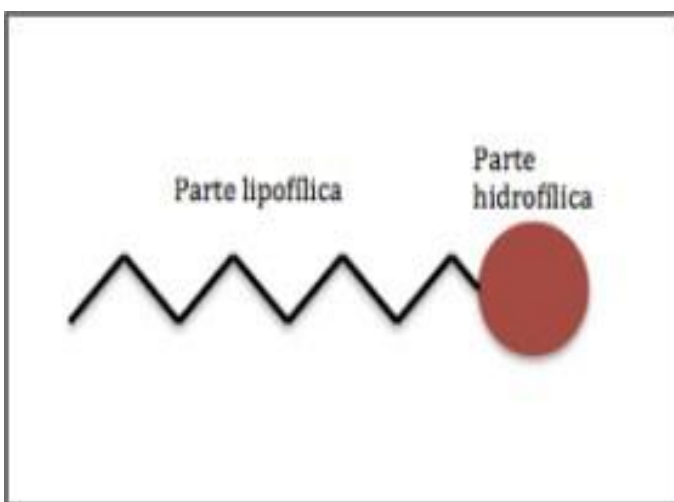
Con relación a los “lípidos”, las ceras (de abeja, de carnaúba, de parafina), y las resinas, gracias a su hidrofobicidad permiten formar recubrimientos con baja permeabilidad al vapor de agua. Sin embargo, al ser compuestos hidrofóbicos, no se adhieren bien a la superficie de los productos; además, las formulaciones lipídicas forman láminas gruesas y quebradizas, por lo que es recomendable emplearlas con la incorporación de componentes proteicos o polisacáridos con el objetivo de generar interacciones sinérgicas que den como resultado RC de mejores características. La adición de plastificantes y lípidos al mismo tiempo en los filmes y revestimientos, disminuyen aún más la permeabilidad al vapor de agua (DURANGO et al., 2011).

En relación a los “surfactantes”, también conocidos como tensoactivos o emulsificantes, son una sustancia anfifílica, es decir, posee una doble afinidad ya que tiene una parte polar y una parte no polar (Rosen, 2012). La parte polar contiene átomos como O, S, P, y N que se

encuentran en grupos alcohol, ácido, fosfato, sulfato, amina, amida, cetona, entre otros. El grupo apolar está conformado por lo regular por cadenas hidrocarbonadas, aunque también puede estar conformado por cadenas siliconadas o de perfluorocarbono. La parte polar presenta afinidad por sustancias polares como el agua por lo que se le denomina parte hidrofílica. La parte apolar presenta afinidad a sustancias no polares como los lípidos, por lo que también se le conoce como parte lipofílica. Se considera que la molécula del surfactante posee una ‘cabeza’, que es la parte hidrofílica, y una ‘cola’ que es la parte lipofílica (Figura 2).

Figura 2

Estructura de una molécula surfactante



Fuente. Gómez (2019)

Los surfactantes no-iónicos, son aquellas sustancias tensoactivas que no se ionizan en solución acuosa haciéndolos compatibles con otros surfactantes para formar mezclas complejas, así mismo son menos sensibles a la presencia de electrolitos por lo que pueden utilizarse en presencia de salinidad alta. Existen diferentes tipos de surfactantes no-iónicos predominando aquellos que contienen una cadena poli (óxido de etileno) enlazada con un grupo hidroxilo o con

una amina. Los surfactantes comerciales indican su distribución de número de grupos de óxido de etileno, en forma abreviada EON (número de óxido de etileno). Se necesitan por lo menos 5 a 7 grupos óxido de etileno para obtener buena solubilidad en agua, ya que estos grupos son los que le confieren su calidad hidrofílica a la cadena (Gómez, 2019) .

Una “nano-emulsión” también conocidas como: mini-emulsiones, emulsiones ultrafinas o emulsiones sub-micrometricas, son soluciones cuyo tamaño de gota se encuentra comprendido entre (20 – 500) nm. Entre sus principales características se encuentran, ser transparentes o translúcidas según el tamaño del glóbulo de grasa, poseer elevada estabilidad cinética, no requieren elevadas concentraciones de surfactante, pero termodinámicamente inestables; sus propiedades dependen del método de preparación. Las nano-emulsiones, son usadas en la industria de los alimentos como sistemas acarreadores de compuestos bioactivos de naturaleza lipofílica, ya que tienen poco impacto en las propiedades sensoriales de los alimentos y alta biodisponibilidad (Cardoso-Ugarte & Jiménez-Munguía, 2015).

Las nano-emulsiones pueden ser preparadas por métodos de dispersión de alta energía algunos ejemplos son: los ultrasonidos o los homogeneizadores de alta presión; o por métodos de condensación o fisicoquímicos, que son denominados de baja energía donde se ocupa ligera agitación y/o cambios de temperatura o composición (conductividad eléctrica).

Las nano-emulsiones, son de dos tipos: aceite en agua (O/W), y agua en aceite (W/O), determinados por las fases de agua o aceite que actúan como fase continua o dispersada. Las nano-emulsiones, están compuestas por tres partes: una fase oleosa, en esta fase que es insoluble en agua se usan sustancias como aceites esenciales, aceite de soya, aceite pescado, grasas alimenticias, entre otros. La fase acuosa, es la fase dispersante que se encuentra en mayor cantidad en la emulsión. Por último, el emulsificante o surfactante, es una sustancia que posee

doble afinidad porque posee una parte apolar y una polar, en la parte polar se encuentran átomos como el S, P, N y O que están dentro de grupos fosfatos, sulfatos, alcohol, cetona, éter, etc. Por otro lado, el grupo apolar está formado por cadenas hidrocarbonadas, siliconadas y de perfluorocarbono, Mihai (2016).

Técnicas de Elaboración de Nanoemulsiones

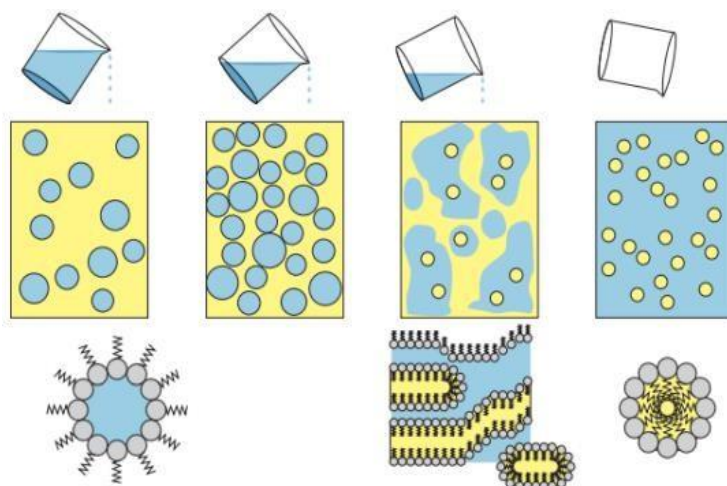
Para lograr obtener una óptima formación de una nanoemulsión, es importante el uso de energía y esta se ha clasificado según Segura Cantu, M. S. M. (2019). En dos grupos:

Procesos de baja energía: Estos procesos se basan en alterar las condiciones del entorno para poder formar gotas dentro de sistemas de agua-aceite-emulgente, donde los procesos más utilizados son: emulsión espontánea, proceso de autoensamble, emulsiones por membrana y desplazamiento por solvente. Este proceso tiene una variante llamada inversión catastrófica de fases donde se aplica la agitación constante para mantener estable la emulsión, en esta técnica es recomendable controlar la proporción aceite-emulgente y la velocidad a la que se agrega. Ver figura 3.

Proceso de alta energía: Indica que los procesos de alta energía consisten en aplicar una alta cantidad de energía lo cual permite al sistema mantener su estabilidad a pesar de que se modifique o cambie su composición, estos dependen de diferentes dispositivos mecánicos, como el homogeneizador de alta velocidad, los homogeneizadores de alta presión y los microfluidizadores; estos podrían proporcionar una energía intensiva para interrumpir el aceite y el agua y producir gotas finas. Segura Cantu, M. S. M. (2019).

Figura 3

Proceso de emulsificación por formación espontánea



Nota. Imagen tomada de: Cardoso & Jiménez. (2015).

Otro método empleado para obtener emulsiones de gota fina, es la homogeneización a alta presión, la cual hace que la mezcla de emulsión primero sufra altas presiones y luego pase una válvula controlada, esto impide que las gotas se rompan y forma gotitas finas esto depende de las composiciones de emulsión, el tipo de emulsión a formar, y los parámetros de homogeneización a alta presión, que incluyen presión, temperatura y ciclo, afectan directamente las propiedades de las nanoemulsiones formadas (Mihai, 2016).

La “ultrasonificación” es un medio muy eficiente para dispersar sólidos o para emulsionar líquidos. Al disminuir la medida de la partícula sólida o de la gota de líquido, el área de la superficie de contacto total se incrementa y en consecuencia aumenta la velocidad de reacción. Otro efecto de la sonicación es la transferencia de masa. En sistemas heterogéneos, los productos de reacción se van acumulando en la superficie de contacto, lo cual impide la interacción de nuevas moléculas de reactivo con esta superficie. Las fuerzas de corte mecánico causadas por los

rayos cavitacionales producen un flujo turbulento y transporte de material desde y hacia las superficies de las partículas sólidas o de las gotas, de forma que se va maximizando la exposición de unos reactivos con los otros. Por otro lado, la combinación de chorros líquidos de alta velocidad, altas presiones y altas temperaturas, y muy elevadas velocidades de calentamiento y de enfriamiento que tienen lugar durante la implosión de las burbujas cavitacionales hacen de la cavitación ultrasónica un medio único para transferir energía a las reacciones químicas.

“Método de inversión de fase”, la dispersión fina se obtiene mediante energía química resultante de las transiciones de fase que ocurren mediante el método de emulsificación. Las transiciones de fase adecuadas se producen cambiando la composición a temperatura constante o cambiando la temperatura a composición constante. El método de temperatura de inversión de fase (PIT) se introdujo basándose en el principio de cambios de solubilidad del tensioactivo de tipo polioxietileno con la temperatura. Sharma, N., Mishra, S., Sharma, S., Deshpande, RD y Sharma, RK (2013).

Técnicas de Elaboración de Recubrimientos Comestibles

Según De Los Santos Santos, M. A. (2020), para la elaboración de recubrimientos o películas comestibles se pueden realizar de acuerdo a las siguientes técnicas:

“Eliminación del disolvente”, esta técnica consiste en formar una estructura molecular mediante interacciones físicas y químicas que resulta de incorporar un material hidrocoloide con un disolvente adicionado con plastificantes, el cual posteriormente es eliminado, el producto final es una capa delgada seca.

“Solidificación”, este método consiste en disolver macromoléculas con un plastificante hasta su completa homogeneización, la solución final es vertida en moldes.

“Gelación térmica”, la técnica consiste en formar un gel estable de estructura rígida mediante la desnaturalización de polisacáridos y/o proteínas por tratamiento térmico, el cual es utilizado para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles

“Por el método de “Casting”, es un proceso húmedo, que, una vez realizada la disolución de los componentes de la película, se evapora el disolvente, que generalmente es agua, a temperatura y humedad controlada, esto provoca la formación de la película. Una vez preparada la solución con el componente plastificante, emulsificante y bioactivo; la mezcla es servida en cajas de petri con una cantidad ajustada, y luego se exponen a condiciones de temperatura y humedad, para su secado. Es un método utilizado tanto a escala de laboratorio, como a escala industrial.

“Pulverización electro hidrodinámica”, el método consiste en atomizar el líquido formador de la película mediante un alto potencial eléctrico, el resultado es la producción de micro y nano-película delgadas.

Metodología

Para el diseño y evaluación del recubrimiento comestible funcionalizado con compuestos activos, elaborado a partir de pectina extraída de la cáscara de cacao, para la conservación de la mora de castilla (*Rubus glaucus*), se propuso la siguiente metodología en marcada en la línea de *investigación de Ingeniería de procesos de Alimentos y Biomateriales*:

Los aspectos generales tenidos en cuenta en la metodología, fueron: formulación y optimización para la obtención del recubrimiento comestible RC; evaluación de la película comestible obtenida, caracterización y análisis de la estabilidad de la mora de castilla durante el almacenamiento al ser sometida al tratamiento con la película biodegradable; diseño experimental, y finalmente el análisis estadístico de los datos de campo.

Diseño Experimental Seleccionado

Para el montaje de la elaboración del RC, se realizó un diseño experimental tipo factorial 2^2 por triplicado, tomando como factores de estudio: porcentaje de pectina (%P), y la relación pectina-almidón (P/A), según se indica en la tabla 3; y como variables de respuesta: la capacidad antioxidante, el color y la resistencia mecánica del RC. El análisis preliminar de los datos, la adecuación del modelo, la significancia estadística de los coeficientes de regresión y la interacción entre las variables independientes (P/A; %P) fueron llevados a cabo mediante el análisis de varianza (ANOVA). La significancia de los coeficientes estimados en el modelo se probó con el estadístico F ($P \leq 0,05$) y un nivel de confianza del 95%.

Tabla 3

Los factores de estudio para el diseño experimental tipo factorial 2²

<i>Factores de estudio</i>	<i>Niveles</i>
<i>Porcentaje Pectina de Cacao:</i>	
%P1	1.0%
%P2	2.0%
<i>Proporción pectina / almidón:</i>	
P/A1	1:1
P/A2	1:2

Fuente. Autor

Adicionalmente, se llevó a cabo la optimización del modelo polinomial obtenido en el diseño experimental 2², para determinar las condiciones de relación pectina-almidón (P/A), y porcentaje de pectina (%P), que maximizan la capacidad antioxidante y la resistencia mecánica del RC, y presentan las mejores características de color. El ajuste del modelo empírico (completamente al azar), se verificó a la luz de los resultados experimentales, realizando tres replicas experimentales, y comparando estos resultados con los predichos por el modelo polinomial ajustado.

Por otro lado, la diferencia de medias de los datos obtenidos en la evaluación del comportamiento de la mora de castilla ante la aplicación del RC con adición del principio activo, así como su comportamiento sin la aplicación del RC, se identificó mediante un análisis de varianza ANOVA, seguido un test LSD (Least Significant Difference) de Fisher, empleando el software “Desing Expert”, con un nivel de significancia de 0,05 (95% de confianza).

Materiales y Reactivos

Para el montaje de elaboración de la nanoemulsión y del recubrimiento comestible, se necesitó de componentes estructurales como: biopolímeros, agentes plastificantes y de barrera, emulsificantes; y componentes bioactivos. Se utilizaron los siguientes compuestos: pectina extraída de la cáscara de cacao, de las variedades (criollo y trinitario), con AG³ del 58%, material que fue suministrado por la Universidad del Tolima (Ibagué-Tolima, Colombia), mezclas de nanoemulsión a partir de aceite esencial de canela (solución antioxidante y antimicrobiana) a una concentración de 2 % p/p, solución matriz con y sin almidón, empleando una relación pectina/almidón (1:1 y 1:2), solución plastificante (glicerol), se utilizó almidón de maíz (con un contenido aproximado de amilosa del 26.86), emulgentes no iónicos: tween 80/20 (polisorbato), y agua destilada y/o desionizada, para finalmente obtener soluciones filmogénicas a concentraciones de 1 y 2 % p/p de pectina de cacao.

Los reactivos requeridos para el componente experimental del proyecto, fueron: solución buffer pH (4 y 7), DPPH (radical libre 1,1 -difencil-2-picril-hidrazilo), Trolox (antioxidante patrón ácido -2 -carboxílico-6- hidroxil-2,5,7,8 - tetrametilcromo), Hidróxido de Sodio 0,1 N, y Fenoltaleína al 1% (m/v).

Para aplicación del recubrimiento comestible, se empleó mora de castilla proveniente de la vereda Villa Restrepo, zona cañón del combeima, de la ciudad de Ibagué, la fruta fue recolectada siguiendo los parámetros de calidad según NTC 4106 (color, tamaño, sanidad, consistencia): fruta firme, pintona, de color vino tinto, entera, sana, sin ningún tipo de daño biológico, libre de humedad superficial; las frutas fueron previamente seleccionadas y

³ Ácido Galacturónico

clasificadas; luego lavadas con agua potable, desinfectadas a 50 PPM con hipoclorito de sodio, y almacenadas a una temperatura de 5°C.

Métodos Empleados

Preparación de la Nanoemulsión

La elaboración de la nanoemulsión tipo agua en aceite (W/O), se llevó a cabo por el método de ultrasonido por sonicación con una amplitud del 85%, empleando en su formulación tres fases, para la fase oleosa se utilizó inicialmente aceite de aguacate, pero debido a que los resultados en términos de capacidad antioxidante de la nanoemulsión no fueron los esperados, se decidió cambiar dicho aceite, y emplear aceite esencial de canela (eugenol y linalool), para la fase acuosa o dispersante se empleó agua destilada y desionizada, y finalmente como fase surfactante o emulsificante, se trabajó con tween 80. La nanoemulsión, se preparó a una concentración de 2 % p/p de la fase oleosa, empleando diferentes proporciones (1:1, 2:1 y 3:1) entre el surfactante y el aceite esencial, todo con el objetivo de obtener unas gotas de aceite muy finas. Cada experimento se realizó por triplicado según las condiciones expuestas.

El procedimiento fijado fue el siguiente: se pesaron los materiales tween 80, aceite de canela, y agua destilada para una masa total de 100 g, según se indica en la tabla 4. Se mezclaron los componentes empleando para ello un beaker de 200 mL de la siguiente manera: tween y aceite de canela, se agitaron por espacio de 5 minutos y luego se agregó el agua gota a gota, para evitar que la mezcla se gelificara. Se calentó y agitó la disolución, en plancha de calentamiento durante 15 minutos, hasta lograr una mezcla adecuada. Luego se detuvo el calentamiento y se dejó enfriar hasta los 50°C. Después se sometió la disolución a sonicación por un tiempo de 30 minutos, y una amplitud de 85%, buscando por medio de la aplicación de ciclos de compresión y

expansión de las ondas acústicas “Principio de cavitación”, la ruptura de las fuerzas de cohesión de las moléculas de la emulsión, y lograr la separación de las gotas de grasa en la mezcla.

Se hizo el montaje para una muestra control, la cual consistió en pesar los componentes de la emulsión: agua, aceite y emulsificante, mezclarlos de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente, sin someter la muestra a sonicación, y luego envasar. Finalmente, las muestras fueron almacenadas por un tiempo de 30 días a condiciones de refrigeración a 4°C, tiempo durante el cual se evaluó su comportamiento, principalmente se observó el cambio de color de blanco lechoso (macro-emulsión), a translucido (nano-emulsión).

Tabla 4

Formulaciones para las muestras de nanoemulsión con aceite esencial de canela 2% p/p, por ultrasonido.

Muestra	Componente	Cantidad	Peso total muestra
Muestra 1 – relación 1:1	Tween 80	2 g	100 g
	Aceite esencial de canela	2 g	
	Agua destilada	96 g	
Muestra 2 – relación 2:1	Tween 80	4 g	100 g
	Aceite esencial de canela	2 g	
	Agua destilada	94 g	
Muestra 3 – relación 3:1	Tween 80	6 g	100 g
	Aceite esencial de canela	2 g	
	Agua destilada	92	

Fuente. Autor

Preparación de la Solución Filmógena

Se realizaron las 4 soluciones filmogénicas requeridas para el diseño experimental descrito anteriormente, y una solución adicional en la que se duplicó la concentración del plastificante, para analizar su efecto sobre el RC, todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado. Las soluciones filmógenas, se prepararon siguiendo el procedimiento descrito por (Zambrano et al., 2017). Cada solución se preparó como se indica en la tabla 5. Se partió de alistar las diferentes disoluciones estructurales: nanoemulsión de aceite esencial de canela a la concentración indicada (2 % p/p) como ingrediente activo, aquella que dio los mejores resultados a la luz de translucidez y estabilidad (numeral 5.3.1); solución matriz (agua + pectina + almidón); y la solución plastificante (glicerol + agua destilada / desionizada). La solución preparada con almidón se calentó previamente a 68°C, mientras, la solución preparada a base de pectina se hizo a temperatura ambiente.

La mezcla final se llevó a cabo después de tener las disoluciones listas; se mantuvo la agitación durante todo el tiempo para el montaje de la solución filmogénica. Finalmente se incorporó el ingrediente activo (antioxidante y antimicrobiano), y se agitó durante 5 minutos más. Las muestras de las diferentes soluciones filmógenas, se enfriaron hasta alcanzar la temperatura ambiente 25°C. Las películas se elaboraron por el método de vertido y secado en placas de plástico, con dimensiones de diámetro y altura (94x16) mm, sirviendo entre (5 y 7) mL por cada caja. Luego las cajas con solución filmogénica, fueron expuestas a una temperatura de 35°C, por un tiempo de secado de 2 horas; temperatura de refrigeración a 4°C y HR del 75% por 12 horas; y a temperatura ambiente (25 °C) por 15 horas respectivamente. Transcurrido el tiempo de secado, se desmoldó la película biodegradable, y se sometió a pruebas de calidad.

Tabla 5

Formulación usada para elaborar el recubrimiento biodegradable. Diseño Experimental

Propuesto.

Componente	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
Material hidrocoloide					
/ Biopolímero:	1 g	2 g	2 g	4 g	4 g
<i>Almidón de maíz</i>					
<i>Pectina de cacao</i>	1 g	1 g	2 g	2 g	2 g
Plastificante:					
<i>Glicerol / sorbitol</i>	2 g	2 g	2 g	2 g	4 g
Nano emulsión:					
<i>Aceite esencial de</i>	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
<i>canela 2%</i>					
Agua destilada					
/ desionizada	95 g	94	93 g	91	89 g
Total	100 g	100 g	100 g	100 g	100 g

Fuente. Autor

Evaluación Propiedades del Recubrimiento Comestible

Con el objetivo de conocer la efectividad del recubrimiento biodegradable al ser aplicado sobre la fruta, fue necesario inicialmente evaluar las propiedades tanto de los prototipos previo al diseño experimental, como de la muestra optimizada, antes de su aplicación a la fruta. Algunos de los ensayos para evaluar el RC, requirieron que el recubrimiento líquido en este caso, se preformara sobre superficie, para proceder a su caracterización (colorimetría, resistencia), para

ello, se siguió el método de casteo (casting), método muy simple, que permite controlar el espesor del film, ya que se utilizan superficies planas (cajas de Petri).

Análisis del Color. Esta prueba se llevó a cabo mediante la determinación de las coordenadas del espacio CIE Lab (L^* , a^* , b^*) en un colorímetro digital 3NH YS3020 (figura 4), con aditamento para análisis de líquidos. El experimento se realizó a las 5 muestras sin diluir, tanto en estado líquido como sólido, y por triplicado, las muestras se encontraban en almacenamiento por refrigeración a 4°C.

Figura 4

Colorímetro digital 3NH YS3020



Nota. Lectura de las coordenadas CIElab de las muestras líquidas y sólidas de RC

Se emplearon las siguientes ecuaciones 1 y 2 del sistema CIElab, para cuantificar las coordenadas (h^*) tonalidad y © saturación, con la finalidad de definir el color de las muestras (Mendoza & Borges, 2015).

$$\text{Coordenada } h = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \left(\frac{180}{\pi}\right) \quad (1)$$

$$\text{Coordenada } C = \sqrt{a^2 + b^2} \quad (2)$$

El pH (Potencial de Hidrogeno). Se midió directamente a las muestras líquidas, con el potenciómetro EZODO modelo ZG1, analizando por triplicado cada una de las soluciones filmógenas (ver tabla 5).

Actividad Antioxidante. Se empleó la técnica *in vitro* DPPH, para medir la capacidad antioxidante del ingrediente activo utilizado para la elaboración del recubrimiento biodegradable (aceite esencial de canela), empleando para esta prueba sustancias cromógenas de naturaleza radical para verificar la actividad antioxidante, donde el cambio de color es directamente proporcional a la concentración de compuesto antioxidante en la solución filmogénica, permitiendo además, determinar la protección del alimento frente a la oxidación o su posible deterioro.

La actividad antioxidante del RC, se llevó a cabo a través del método aplicado por (Brand-Williams et al., 1995), el cual se basa en la reducción del radical libre DPPH. 1,1 – difenil-2-picril-hidrazilo, a una absorbancia medida entre (515 – 518) nm. Para hallar la actividad antioxidante de la solución filmogénica, se preparó una dilución de cada muestra en proporción (1:5 y 1:10) con agua destilada, se tomaron 200 μ L de cada muestra y se le adicionó a cada tubo con la muestra 2800 μ L de la disolución de DPPH al 0,1 mM. Todas las reacciones fueron llevadas a una cámara oscura durante 30 minutos a temperatura ambiente y se midió la absorbancia a 518 nm en un espectrofotómetro marca JENWAY 7305. Los ensayos experimentales se hicieron por triplicado a cada concentración. Se usó el ácido -2 -carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8 – tetrametilcromo (Trolox) como patrón de referencia por ser un potente antioxidante.

La actividad antioxidante fue expresada como el “porcentaje de inhibición”, también llamado “porcentaje de DPPH consumido”, empleando para ello las ecuaciones 3 y 4:

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = 1 - \frac{\text{Absorbancia muestra}}{\text{Absorbancia blanco}} * 100 \quad (3)$$

$$\% \text{ de DPPH Consumido} = \frac{\text{Abs Blanco} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs blanco}} * 100 \quad (4)$$

Para la preparación del antioxidante Trolox – antioxidante patrón, se preparó solución trolox a diferentes concentraciones. Se realizó lectura de absorbancia en espectrofotómetro a 515 nm longitud de onda, alimentando celdas con 240 µL de solución (200 µL de DPPH + 40 µL de trolox), con el fin de elaborar la curva de calibración, para posteriormente realizar la lectura de la capacidad antioxidante de las muestras expresada como equivalente de trolox / 100 g de muestra.

Resistencia Mecánica: Esta característica se midió manualmente, exponiendo la película comestible (discos con un diámetro de 80 mm), a una fuerza externa de alargamiento, aplicada en dos puntos extremos de la misma, y su comportamiento se evaluó empleando la siguiente tabla de referencia.

Tabla 6

Escala de medición cualitativa de la resistencia mecánica – tracción

Resistencia	Características
Baja (1)	Mínima resistencia, y quebradiza ante la acción mecánica.
Media (2)	Poca resistencia, no se rasga fácilmente.
Alta (3)	Muy resistente a la tracción mecánica. Se requirió mayor fuerza, para desgarrar en algún punto la superficie de la película.

Fuente. Autor

Optimización de la Solución Filmogénica

Se llevó a cabo la optimización del modelo polinomial obtenido en el diseño experimental 2², para determinar las condiciones de relación pectina-almidón (P/A) y porcentaje de pectina (%P), que maximizan la capacidad antioxidante y resistencia mecánica de los RC y presentan las mejores características de color. El ajuste del modelo empírico se verificó a la luz de los resultados experimentales, realizando tres replicas experimentales y comparando estos resultados con los predichos por el modelo polinomial ajustado.

Acondicionamiento de la Fruta

Se seleccionaron y clasificaron frutos de mora de castilla *Rubus glaucus* con grado de madurez 5 (color vino tinto brillante), estado en que generalmente se cosecha la fruta, pues presenta buena firmeza, peso, % de acidez y sólidos solubles totales (SST) adecuados de acuerdo a la NTC 4106. Se tomó una muestra de la fruta, aproximadamente 250 g de producto, para su posterior caracterización inicial.

Como parte de la caracterización inicial de la muestra, se llevaron a cabo diferentes análisis de tipo físico químico y microbiológico. Se evaluaron parámetros como: Diámetro, Peso, Grados Brix, Acidez Titulable, Índice de Madurez, y pH; empleando 6 frutos por cada muestra, para un total de 5 muestras. La fruta fue seleccionada y analizada para un grado de madurez 5. Las muestras se seleccionaron teniendo en cuenta la tabla de color de la NTC, evaluando visualmente que los frutos presentaran un color rojo intenso, con algunas drupillas de color morado.

Se prepararon 2 muestras: una muestra de fruta sin aplicación de recubrimiento comestible (control o testigo), denominada **T1** “tratamiento uno”, y una muestra de fruta con adición de recubrimiento más ingrediente activo (aceite esencial de canela nanoemulsionado),

denominada **T2** “tratamiento dos”. En los tratamientos todas las muestras fueron analizadas por triplicado. La muestra inicial, fue acondicionada de la siguiente manera: se lavó la fruta con agua potable, luego se desinfectó empleando para ello hipoclorito de sodio a 50 PPM / Amonio Cuaternario a 200 PPM, y se enjuagó tres veces con suficiente agua potable. Finalmente, las muestras se secan.

Ensayo Aplicación Película Comestible a la Fruta Entera

Antes de aplicar la solución filmogénica a la fruta, esta debió ser caracterizada como se indica en el numeral anterior. Estos ensayos se realizaron antes de la aplicación del recubrimiento comestible, durante y al finalizar el ensayo. El control fisicoquímico y microbiológico de la fruta con y sin RC, se realizó para los días: 0,1, 5, 7 y 11 del almacenamiento.

Se procedió a realizar la aplicación del recubrimiento por inmersión, a la mora de castilla entera, limpia y desinfectada. En la aplicación por inmersión, se sumergió totalmente la fruta en el recubrimiento líquido (200 mL) por un tiempo promedio de 60 segundos, el material excedente se dejó drenar del producto y, finalmente, se secó con ventilación artificial para su solidificación.

Posteriormente se sumergió el producto cubierto con la película, en una solución de cloruro de calcio CaCl_2 al 1 % por un minuto para la gelificación y compactación de la película; y luego las muestras cubiertas con RC se secaron en horno a temperaturas de 35 por 2 horas.

Las diferentes muestras de fruta (mora de castilla) con aplicación de RC y la muestra control, fueron almacenadas en una cámara climática HPPeco (Memmert), bajo las siguientes condiciones de refrigeración: (0-5) °C / (65 -70) % HR, la temperatura fue monitoreada con un termohigrómetro digital “Control Company”.

Evaluación Características de Calidad de la Fruta

La fruta con aplicación del RC, y la muestra de control (fruta entera sin RC), fueron evaluadas y monitoreadas cada tres días, por un lapso de 11 días. Por otro lado, la muestra inicial se caracterizó antes del experimento, con el fin de determinar su grado de madurez. Los parámetros evaluados y analizados, fueron: porcentaje de pérdida de humedad / peso, y grado de deterioro de la fruta.

Pérdida de Peso. Esta prueba se realizó por gravimetría, empleando la balanza analítica OHAUS; con el objetivo de determinar el porcentaje de pérdida de peso de la muestra, resultado de la respiración y transpiración de la fruta. La fruta fue pesada el día cero, y cada tres días durante su almacenamiento como parte del ensayo experimental. La pérdida de peso o de masa, fue definida como la diferencia entre el peso inicial de la muestra, y el peso obtenido de la misma para cada día de ensayo (día 0, día 1, día 3...día 11). La pérdida de peso fue expresada en porcentaje, empleando la ecuación 5:

$$Ec. \% \text{ Pérdida de Peso: } \frac{(m_o - m_1)}{m_o} \times 100 \quad (5)$$

Donde, m_o es la masa o peso inicial de la muestra en el día 0 del ensayo experimental (mora acondicionada con o sin recubrimiento), m_1 es la masa o peso de la muestra para el día correspondiente de análisis (día 3, día 9...día 11).

Grado de Deterioro. Este parámetro fue determinado por medio del porcentaje de daño o deterioro de la fruta, durante su periodo de almacenamiento bajo las mismas condiciones de humedad, luz y temperatura. Se realizó una observación detallada de la muestra, detectando el número de frutos que presentaron daños biológicos o físicos visibles, tales como: daños ocasionados por insectos, o microorganismos, por cambios en la temperatura, la humedad del medio, deshidratación, daño por frío; generando cambios morfológicos en la muestra. El porcentaje de daño o deterioro en la fruta, se halló de acuerdo a la ecuación 6:

$$Ec. \% \text{ Grado de Deterioro: } \frac{(m_d)}{m_o} \times 100 \quad (6)$$

Donde, m_o es la masa o peso inicial de la muestra en el día 0 del ensayo experimental (mora acondicionada con o sin recubrimiento), m_d es la masa o peso de la muestra dañada para el día correspondiente de análisis (día 3, día 9...día 11).

Con respecto al daño biológico, este se analizó cualitativamente a través de la determinación del número de frutos con visible afectación ocasionada por hongos de la familia *Botrytis Cinerea*; por medio de la presencia o ausencia de colonias afelpadas, de color gris-blancuecino sobre la superficie del fruto.

Determinación de Sólidos Solubles o Grados Brix. Se empleó el método de refractometría, y se expresaron como Grados Brix. Como los azúcares son los componentes mayoritarios en los zumos de frutas, el análisis del contenido de sólidos solubles es un buen estimador del contenido de azúcar en los jugos de frutas, ya que ésta representa más del 90% de la materia soluble en la mayoría de ellos. Un grado Brix corresponde a 1 gramo de sacarosa en 100 gramos de solución y por tanto representa la fuerza de la solución como un porcentaje en peso (% p/p) (en sentido estricto, en masa). Este procedimiento tiene utilidad adicional con respecto al inicio de la degradación de la fruta por vía fermentativa, pues a medida que

disminuye su valor, indica que ha iniciado su proceso de descomposición. Se inició calibrando el refractómetro portátil, empleando para ello agua destilada y verificando la escala de medición del equipo, la cual debía encontrarse en cero; se colocó en el prima del equipo, 3 o 4 gotas de jugo de la fruta (mora de castilla) previamente filtrado; apuntando el refractómetro hacia un foto de luz para hacer la lectura; se tomó la medición a través del ocular, justo en la división entre la franja oscura y la franja clara, el resultado obtenido se expresó en “Grados Brix”; por cada muestra se realizó 3 mediciones de Grados Brix, con sus respectivos ajustes por temperatura de referencia del equipo.

La lectura final se corrigió utilizando el porcentaje de ácido contenido en la fruta, mediante la siguiente ecuación:

$$Ec. SST_{COR} = (0,194xA) + SST \quad (7)$$

Donde, A es el porcentaje de ácido predominante en la muestra, y SST son los Grados Brix por lectura.

Acidez total por volumetría – Acidez Titulable. Correspondiente a ácido málico. El método se basó en determinar el volumen de NaOH al 0.1 N, necesario para neutralizar el ácido contenido en la alícuota que se tituló (muestra del zumo de la mora de castilla), determinando el punto final por medio del cambio de color que se produce por la presencia del indicador ácido-base empleando (Fenolftaleína al 1%), alcanzando un pH final de la muestra alrededor de 8.2. se empleó la siguiente ecuación para determinar el porcentaje de acidez en la fruta durante el muestreo y análisis:

$$Ec. \% \text{ Acidez} = \frac{(Vol.NaOH) \times (N NaOH) \times (mEq \text{ Acido Málico})}{Volumen \text{ Zumo}} \times 100 \quad (8)$$

Donde, “Vol. NaOH” es el Volumen del hidróxido de sodio consumido durante la titulación en mL, “N NaOH” corresponde a la Normalidad de la base estandarizada, “mEq” son

los miliequivalentes del ácido predominante en la fruta (ácido málico para mora de castilla), y “Volumen zumo” es el volumen de la alícuota (jugo de fruta) en mL.

El pH (Potencial de Hidrogeno). se midió con el potenciómetro EZODO modelo ZG1, analizando por triplicado cada una de las muestras, soluciones compuestas por agua destilada, y extracto de la fruta resultado de la maceración de la misma, en relación de peso 1:1.

Resultados y Discusión

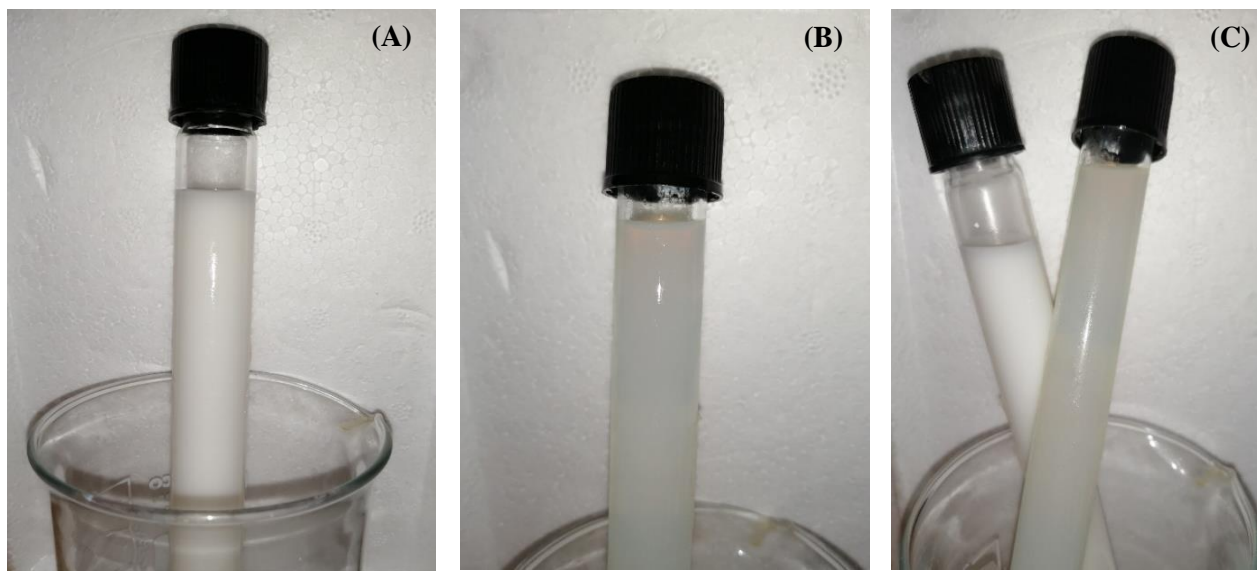
Características Físicas de la Nanoemulsión a Base de Aceite Esencial

Se realizó un primer ensayo, propuesto inicialmente con aceite de aguacate a una concentración de 2.5% p/p, empleando el ensayo PIT (Temperatura de Inversión de Fase), para controlar el punto de formación de nanopartículas oleosas, con una relación tween-aceite en 3:1. Este fue un ensayo fallido, aunque la textura y el color de la nanoemulsión fueron aceptables, al utilizar la solución en el diseño del recubrimiento comestible, y su posterior aplicación a la fruta, el compuesto activo aceleró el pardeamiento enzimático de la misma, y el grado de descomposición al transcurrir 5 días durante refrigeración a 4°C.

El tratamiento más eficiente para obtener la nanoemulsión, se logró utilizando aceite esencial de canela al 2% p/p, homogenizado por medio de cavitación ultrasónica, según procedimiento descrito en la metodología. Pudo observarse una gran diferencia en el color de la solución nanométrica con aceite de canela, sin tratamiento y con tratamiento por sonicación durante 5 min y con una amplitud del 85% (ver figura 5). Después de homogenizar la emulsión por cavitación ultrasónica, se logró obtener una nano-emulsión líquida, isotrópicamente transparente y termodinámica estable, para brindar mejor cohesión y transparencia en la película comestible. Lo anterior gracias a la inyección de ondas ultrasónicas que, al pasar por el interior de la muestra, generó diminutas burbujas de gas, haciendo que disminuyera el área de las gotas lipídicas de la emulsión, incrementando así su área total de contacto, y a su vez la velocidad de reacción como vehículo posterior del componente activo en la película comestible. Por otro lado, se logró obtener mayor estabilidad y translucidez en las muestras homogenizadas por sonicación, gracias a la ruptura de las interacciones intermoleculares, facilitando así una dispersión de las partículas de grasa en la solución.

Figura 5

Montaje Solución Lipídica por Técnica de Emulsión vs Nanoemulsión con Aceite Esencial de Canela al 2.0 % p/p



Nota. (A) emulsión con aceite esencial de canela obtenida por método tradicional; (B) nanoemulsión obtenida por la técnica de cavitación ultrasónica; (C) comparación de ambas técnicas.

Respecto a la relación tween 80: aceite esencial, la formulación empleada para el montaje de los sistemas nanométricos a partir de aceite de canela con una concentración de 2% p/p, fue la muestra número 3 la que presentó las mejores características sensoriales (según se indica en la tabla 4), con una relación (3:1) entre el componente surfactante y el componente lipídico. Esta proporción de componente emulsificante en la muestra, dio como resultado una nanoemulsión más translúcida y estable en el tiempo.

La técnica de cavitación ultrasónica, permitió, además, obtener una notable reducción en el tamaño de las gotas de grasa en la suspensión, mejorando así la apariencia y resistencia de la película formada.

Elaboración del Recubrimiento Comestible a partir de Aceite Esencial de Canela y Pectina de Cacao

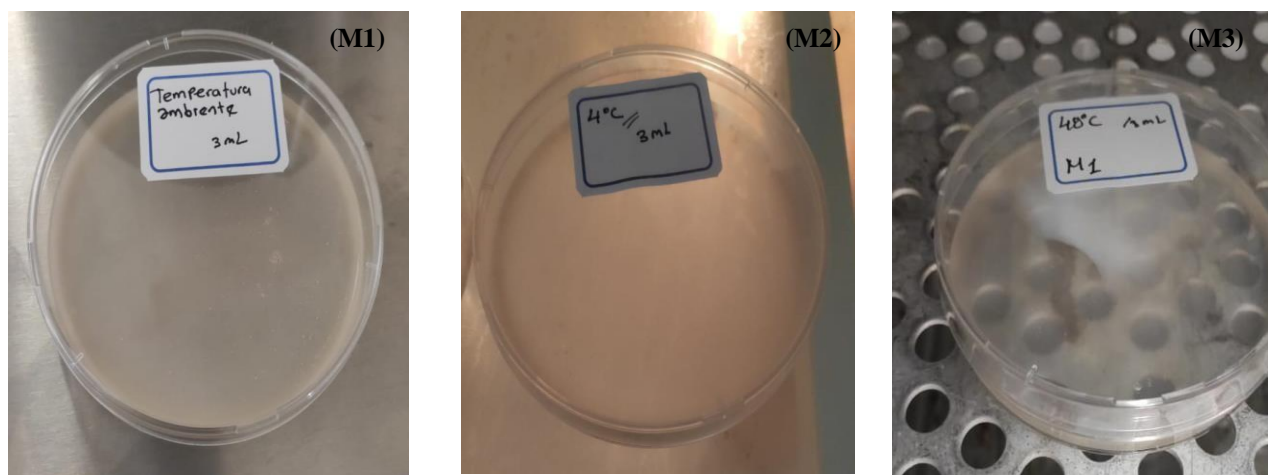
Para la elaboración de la matriz se emplearon como agentes estructurales del recubrimiento comestible la pectina de cacao y almidón de maíz en relación (1:1; 1:2), incorporando como agente plastificante (glicerol 2% y 4%), y agente bioactivo (aceite esencial de canela nanoemulsionado 2%).

Las diferentes técnicas empleadas para la obtención de la lámina sólida, a partir de la solución filmogénica, permitieron evaluar preliminarmente características sensoriales similares, como olor, y color. En la figura 6, se pueden observar las PC, obtenidas por los tres métodos de secado en placa: refrigeración a 4°C, secado al horno a 35°C y secado natural a temperatura ambiente. Sin embargo, la película que mostró mejor textura y resistencia a la tracción mecánica, se obtuvo por medio del secado a 35°C por un tiempo promedio de 2 horas; siendo este último el más eficiente para la formación de la película biodegradable.

Las muestras formaron una capa delgada, con buena resistencia, color translucido, y un sabor ligeramente ácido (pH 3.62); características obtenidas por ambos sistemas de secado, al ambiente a una temperatura promedio de 25°C, y secado en horno a una temperatura de 35°C.

Figura 6

Servido de recubrimiento comestible por diferentes técnicas: M1; M2; M3



Nota. **M1** (caja de Petri + solución de recubrimiento comestible: secado al medio ambiente); **M2** (caja de Petri + solución de recubrimiento comestible: secado en refrigeración a 4°C); **M3** (caja de Petri + solución de recubrimiento comestible: secado en horno a 35 °C).

De las 5 muestras elaboradas y evaluadas, en un primer acercamiento a la caracterización de las mismas, la “muestra 5”, película comestible incorporada como mayor proporción de glicerol (4% p/p), en relación a las demás formulaciones, presentó mayor flexibilidad y fuerza, propiedad atribuida al glicerol, componente plastificante de la solución filmógena.

Evaluación Físicoquímica de la Solución Filmogénica

La solución filmógena preparada a partir de aceite esencial de canela al 2%, conservada en condiciones de refrigeración alrededor de 6°C, se sometió a diferentes pruebas, como: capacidad antioxidante, pH, espesor, y color; se obtuvieron los siguientes resultados.

Evaluación Antioxidante de la Solución Filmogénica

Se llevaron a cabo los ensayos por DPPH para medir la capacidad antioxidante de las soluciones filmogénicas empleadas con incorporación de nanoemulsión de aceite esencial de

canela al 2% de concentración m/m, los resultados fueron expresados en términos de % de DPPH consumido, y equivalente de trolox. En la tabla 7, se evidencia la respuesta de las muestras diluidas a una proporción 1: 5 (una parte de solución filmógena, por 5 partes de agua destilada), al reaccionar en presencia del radical DPPH al 0.1 mM.

Fue necesario diluir las muestras filmogénicas ya que, al realizar los primeros ensayos, empleando las muestras a su concentración inicial del 0,02% de aceite esencial de canela, las muestras lograron atrapar y degradar rápidamente el radical libre DPPH, lo cual se evidenció en los primeros minutos, con el cambio de color de la solución (muestra + radical) de morado a amarillo, y no se logró posteriormente realizar la lectura de absorbancia, esto debido a que la capacidad antioxidante de las muestras estaba al 100% (ver anexo G). Por otro lado, la pectina de cacao presente en la solución filmógena fue precipitada por la presencia del solvente orgánico utilizado en la preparación del radical utilizado en el montaje de la prueba.

Las muestras de solución filmógena fueron consideradas activas para la prueba de capacidad antioxidante, ya que todas las muestras presentaron un porcentaje de DPPH consumido superior al 65%. De las muestras ensayadas, los valores de % de inhibición del DPPH o DPPH consumido calculados, varían entre máximos y mínimos de (85,66 y 66,21) % para los ensayos con DPPH (tabla 7). Los resultados de capacidad antioxidante fueron significativos, a pesar de haber diluido las muestras, los porcentajes de DPPH consumido fueron altos (mayores a 50%), indicando una capacidad antioxidante alta en la muestra.

Tabla 7

Porcentaje de inhibición del radical DPPH en muestras de recubrimiento biodegradable con aceite de canela al 0,02%, y lectura de absorbancia a una longitud de onda en espectro de 515 nm.

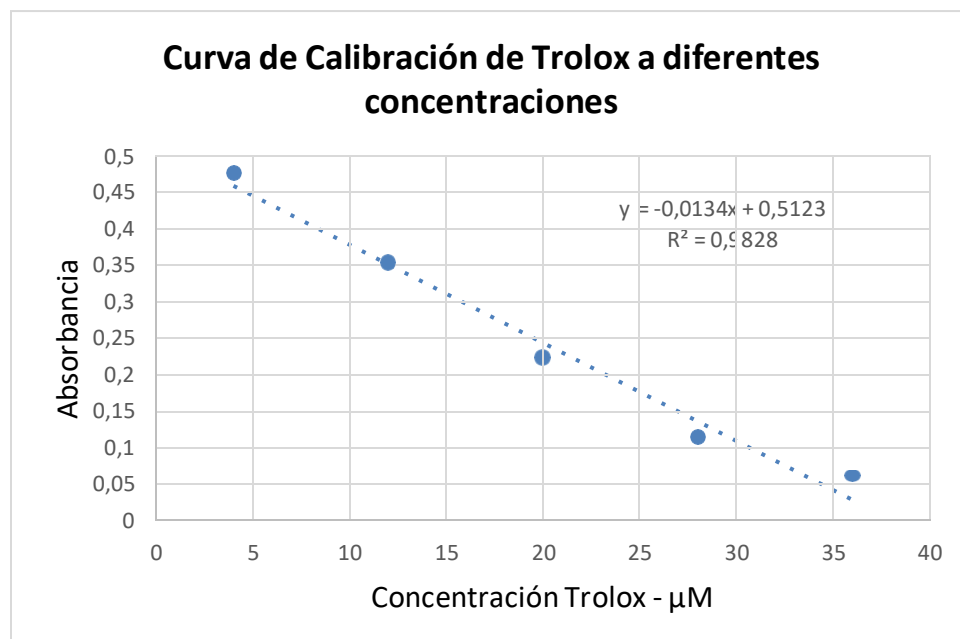
Muestra (sln filmógena)	% de DPPH consumido	Equivalente trolox $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ de muestra	Equivalente trolox $\mu\text{M}/\text{g}$ de Aceite Canela
1	67,599	0,7811	128,8806
2	73,636	0,8514	140,4851
3	68,323	0,7895	130,2736
4	<u>85,666</u>	0,9916	163,6070
<i>Optimizada</i>	63,083	0,5945	2,9726

Fuente. Autor

Los resultados de la actividad antioxidante de las distintas muestras líquidas del RC biodegradable, también fueron expresados en términos de “actividad equivalente Trolox” – (TEAC). Para ello se hizo una regresión lineal simple con los datos de absorbancia del trolox a diferentes concentraciones μM con una lectura de longitud de onda 515 nm, con un coeficiente de correlación R^2 (0,9828), y se predijo la capacidad antioxidante en términos “ $\mu\text{Mol Trolox} / \text{g}$ de componente activo en la película”, como se presenta en la figura 7.

Figura 7

Curva de Calibración del antioxidante Trolox – antioxidante patrón, por espectroscopia a 515 nm



Fuente. Autor

Evaluación del color

A las diferentes soluciones del recubrimiento en estado líquido y sólido, le fueron evaluados los parámetros de color empleando el colorímetro digital 3NH YS3020, a través del espacio del color CIELab. En la tabla 8 se presentan los valores para las coordenadas L^* , a^* y b^* que describen el color de las respectivas muestras.

De acuerdo a la coordenada CIELab L^* (luminosidad acromática), los resultados arrojados por la técnica, ubicaron a las muestras en un rango entre (30 – 36), de lo cual se puede deducir que las mismas presentan poca luminosidad, translucidez o claridad; lo anterior debido a que cuando el valor de L^* se encuentra entre (0-50) indica una tendencia a la opacidad, mientras que un valor entre (51-100) indica que la muestra tiende a tomar un color translucido, esto analizando la variable correspondiente a la luminosidad L^* (Mendoza & Borges, 2015).

Así mismo, analizando las coordenadas CIELab a^* y b^* , se puede deducir que las muestras proyectan estímulos acromáticos, puesto que los valores para dichos parámetros se mueven hacia el centro de la esfera CIELab (L^* , a^* y b^*) con un valor mínimo para el parámetro a^* (-0,33) y un valor máximo de (0,09); con respecto al parámetro b^* , su valor mínimo fue de (-1,63), y el valor máximo alcanzado fue de (2,53); es decir que las muestras carecen de tono y saturación. Lo anterior, debido a que no hay presencia de pigmentos de la gama (rojo, verde, amarillo, azul) en las formulaciones empleadas para elaborar las soluciones filmogénicas.

Empleando las ecuaciones del sistema CIELab, se logró cuantificar los atributos de color (h^*) tonalidad y (C) saturación, con la finalidad de definir el color de las muestras (Mendoza & Borges, 2015). La saturación en todas las muestras analizadas fue baja, con valores para la variable C que oscilaron entre (1-2), presentando un leve incremento en la muestra 4, cuya formulación manejó un 2% de pectina de cacao, siendo esta más elevada que en las otras muestras. Lo anterior significa, que no hubo orientación de las muestras hacia los tonos: rojo, verde, amarillo o azul.

Tabla 8

Coordenadas CIELab - prueba de color

Muestra de PC	Coordenadas de color - CIELab				
	L^*	a^*	b^*	c	h
1	34,00	-0,17	-1,01	1,01	260,51°
2	35,54	-0,24	-1,63	1,65	-81,63°
3	36,09	-0,29	-1,29	1,32	257,29°
4	46,02	0,09	2,53	2,53	88,05°
5	30,82	-0,33	-1,3	1,34	255,81°

Fuente. Autor

Resistencia de la Película Comestible

Las películas obtenidas por el método de vertido en placa (casting), presentaron valores de resistencia a la tensión, que oscilaron entre 2 y 3 puntos de acuerdo a la tabla de referencia 6, este valor se debió gracias a la incorporación y relación de pectina-almidón, aportándole significativamente firmeza y resistencia a la película preformada, gracias a sus propiedades estabilizantes y gelificantes; por otro lado, la incorporación de glicerol, ayudó a mejorar en gran medida la flexibilidad y elasticidad de la película biodegradable.

Evaluación Físicoquímica de la Solución Filmogénica Optimizada

Análisis del Diseño Experimental y Formulación Optimizada

Con el resultado arrojado por el diseño experimental factorial 2^2 , se llevó a cabo la formulación optimizada (ver tabla 9 y 10) de la solución filmogénica que más se ajustó a los parámetros deseados en la película comestible: maximización de la capacidad antioxidante, la resistencia mecánica y el color; y, por otro lado, buscando minimizar el porcentaje de almidón de maíz empleado en la composición de la matriz.

Tabla 9

Corridas por tratamiento preliminar para la elaboración del RC optimizado

Corridas	% pectina	Relación A:P	pH	Cap. antioxidante	Color (L)
1	2	2:1	3,64	73,093	46,02
2	2	1:1	3,67	66,214	36,09
3	1	2:1	3,62	74,27	35,54
4	1	1:1	3,6	69,592	34

Fuente. Autor

El ANOVA del diseño experimental fue verificado con los supuestos de distribución normal, varianza constante e independencia. Los resultados mostraron que no se evidencio efecto significativo de los factores sobre el color del RC, por lo que no se obtuvo un modelo para esta variable respuesta. Para la actividad antioxidante y resistencia, los datos fueron ajustados a un modelo de interacción de 2 factores (2FI). En las ecuaciones 9 y 10, se presenta el polinomio que describe la influencia de las variables independientes %P y (P/A) sobre la actividad antioxidante y la resistencia del RC, respectivamente.

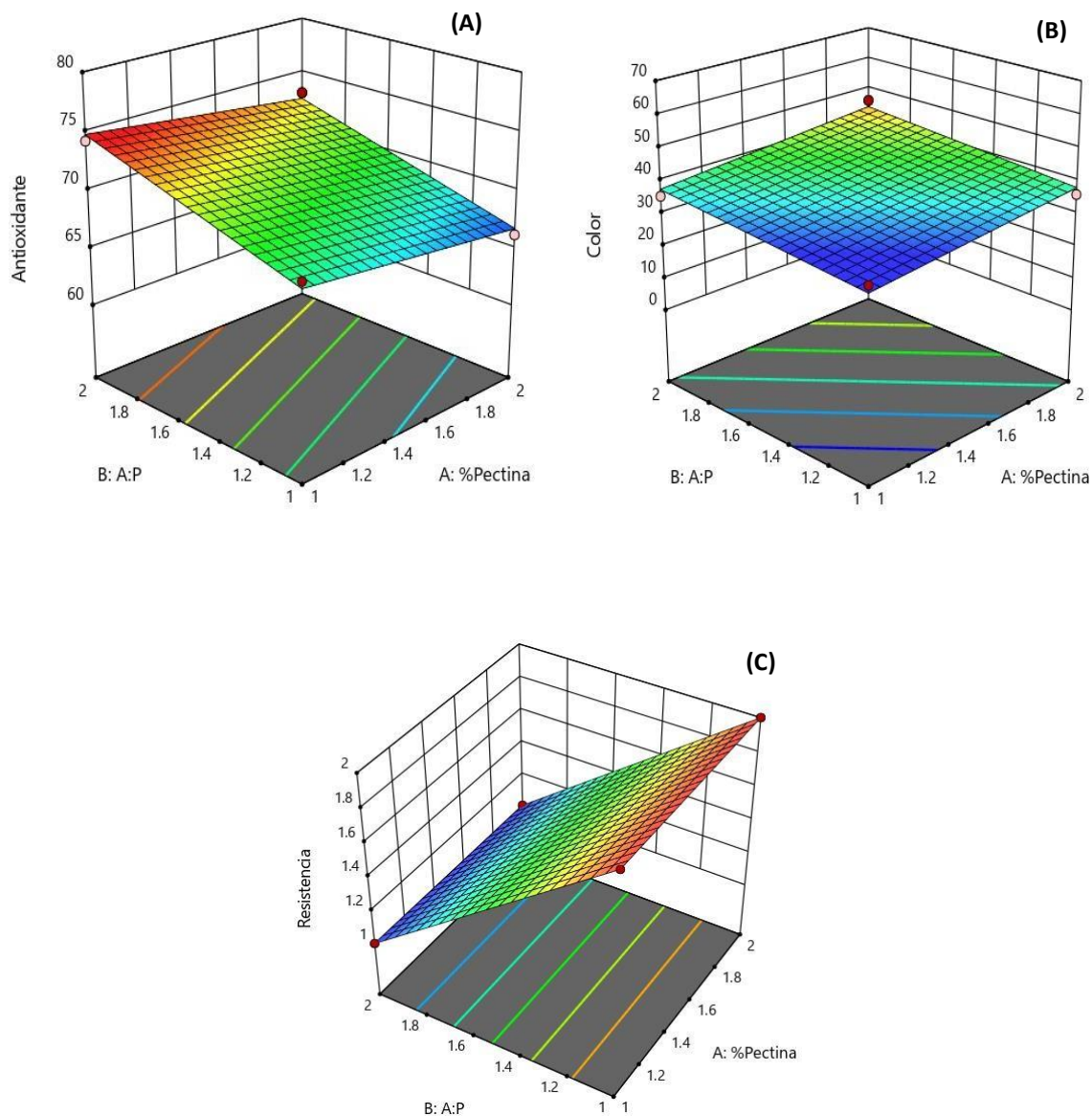
$$\text{Act. Antioxidante} = 70,79 - (1,14 \times \%P) + (2,89 \times A/P) \quad (9)$$

$$\text{Resistencia} = 1,5 + (0,0001 \times \%P) - (0,5 \times A/P) \quad (10)$$

En la Figura 8, se muestra el comportamiento gráfico de las variables respuesta en función de los dos factores. En concordancia con el modelo, las superficies de respuesta muestran que las variaciones en los factores en el rango trabajado, no representan cambios significativos sobre el color de los RC. Por otro lado, el factor P/A fue el que mostró mayor influencia sobre la actividad antioxidante y resistencia de los RC.

Figura 8

Gráficos de Contornos del Efecto de los Factores % Pectina y Relación (P/A) sobre las Características del Recubrimiento Comestible.



Nota. Gráfico de Superficie de Respuesta de los Efectos Relativos de los Factores relación (P/A), y % de Pectina sobre (A) Actividad antioxidante; (B) Color; (C) Resistencia.

El modelo obtenido fue sometido a un procedimiento de optimización con la metodología de superficie de respuesta, con el fin de identificar la solución filmogénica que más se ajusta a los parámetros deseados en la película comestible: maximización de la capacidad antioxidante, la resistencia mecánica y el color; y, por otro lado, buscando minimizar el porcentaje de almidón de maíz empleado en la composición de la matriz. Las condiciones óptimas definidas fueron las que se describieron en la tabla 10 y figura 9.

Tabla 10

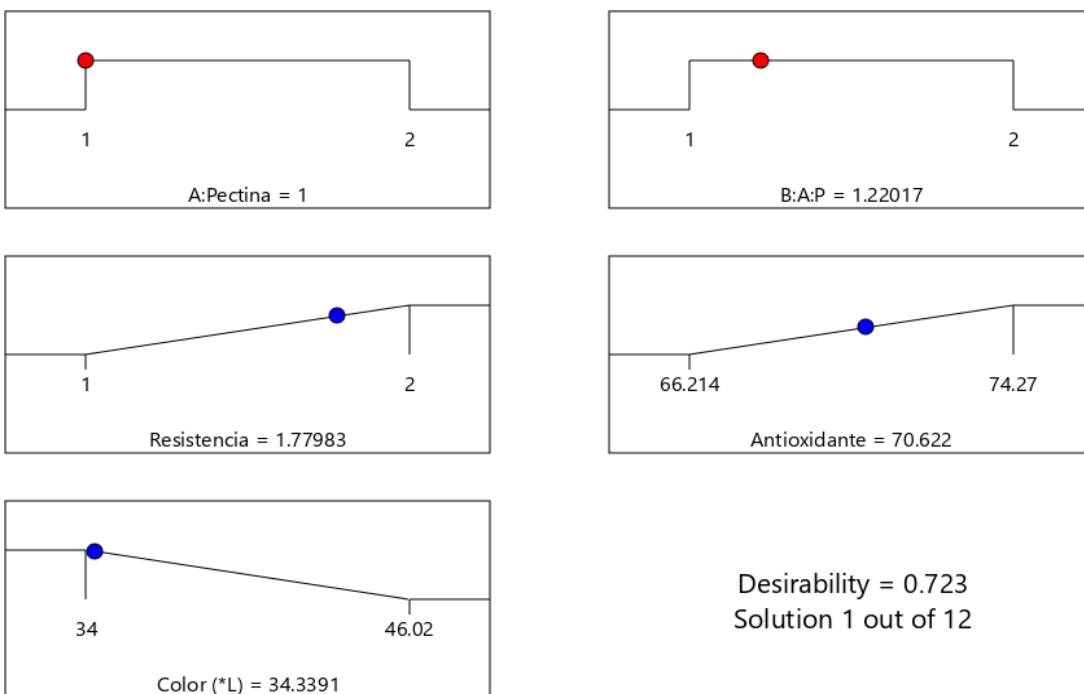
Formulación optimizada por diseño para elaborar el recubrimiento biodegradable a partir de pectina de cacao al 1%; y una relación A/P (1/1,22)

Componentes:					
Material	Material	Material	Nanoemulsión:	Agua	Total
hidrocoloide: (Almidón maíz)	hidrocoloide: (Pectina de cacao)	Plastificante: (Glicerol)	(Aceite esencial de canela)	destilada /desionizada	
1,22 g	1 g	2 g	1 g	94,78 g	100 g

Fuente. Autor

Figura 9

Composición de la solución filmogénica y parámetros esperados de la muestra optimizada, empleando software Desing Expert – Factorial 2²



Nota. Optimización del RC a partir del modelo arrojado por los gráficos de superficie de respuesta.

Se desarrollaron ensayos experimentales a las condiciones óptimas para evaluar la validez de este modelo y se midieron las características del RC obtenido.

Los resultados se presentan en la tabla 12, en los que se incluye el error relativo existente entre los valores predichos y experimentales. Este último parámetro señala la capacidad del modelo para predecir el comportamiento de las variables respuesta en función de los factores %P y A/P.

Tabla 11

Valores predichos y experimentales en la optimización de %P y A/P para formulación de la solución filmogénica para elaboración de los RC

Variable Respuesta (MO)	Valor Experimental	Valor Predicho	Error Relativo %
Capacidad Antioxidante: % DPPH Consumido	63,083±0,016	70,62	10,67
Color: L*	41,25±0,06	34,3391	16,74
Resistencia - PC	2,5±0,71	1,77	29,2

Fuente. Autor

Con las respuestas experimentales obtenidas de los diferentes ensayos para la elaboración del RC a partir de pectina de cacao con incorporación de agentes funcionales, se realizó un diseño experimental tipo factorial 2² por triplicado. A partir de estos datos, se realizó la optimización de la composición de la solución filmogénica del RC. apoyados en el software Desing Expert para generar y analizar los datos.

La solución filmogénica optimizada, preparada a partir de aceite de canela al 2%, conservada en condiciones de refrigeración alrededor de 6°C, se sometió a diferentes pruebas, como: capacidad antioxidante, pH, espesor, y color; se obtuvieron los siguientes resultados.

Evaluación del Color

A la muestra optimizada por diseño factorial 2², en estado líquido RC y laminada PC, le fueron evaluadas los parámetros de color empleando el colorímetro Konica Minolta Cr- 5, y la técnica CIElab.

Con respecto a la coordenada L (luminosidad acromática), los resultados arrojados por la técnica, ubicaron a las mismas en un rango entre (30 – 36), de lo cual se puede deducir que las muestras presentan poca translucidez o claridad (Schanda, 2007).

Tabla 12

Coordenadas Prueba de Color – CIELab en la Película Comestible Optimizada - PC

Muestra de PC	Coordenadas de color - CIELab				
	L	a	b	c	h
MO	44,19±4,57	-0,13±0,11	-0,69±0,12	0,70±0,10	258,93±10,41

Fuente. Autor

Tabla 13

Coordenadas prueba de color – CIELab en la Solución Filmógena - RC

Muestra sin diluir	Coordenadas de color - CIELab				
	L	a	b	c	h
MO	41,25±0,06	-0,70±0,21	-0,11±0,85	0,94±0,06	191,14±5,81

Fuente. Autor

Evaluación de las Características de la Mora de Castilla Sometida a un Recubrimiento Comestible a partir de Pectina de Cacao con Adición de Sustancias Bioactivas

Caracterización Inicial de la Muestra

Previo a la aplicación del RC, la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) fue caracterizada con el fin de evaluar sus parámetros fisicoquímicos, y compararlos con la NTC 4106. Como

indica la tabla 14, podemos ver que las respectivas muestras cumplen con las especificaciones de la norma, esto con el fin de poder trabajar con una muestra representativa de la variedad de la fruta.

Tabla 14

Parámetros fisicoquímicos de la mora de castilla Grado de madurez 5 con respecto a la norma

Parámetro	Muestra G5	Norma NTC 4106
Diámetro (cm)	1,80 ± 0,038	(1,4 – 2,2)
Peso (g)	5,33 ± 0,660	(4,2 – 6,2)
Calibre	C-D	C – D
pH	2,79 ± 0,130	-
° Brix (%SST)	8.5 ± 0,114	(7,2-7.9)
% acidez – A. Málico	2,566 ± 0,045	2,8
IM	3,297 ± 0,066	2,6

Fuente. Autor

Con respecto al calibre, los frutos se encontraron entre la referencia *C* y la referencia *D*, es decir frutos con un diámetro promedio entre (1,4 - 2,2) cm, y un Peso promedio entre (4,2 - 6,2) g. Lo anterior, corresponde a frutos destinados a mercados minoristas como: plazas de mercado, tiendas de barrio, y pequeños supermercados.

En relación con los resultados de los análisis fisicoquímicos, los frutos presentaron un pH alrededor de 2,79, un contenido de ácido málico promedio de 2,56 % (g/100 mL de jugo), y unos solidos solubles corregidos de 8,9 %, lo que evidencia su normal comportamiento fisiológico y

metabólico en su respectiva fase de maduración, a medida que aumenta el potencial de hidrogeno en la muestra, su concentración de acidez disminuye, y su contenido de azúcares va aumentando.

Estos datos fisicoquímicos, correspondientes al grado de madurez 5, al ser comparados con los parámetros para una fase superior e inferior en el desarrollo de la mora de castilla, evidencian un incremento del contenido de Sólidos Solubles Totales SST directamente proporcional con el grado de madurez, pero indirectamente proporcional al porcentaje de acidez; esto debido a la conversión de los ácidos orgánicos en azúcares, el uso de los ácidos como sustrato durante la respiración, o la reserva de carbohidratos de la planta por baja capacidad fotosintética de la fruta (Ayala et al., 2013).

El pH disminuye a través de las fases de maduración de la mora, llegando a un pH cercano a 2,8 para la muestra (GM 5), esto debido a reacciones bioquímicas naturales para el desarrollo del fruto, inicialmente presentando elevadas concentraciones de ácidos orgánicos (málico), y moléculas que le aportan hidrogeniones (H^+); sin embargo, el incremento del pH en las últimas fases de maduración de la mora, y la disminución de su acidez, es resultado de la actividad de enzimas que promueven la acumulación de sacarosa y glucosa durante el llenado de los frutos, y presentando un descenso en la concentraciones de (H^+) a nivel vacuolar (Ayala et al., 2013).

De acuerdo a los resultados de los Sólidos Solubles Totales ($^{\circ}Bx$), el porcentaje de ácido málico, y el IM, se logró corroborar el grado de madurez de la muestra (GM 5); así como, el cumplimiento de los parámetros mínimos con respecto a la norma NTC4106, en características físicas generales del fruto como son: frutos enteros, con forma característica de la mora de castilla, frutos de apariencia sana, sin signos de deterioro biológico y/o mecánico, y sin exceso de humedad superficial. Finalmente, también se consiguió obtener una muestra característica de su

variedad, estado de madurez y en óptimas condiciones higiénico-sanitarias, para ser empleada en el ensayo de aplicación del RC.

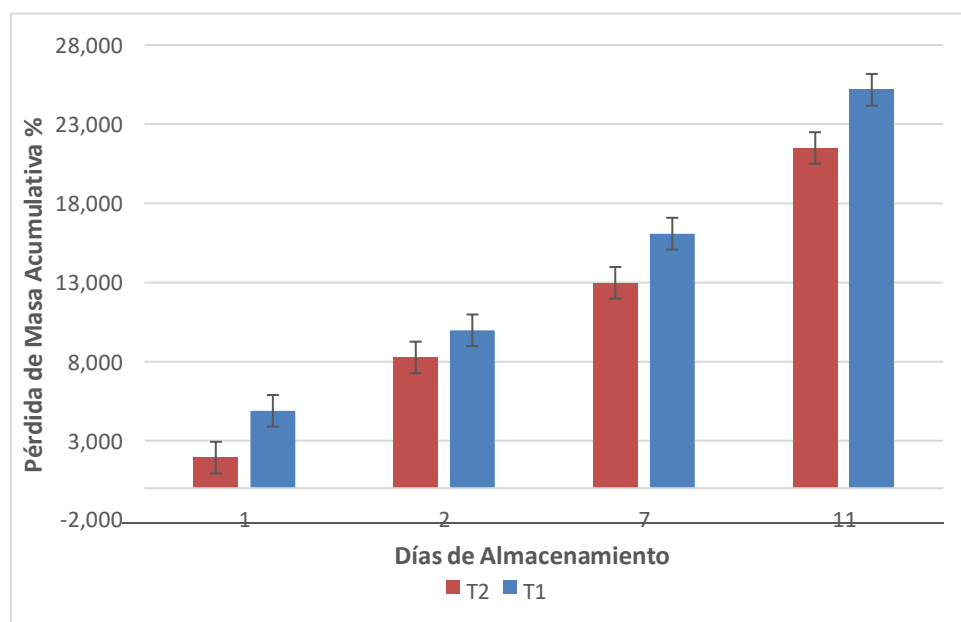
Pérdida de Peso de la Fruta

Durante el tiempo de almacenamiento se llevaron a cabo los diferentes ensayos para evaluar los cambios de la fruta, con y sin aplicación del recubrimiento comestible.

En la figura 10 y 11, se muestra la pérdida de peso que manifestaron ambas muestras ante el T1 y T2, la fruta control o testigo (sin aplicación de RC), y la fruta con aplicación de RC, los tratamientos presentaron una diferencia significativa ($P \leq 0,05$) durante todo el periodo de almacenamiento, desde el día 0 hasta el día 11. Puede observarse, además, que a partir del día 7 del experimento, se dio la mayor pérdida de peso para ambas muestras, lo anterior podría indicar el pico de tasa de respiratoria para la mora de castilla.

Figura 10

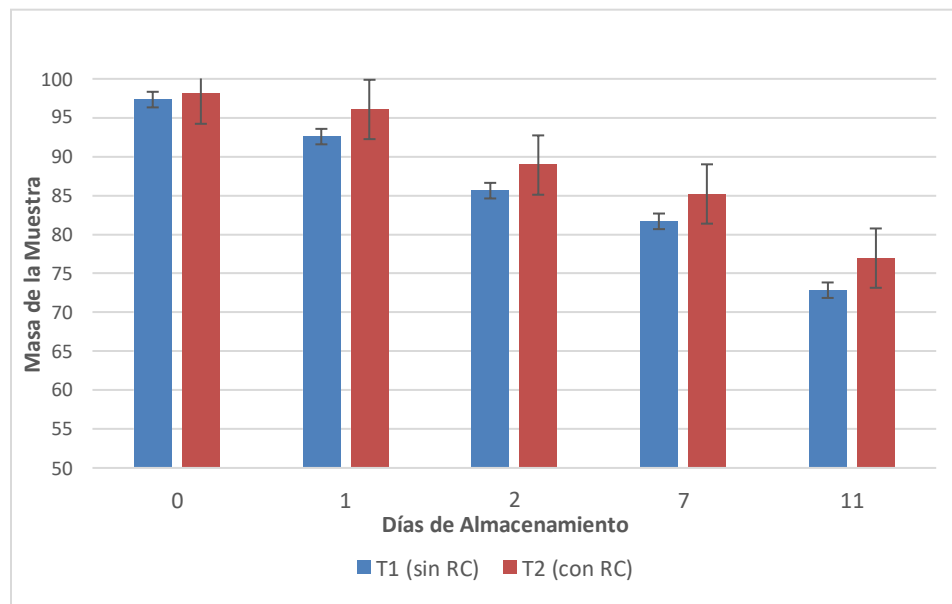
Pérdida de Masa Acumulativa de la Mora de Castilla, con aplicación y sin aplicación de RC, durante el almacenamiento.



Fuente. Autor

Figura 11

Pérdida de Masa de la Mora de Castilla, con aplicación y sin aplicación de RC, durante el almacenamiento.

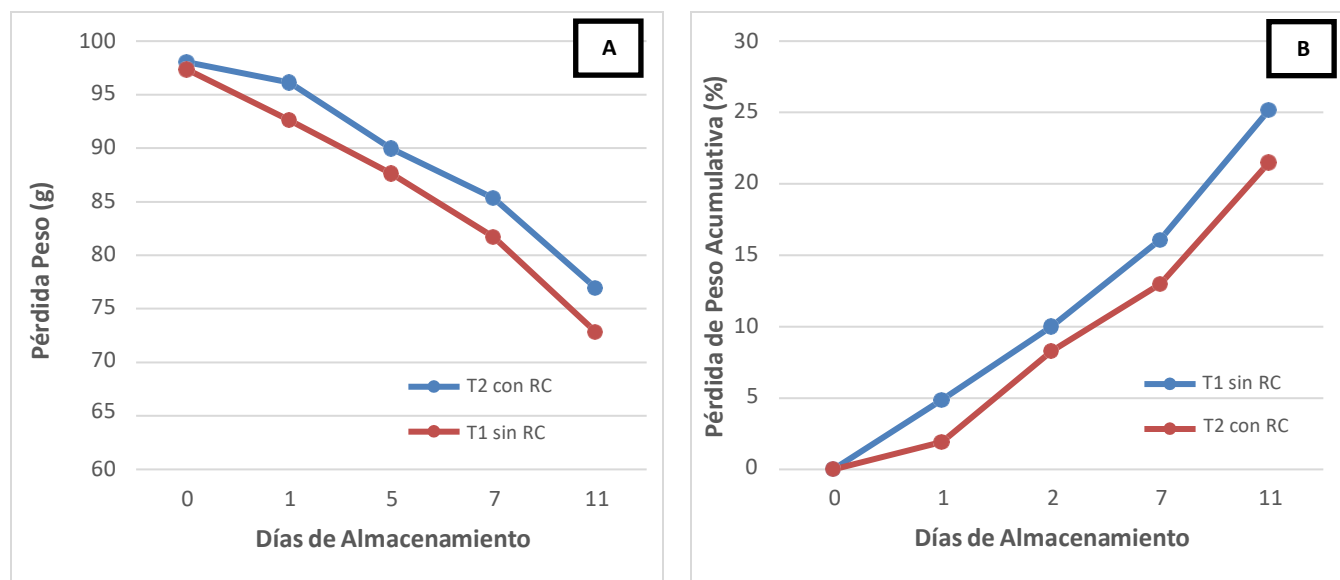


Fuente. Autor

Las muestras de mora de castilla con grado de madurez 5, sin aplicación de recubrimiento (T1), y con aplicación de recubrimiento (T2), que fueron almacenadas durante un periodo de 11 días, a una temperatura de refrigeración de 5°C, y una humedad relativa de 64%, presentaron una pérdida de masa para el **día uno** de 4,88 % y 1,933% respectivamente (Figura 12). La pérdida de masa total o acumulada durante este periodo de almacenamiento, fue de 25,17 % y 21,48 % respectivamente; mostrando diferencias significativas entre un tratamiento y otro.

Figura 12

Efecto de la aplicación del RC incorporado con aceite esencial de canela, en la pérdida de peso de moras de castilla, refrigeradas a 5°C, durante 11 días.



A. Efecto de la aplicación del RC incorporado con aceite esencial de canela, en la pérdida de peso de moras de castilla, refrigeradas a 5°C, durante 11 días.

B. Efecto de la aplicación del RC incorporado con aceite esencial de canela, en la pérdida porcentual de peso en moras de castilla, refrigeradas a 5°C, durante 11 días.

Lo anterior indica, que la aplicación de una capa de RC elaborada a partir de pectina de cacao, y funcionalizada con aceite de canela nanoemulsionado al 0,02% (p/p), permitió reducir en un 3,69% la pérdida de masa, o pérdida de humedad durante el almacenamiento, ello asociado a una disminución en la velocidad de senescencia de la fruta.

Algunos autores encontraron resultados similares, empleando esta tecnología para la conservación de la vida útil de frutas. (De Los Santos Santos, 2020) empleando 2% de almidón (p/v) para la elaboración de un RC, para su posterior aplicación en frutos de guanábana, obtuvo

los siguientes resultados: una pérdida de masa acumulada 10.38 % para muestras sin RC, y 6.11 % para muestras con RC. (Chasiloa Suarez, 2019) logró alcanzar un porcentaje de pérdida de peso total en frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus*) para el día 7 de almacenamiento, del 20,92 %; empleando en la formulación del RC aceite de canela al 0,06 % p/p.

De acuerdo a estos resultados, puede apreciarse el efecto potencial que tuvo el almidón en una de las variables de respuesta; lograr una optimización en la reducción de la pérdida de masa, gracias a la incorporación de almidón al 2%, lo que le proporcionó una mayor barrera de protección a la fruta, frente al intercambio de gases como: O₂, CO₂, y vapor de H₂O; disminuyendo así su velocidad de respiración y transpiración.

Grado de Deterioro en la Fruta

En la figura 11 y 12, se indican los resultados de la evaluación del daño biológico en la fruta, después de ser sometida a los dos tratamientos T1 y T2.

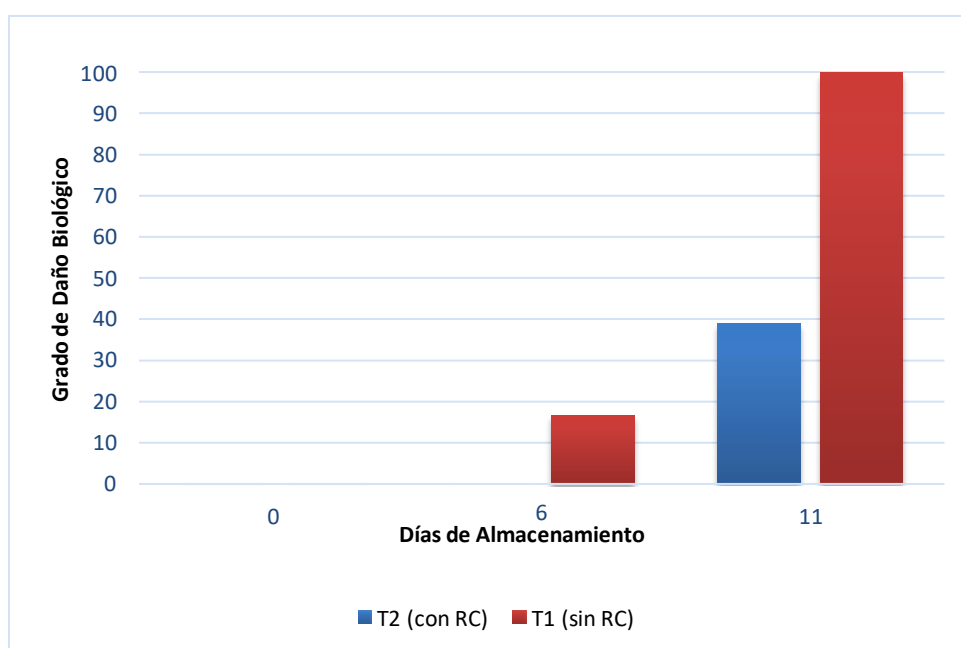
El comportamiento fisiológico de la fruta con RC durante su almacenamiento, manifestado a través de la respiración y la transpiración, si bien presentó una disminución del 3,68%; el mayor impacto en el uso del recubrimiento comestible fue a través de la disminución en el daño del fruto a nivel biológico, los síntomas por daño fúngico fueron menores en los frutos con RC, en comparación con la muestra control; este último resultado sugiere que la incorporación de aceite esencial de canela nanoemulsionado 2% (p/p), el cual tiene una elevada capacidad antioxidante, consiguió disminuir la velocidad de crecimiento fúngico en la muestra.

Durante los primeros días de almacenamiento, las muestras para los tratamientos T1 y T2, no mostraron visiblemente descomposición en los frutos, mientras que para el día 6, presentaron un porcentaje de daño de 16,66 y 0,00 respectivamente; el último día de seguimiento a las muestras, estas presentaron un 100 % y 38,97 % de daño biológico en las moras.

El análisis estadístico encontró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados a los frutos de mora de castilla, por medio del análisis de varianza ANOVA con un nivel de significancia ($0,012 \geq P \leq 0,05$) respecto al parámetro de incidencia en el crecimiento microbiano sobre la fruta.

Figura 13

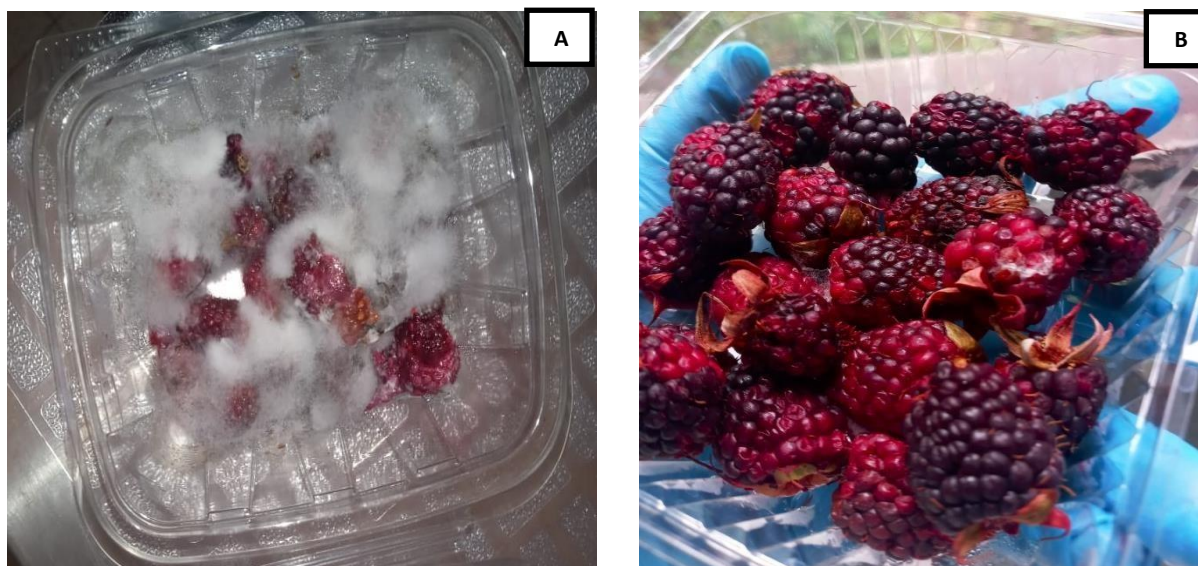
Grado de deterioro del fruto, durante un periodo de 11 días de almacenamiento bajo condiciones de refrigeración: 5°C y 64% HR, con aplicación y sin aplicación de RC



Fuente. Autor

Figura 14

Daño biológico en la fruta después de ser sometida a los tratamientos



Nota. **A.** Mora de Castilla GM 5, T1 (sin RC) – ultimo día Tratamiento: Presencia y multiplicación de hongos, se puede observar macroscópicamente una extensa capa afelpada de color blanco - micelio, y zonas oscuras en los frutos, manifestando posible presencia de *Botrytis Cinerea*; así como de bacterias, dada la textura y olor de la muestra; además de la evidente pérdida de humedad, por la forma de la fruta y presencia de lixiviado en el contenedor plástico. **B.** Mora de Castilla GM 5, T2 (con RC) – ultimo día Tratamiento: Se evidencia el inicio de la fermentación – descomposición en la muestra (color y olor); así como, de la multiplicación de hongos, y pérdida de humedad. Se observan algunos frutos con sus drupeolas enteras, brillantes y turgentes.

Chasiloa Suarez, P. L. (2019), también demostró una reducción en el daño fúngico en mora de castilla, a través de un recubrimiento comestible a base de aceite de canela a una concentración de 0,06 % (p/p), logrando un 40% de incidencia en el crecimiento microbiano para el último día de tratamiento (día 7), así como una menor pérdida de peso en el fruto con una media de 20,92 %.

El uso del aceite de canela, le dio el carácter antimicrobiano al RC aplicado a los frutos, esto gracias al eugenol, componente mayoritario de este tipo de aceite esencial, otorgándole propiedades antifúngicas y antioxidantes al producto, controlando especialmente el crecimiento del moho gris *Botrytis Cinerea* (Chasiloa Suarez, 2019). Por otro lado, el recubrimiento comestible le proporcionó propiedades de barrera al fruto, frente a intercambio de gases con el ambiente exterior, logrando menor impacto en la pérdida de humedad, y retardo en los procesos fermentativos.

Conclusiones

Durante la elaboración de la nano-emulsión, empleando como agente surfactante o emulgente el tween 20/80, es importante controlar la temperatura, esta no puede superar los 60°C, ya que puede el agente emulgente perder su propiedad hidrofílica, y afectar notablemente la textura de la solución oleosa. Lo anterior, sustentado en una de las propiedades de los surfactantes no-iónicos, que se vuelven menos hidrofílicos conforme la temperatura aumenta, debido a que los puentes de hidrógeno formados en la solución, se van rompiendo a medida que la temperatura incrementa.

Para lograr una mejor textura y translucidez en la mezcla de la nanoemulsión, se requiere durante la sonicación final de la solución, adicionar poco a poco agente tensoactivo (Tween 80), así como garantizar un tiempo mínimo de generación de vibraciones acústicas en la disolución, de tal manera que se logre la ruptura de las fuerzas de cohesión entre las moléculas lipídicas, que en este estudio se estableció en 30 minutos para el ultrasonido por sonicación.

A través de los ensayos preliminares para la elaboración de la nanoemulsión, se logró concluir que a un mayor tiempo de homogeneización y mayor cantidad de emulsionante se obtuvo un menor tamaño de gota.

El PTI es un método fisicoquímico que permite la formación de nano-emulsiones en donde la inversión de fase ocurre produciéndose la inversión de una emulsión O/W en una W/O al variar la temperatura, donde es importante la temperatura del surfactante es conocida como temperatura de inversión de Fase PTI y es donde ocurre la afinidad del surfactante con el mismo valor para ambas fases.

El componente lipídico empleado inicialmente, para el ensayo preliminar de la nanoemulsión (aceite de aguacate), logró una mejor homogeneización por medio de la

sonicación, que a través de la inversión de fase. Lo que indica que la mejor metodología para disminuir el tamaño del glóbulo de grasa con la formulación propuesta, es el ultrasonido por sonicación.

Se demostró que el método de ultrasonido por cavitación, para una amplitud de 85%, una potencia de 700 watt, y un tiempo de sonicación de 30 minutos, permitió obtener una nanoemulsión líquida, transparente y termodinámicamente estable, para un sistema elaborado a partir de una relación (3:1) entre la fase tensoactiva y lipídica; brindándole así, mejor cohesión y transparencia a la película comestible, optimizando la liberación controlada, y aumentando la capacidad de absorción del ingrediente activo por parte de la superficie del fruto.

Para la formulación de la solución filmógena, se usaron carbohidratos y componentes biopoliméricos, que le confirieron propiedad plastificante al recubrimiento; se añadieron sustancias lipídicas que por un lado le proporcionaron una característica hidrofóbica, impidiendo el paso o salida del agua, y por otro lado, le aportaron un carácter antimicrobiano; para la incorporación de la fase lipídica, se adicionó un componente surfactante que generó cambios tensoactivos en la estructura del recubrimiento, y un aditivo emulsificante que permitió la dispersión del lípido y la compactación a la misma.

La solución filmogénica optimizada, presentó una actividad antioxidante expresada en términos de porcentaje de inhibición DPPH, y equivalente trolox ($\mu\text{M}/\mu\text{L}$ solución), de 63.083, y 0.5945, respectivamente.

A la luz de los resultados arrojados por el diseño de optimización, se logró con una relación A/P (1.22:1), e incorporación de 1% de pectina de cacao, maximizar la plasticidad y resistencia del recubrimiento biodegradable, así como la capacidad antioxidante del mismo.

El empleo de esta técnica emergente de conservación para las frutas, además de prolongar las características fisicoquímicas, sensoriales y biológicas del producto durante su comercialización y/o almacenamiento, permite disminuir las pérdidas económicas tanto al productor, como al intermediario. La aplicación del RC con incorporación de aceite de canela 0,02% (p/p) en las moras, mostró mayor firmeza, textura, menor incidencia microbiana, así como disminución en la pérdida de peso, en comparación con las muestras testigo (sin aplicación del RC).

La actividad biológica del recubrimiento con incorporación de aceite esencial de canela nanoemulsionado al 0,02% p/p, aplicado sobre los frutos de mora de castilla fue adecuada, permitiendo controlar el crecimiento del moho gris, durante el periodo experimental del almacenamiento, otorgándole posible propiedad conservante al material, y por ende mayor estabilidad al fruto. Presentando las muestras para los tratamientos T1 y T2, un grado de daño biológico del 100 % y 38,97 % respectivamente, sin aplicación y con aplicación del RC.

En términos de características físicas del fruto evaluado, el recubrimiento comestible le proporcionó propiedades de barrera, frente a intercambio de gases con el ambiente exterior, logrando menor impacto en la pérdida de humedad, y retardo en los procesos fermentativos. Lo anterior gracias, a la relación del porcentaje de pectina de cacao y almidón de maíz (1:1,22), que le otorgó su carácter plastificante, y resistencia a la película comestible, disminuyendo el porcentaje de pérdida de masa global en un 3,69%, en comparación con la fruta sin aplicación de RC.

La vida útil de la mora de castilla en condiciones normales de refrigeración, sin empleo de una técnica de conservación emergente, mantiene sus características óptimamente por un periodo de aproximadamente 3 días; mientras, con empleo de la aplicación de un RC con

incorporación de aceite de canela nanoemulsionado al 0,02 % p/p, y una proporción de A/P (1.22:1), logra mantener estable sus características fisicoquímicas por un periodo de aproximado de 11 días.

El recubrimiento comestible aplicado sobre las moras durante este periodo, tuvo un efecto positivo sobre la pérdida de peso acumulado que fue del 21,48 % para el T2, así como, en la disminución del daño biológico en el fruto, el cual tuvo un 38,97 % de incidencia en el crecimiento fúngico para el último día del experimento con el T2, mostrando una diferencia significativa entre cada tratamiento ($0,012 \geq P \leq 0,05$) para cada parámetro evaluado, con respecto a la fruta control.

El análisis estadístico para los datos experimentales del diseño factorial 2^2 , empleando el software Desing expert, logró determinar diferencia significativa en las variables de respuesta: pérdida de peso, y grado de deterioro en la fruta, con la aplicación de los tratamientos, a un intervalo de confianza de 95% ($p \leq 0.05$),

La película comestible incorporada con mayor proporción de glicerol (4% p/p), como puede verse en la tabla 5, en relación a las demás formulaciones, presentó mayor flexibilidad y resistencia mecánica, propiedad atribuida al glicerol, componente plastificante de la solución filmógena.

Recomendaciones

El aceite de aguacate en forma de nanoemulsión, fue empleado en la elaboración de la solución filmógena, generando una aceleración en la oxidación de hojuelas de banano, además al ser comparado el comportamiento de la fruta troceada con aplicación de recubrimiento más aceite de aguacate, con el blanco (muestra sin aplicación de recubrimiento biodegradable), esta presentó mayor grado de descomposición.

Para el primer montaje de la nanoemulsión con aceite de aguacate al 2.5 %p/p, se utilizó el procedimiento descrito por: Juan Pablo Vega (2013), con modificaciones propuestas por el autor. Se empleó el ensayo PIT (Temperatura de Inversión de Fase), para determinar el punto de formación de la nanoemulsión. Se fijó una relación tween-aceite en 3:1 (Béatrice Heurtault, 2002).

Utilizar la incorporación de plastificante (glicerol) como factor de estudio en el diseño experimental, viendo su incidencia en la elasticidad y resistencia de la película comestible preformada. Lo anterior debido a los resultados obtenidos con el tratamiento 5, para la formulación de las soluciones filmogénicas, obteniendo películas más resistentes a la tracción.

Aumentar el número de capas de recubrimiento comestible, en el momento de la aplicación en la fruta, lo cual podría incidir en la disminución de la pérdida de masa del fruto durante su almacenamiento. Teniendo en cuenta que, para el presente estudio, se aplicó una sola capa de RC en la fruta, obteniendo buenos resultados en términos de barrera y protección antimicrobiana.

Incrementar el porcentaje de aceite esencial en la elaboración de la solución filmogénica, con la finalidad de obtener mejores resultados en términos de actividad antifúngica sobre la

aplicación en la fruta; esto debido a que otros autores han trabajado en sus estudios porcentajes que varían entre (0,04 y 0,08) % p/p de agente bioactivo.

Realizar un seguimiento fisicoquímico a la fruta, durante el periodo de almacenamiento, con aplicación de los tratamientos T1 y T2, para evaluar el efecto de barrera y del agente activo, en parámetros como: acidez titulable, potencial de hidrogeno, y grados brix.

Referencias Bibliográficas

- Abella Montaña, Y. A. (2015). Estudio de la incidencia de infecciones quiescentes de *Colletotrichum spp.*, en flores y frutos de mora (*Rubus glaucus Benth*).
- Ayala, L. C., Valenzuela, C. P., & Bohórquez, Y. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) en seis estados de madurez. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2), 10-18.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brimelow, C., Joshi, P. (2001). Instrumentation and sensors for food industry. Chapter 4: Colour measurement of foods by colour Reflectance. © 2001, Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC.
- Cardoso-Ugarte, G., & Jiménez-Munguía, M. (2015). Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 9, (pp. 15-24).
- Castellar, R., Obón, JM, Alacid, M. y Fernández-López, JA (2003). Propiedades de color y estabilidad de las betacianinas de frutos de Opuntia. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 51 (9), 2772-2776.
- Cerón, J. P. Q. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 1(5).
- Cisneros, M. (2012). Cómo elaborar trabajos de grado. *Estructura de los trabajos de grado*. Ecoe Ediciones. (pp. 129 – 148).
- Chasiloa Suarez, P. L. (2019). Evaluación de recubrimiento comestible a base de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) en la conservación de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*).

- DANE. (2017). "Insumos y Factores Asociados a la Producción Agropecuaria": El cultivo de la mora de Castilla (*Rubus glucus Benth*) frutal de clima frío moderado, con propiedades curativas para la salud humana. Boletín Mensual 17.
- De Los Santos Santos, M. A. (2020). Aplicación y Evaluación de Biopelículas con base a Mucílago y Almidón en Frutos de Guanábana (*Annona muricata L.*) [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nayarit, México.]. Repositorio Institucional Aramara <http://dspace.uan.mx:8080/jspui/handle/123456789/2312>
- Del Águila Flores, D., & Zegarra Jumanga, D. A. (2016). Extracción de pectina por hidrólisis ácida y precipitación Alcohólica a partir de las cáscaras de cacao híbrido ccn51 (*Theobroma cacao l.*) Para la fabricación de un prototipo de Empaque alimentario, pucallpa, región ucayali 2015.
- DNP, D. N. d. P. (2022). Estudio de pérdida y desperdicio de alimentos en Colombia.
- Durango, A., Soares, N. D. F., & Arteaga, M. R. (2011). Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial, 9(1), (pp. 112-118).
- FAO. (2012). *Pérdida y Desperdicios de Alimentos*. <http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/es/>
- Fernández Valdés, D., Bautista Baños, S., Fernández Valdés, D., Ocampo Ramírez, A., García Pereira, A., & Falcón Rodríguez, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 24(3), (pp. 52-57).
- Gómez, A. (2019). Formulación y caracterización de nano-emulsiones de aceite de parafina tipo agua en aceite (W/O). *línea. Fecha de acceso*, 22.

- Gómez, E. (2011). Recubrimientos para frutas y hortalizas. *Tecnología Postcosecha y Procesado Mínimo*. (pp. 14 – 32).
- Hennessey-Ramos, L., Murillo-Arango, W., Vasco-Correa, J., & Paz Astudillo, I. C. (2021). Enzymatic extraction and characterization of pectin from cocoa pod husks (*Theobroma cacao L.*) using Celluclast® 1.5 L. *Molecules*, 26(5), 1473.
- Hernández, R.A & Coello, S., (2011). *El Proceso de Investigación Científica*. Editorial Universitaria. (pp. 12-25).
- Hernández Sampieri, R. (2014). *Metodología de la Investigación*. (e-Book). México: McGraw-Hill Interamericana. <http://bibliotecavirtual.unad.edu.co:2053/?il=721>
- Higuera, O., Soto, E., Acedo, E., & Peralta, E. (2015). Elaboración de un envase activo antimicrobiano, y su efecto en el desarrollo de Pseudomonas y bacterias aerobias en pollo. *Revista de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, volumen 22 (2), (pp. 111-120).
- Leiva, L. C. (2011). Manejo fitosanitario del cultivo de mora *Rubus glaucus* Benth: medidas para la temporada invernal. ICA.
- León, I., Camacho, J., Zazueta, A., Calderón, P., Fitch, N., Jacobo, M., Sánchez, E., & Aguilar, P. (2018). Desarrollo y caracterización de películas comestibles elaboradas a partir de almidón acetilado por extrusión y gelatina. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos Desarrollo*, 3, 714-720.
- MADR, M. d. A. y. D. R. (2020). Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo.
- Mendoza, Z. M. d. S. H. d., & Borges, P. H. d. M. (2015). Análisis colorimétrico del extracto acuoso de hojas de teca. *Revista Árvore*, 39, 953-961.
- Mora-Ramos, M. A., Pardo-Carrasco, F. P., & Bastidas-López, H. (2020). Diagnóstico

- Patológico en Mora de Castilla *Rubus glaucus* Bentham (Rosales: Rosaceae). Orinoquia, 24(2), 27-32.
- Nogueira, G. F., Oliveira, R. A. d., Velasco, J. I., & Fakhouri, F. M. (2020). Methods of incorporating plant-derived bioactive compounds into films made with agro-based polymers for application as food packaging: A brief review. *Polymers*, 12(11), 2518.
- Parzanese, M. (2016). Tecnologías para la industria alimentaria. *Ultrasonidos*. Ficha, 19, 1-9.
- Sánchez Calancha, J. I., & Valdez Dávila, L. S. (2019). Biopelícula activa a base de almidón de mandioca (*Manihot Esculenta*) aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) reforzado con organoarcillas.
- Zambrano, J., Valera, A., Maffei, M., Materano, W., Quintero, I., & Graterol, K. (2017). Efecto de un recubrimiento comestible formulado con mucílago del cactus (*Opuntia elatior* Mill.) sobre la calidad de frutos de piña mínimamente procesados. *Bioagro*, 29(2), 129-136.

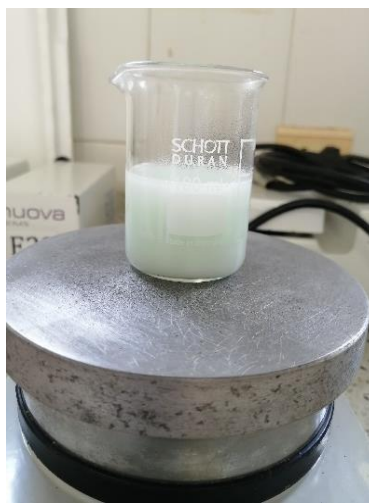
Apéndices

Apéndice A

Obtención de la nano-emulsión a partir de aceite de aguacate 2,5% P/P, por el método de inversión de fase



Incorporación de la fase dispersante



Calentamiento en plancha, de la disolución

Apéndice B

Control de variables del proceso: Conductividad vs Temperatura, elaboración nanoemulsión con aceite de aguacate. Método temperatura de inversión de fase - PIT



Control de temperatura y conductividad



Cambio de variable

Apéndice C

Homogenización de la emulsión por ultrasonido: Empleando sonicador de sonda de 700 W, con amplitud del 85%.



Ajuste de parámetros del equipo - sonicador



Alistamiento de la muestra, y sonda

Apéndice D

Montajes solución lipídica por técnica de emulsión vs nanoemulsión con aceite de aguacate al

2,5%



Emulsión método
convencional



Emulsión de aceite
de aguacate 2.5%
p/p – método
convencional



Nanoemulsión
con aceite de
aguacate-
25% p/p



Comparación métodos

Apéndice E

Resultados de la conductividad durante el calentamiento de la mezcla de aceite de aguacate, a 1200 RPM, por método PIT

Tiempo (min)	Conductividad Eléctrica (mV)	Temperatura (°C)
5	34,72	33
10	35,66	37,4
15	38,5	41,8
20	37,18	46
25	34,08	54
30	30,4	57
35	28,9	62

Fuente. Autor

Apéndice F

Muestra solución filmogénica con aceite esencial de canela 2% p/p



Apéndice G

Degradación del radical DPPH en muestras de solución filmogénica, a una concentración inicial de 0,02% p/p de aceite esencial de canela (sin diluir). Prueba capacidad antioxidante.

Previo a la optimización.



Apéndice H

Resultado colorimétrico de muestras de películas comestibles por método coordenadas CIELab

