



TECNOLÓGICO  
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC



Elaboración de recubrimientos a base de alginato de sodio adicionados de compuestos fenólicos de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) para el control de antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.)

Por:

I.B.Q. Estefania Martinez Mariscal

**TESIS**

TESIS PROPUESTA A LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E  
INVESTIGACIÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**

Directora de tesis:

**Dra. Montserrat Calderón Santoyo**



Instituto Tecnológico de Tepic

Tepic, Nayarit, **10/Junio/2021**

**CONSEJO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS**  
No. Oficio CMCA: 113-2021

**M.C. Luz del Carmen Romero Islas**  
**JEFE DE LA DIV. DE EST. DE POSG. E INV.**  
**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC**  
**P R E S E N T E**

Por este conducto comunico a usted que el Consejo de la Maestría en Ciencias en Alimentos ha designado como revisores de la tesis del alumno **I.B.Q. Estefanía Martínez Mariscal** con número de control **M13401055**, cuyo título es **“Elaboración de recubrimientos a base de alginato de sodio adicionados de compuestos fenólicos de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) para el control de antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.)”**, a los miembros que a continuación se enlistan, mismos que han evaluado y aprobado el contenido del manuscrito para obtener el grado de Maestro(a) en Ciencias en Alimentos y que firman de conformidad.



Dra. Montserrat Calderón Santoyo  
(Presidente)

Dr. Juan Arturo Ragazzo Sánchez  
(Secretario)



Dra. María de Lourdes García Magaña  
(Vocal)



Dra. Silvia Renata Machado Coehlo  
(Vocal suplente)

Por lo anterior, le solicito se sirva elaborar los oficios correspondientes para **AUTORIZAR LA IMPRESIÓN DE TESIS**. Agradeciendo de antemano la atención prestada a la presente, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
*Excelencia en Educación Tecnológica®*



**Dr. Jorge Alberto Sánchez Burgos**  
**Presidente del Consejo de la Maestría en Ciencias en Alimentos**

c.c.p. Expediente





Tepic, Nayarit, **11/Jun/2021**  
No. Oficio: 25-357-2021  
Asunto: Autorización de impresión

**I.B.Q. ESTEFANÍA MARTÍNEZ MARISCAL  
PRESENTE**

De acuerdo con el reglamento de los Institutos tecnológicos dependientes de la Dirección General de Educación Superior Tecnológica de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la comisión revisora le hizo a su trabajo de Tesis de Maestría en Ciencias en Alimentos; denominado **“Elaboración de recubrimientos a base de alginato de sodio adicionados de compuestos fenólicos de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) para el control de antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.)”**

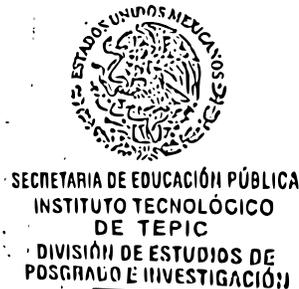
La División de Estudios de Posgrado e Investigación le autoriza para que proceda a la impresión de la misma.

Sin más por el momento quedo de usted.

**ATENTAMENTE**

*Excelencia en Educación Tecnológica*  
*Sabiduría Tecnológica, Pasión de Nuestro Espíritu.*

**LUZ DEL CARMEN ROMERO ISLAS  
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



ccp. Archivo DEPI.



### Detector de plagio v. 1740 - Informe de originalidad 18/05/2021 11:03:00 a. m.

Documento analizado: 2021-05-12-Tesis estefania Mariscal.docx Licenciado para: Roberto Enriquez\_License2

Preajuste de comparación: Palabra a palabra. Idioma detectado: Spanish

Tabla de relaciones:

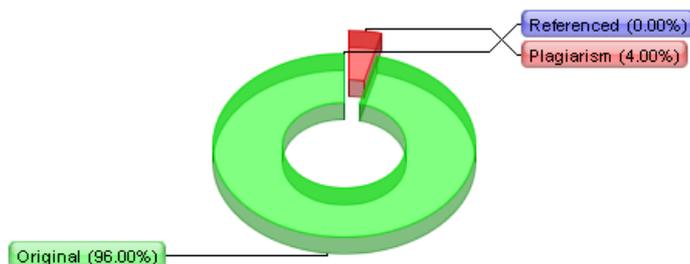


Gráfico de distribución:



Principales fuentes de plagio:

	% 1		wrds: <a href="http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/download/678/...">http://revistabiociencias.uan.edu.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/download/678/...</a>
	% 0.8		wrds: <a href="https://www.tepic.tecnm.mx/comunicacion/boletin/1028">https://www.tepic.tecnm.mx/comunicacion/boletin/1028</a>
	% 0.7		wrds: <a href="https://1library.co/document/yje2p86q-efecto-simbiotico-sacchromyces-cerevisiae-...">https://1library.co/document/yje2p86q-efecto-simbiotico-sacchromyces-cerevisiae-...</a>

[Mostrar otras fuentes:]

Detalles de recursos procesados:

99 - Okay / 32 - Ha fallado	
-----------------------------	--

[Mostrar otras fuentes:]

Notas importantes:

Wikipedia:	Libros de Google:	Servicios de escritura fantasma:	Anti-trampa:
[no detectado]	[no detectado]	[no detectado]	[no detectado]

Referencias activas (URL extraídas del documento):

No se detectaron URL

URL excluidas:

No se detectaron URL

URL incluidas:

No se detectaron URL

Análisis detallado del documento:

**Plagio detectado: 0.67%** <https://www.tepic.tecnm.mx/comunica...> id: 1

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE  
TEPICElaboración

de recubrimientos a base de alginato de sodio adicionados de compuestos fenólicos de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.)

 **Plagio detectado: 0.67%** <http://revistabiociencias.uan.edu.m...> id: 2

para el control de antracnosis en

mango (*Mangifera indica* L.)Por:

I.B.Q. Estefania Martinez Mariscal

TESIS TESIS PROPUESTA A LA DIVISIÓN

 **Plagio detectado: 0.67%** <https://www.researchgate.net/public...> + 2 id: 3

recursos!

DE ESTUDIOS DE

POSGRADO E  
INVESTIGACIÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

:MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOSD

irectora de tesis:Dra. Montserrat Calderón SantoyoTepic Nayarit.

/w:tMayo, 2021DEDICATORIA:

A mi familia por todo su apoyo brindado de manera

 **Plagio detectado: 0.67%** <https://1library.co/document/yje2p8...> id: 4

incondicional cuando lo necesite, gracias por

estar presente.Al instituto tecnológico de Tepic, así como a sus docentes por incidir en mi formación profesional. De igual manera a la doctora Montserrat Calderón Santoyo por su asesoría, paciencia y conocimientos brindados.A mis compañeros por sus consejos, confianza y tiempo invertido en compartir sus conocimientos.CONTENIDO

LISTA DE TABLAS

IVLISTA DE FIGURAS

V1.

INTRODUCCIÓN12. ANTECEDENTES

22.1

ENFERMEDADES POSTCOSECHA22.2.1

ANTRACNOSIS32.2.1.1

CICLO BIOLÓGICO DE LA ANTRACNOSIS42.2.1.2

CONTROL QUÍMICO52.2.1.3

CONTROL BIOLÓGICO62.2

RECUBRIMIENTOS A BASE DE BIOPOLÍMEROS62.3.1

CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES72.3.2

COMPONENTES DE LOS RECUBRIMIENTOS82.3.1

RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES COMO MATRIZ ESTABILIZADORA PARA COMPUESTOS

BIOACTIVOS92.3.2

ALGINATO DE SODIO92.3.4.1

Propiedades estructurales92.3.4.2

Alginato de sodio como recubrimiento activo102.3

COMPUESTOS BIOACTIVOS122.5.1

COMPUESTOS FENÓLICOS132.5.2

COMPUESTOS FENÓLICOS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA132.5.6.1

Extracción de compuestos fenólicos de plantas por APH133. JUSTIFICACIÓN

144. OBJETIVOS

155. MATERIALES Y MÉTODOS

165.1

Material biológico165.1

Preparación de materia prima175.2

Primera etapa175.2.4 Determinación de propiedades antimicrobianas in vitro205.3

Segunda etapa.215.3.1

Selección del recubrimiento para la evaluación en frutos215.3.2

Protección postcosecha de mangos con recubrimientos de alginato de sodio adicionado con

compuestos fenólicos215.3.3

Tratamiento curativo215.3.4

Tratamiento preventivo226.

RESULTADOS237.

CONCLUSIONES388.

BIBLIOGRAFÍA39LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Funciones de componentes de los recubrimientos

8Tabla 2: Compuestos bioactivos adicionados a películas a base de alginato

11Tabla 3: Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento in vitro22Tabla 4:

Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento in vivo23Tabla 5: Valores obtenidos de L\*, a\* y b\* de películas a base de SA y SA adicionadas con EHJ

24Tabla 6: Contenido de humedad, espesor, solubilidad, PVA y pH de películas a base de SA y adicionadas con EHJ

24Tabla 7: Comportamiento térmico de los compuestos de la película

27Tabla 8: Comportamiento de la película con o sin extracto de hoja de jaca

27Tabla 9: Efecto del extracto de hoja de jaca incorporado a un recubrimiento a base de alginato sobre el color de mango var. Kent durante el almacenamiento a 25°C.32Tabla 10. Cambios de firmeza en mangos almacenados tras exponerlas a los tratamientos SA y EHJ-SA.

34LISTA DE FIGURAS

file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 1: Síntomas de la enfermedad causados por especies de Colletotrichum gloeosporioides en diferentes órganos de la planta de mango.3

Figura 2: Ciclo de vida de la enfermedad de Antracnosis causada por Glomerella cingulata y Colletotrichum gloeosporioides. 5

Figura 3: Transferencias que pueden ser controladas por barreras comestibles

7Figura 4 Estructura de la cadena polimérica del alginato de sodio: (a) muestra la conformación de la cadena y (b) muestra la distribución típica de bloques.

10Figura 5: Diagrama general de la metodología

16file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 6: Curvas TG y DTG de películas con y sin extracto de hoja de jaca28Figura 7:

 **Plagio detectado: 0.78%** <http://revistabiociencias.uan.edu.m...>

id: 5

Inhibición del crecimiento in vitro de C.

gloeosporioides después

de29file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 8: Inhibición de las películas en dos concentraciones frente a C. gloeosporioides después de 7

días.30file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 9: Inhibición de la germinación de esporas en C. gloeosporioides pasado 10 h del tratamiento con EHJ incorporadas en

películas.30file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.d

Figura 10: Esporas germinadas en control (A), en presencia de EHJ en concentraciones de 2 mg/ml (B) y concentraciones de 0.5 mg/ml (C) después de 10 h.31Figura 11: Efecto sobre el cambio de color (

ΔE) de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. ( ) Control, ( ) 1.5% SA, ( ) 0.5 mg/ml de EHJ +1.5%

SA.33file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 12: Pérdida de peso de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. ( ) Control, ( ) 1.5% SA, ( ) 0.5 mg/ml de EHJ +1.5%

SA35file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 13: Severidad de C. gloeosporioides en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 °

C...36file:///D:\EMM\Escritorio\Tss\Mango\Protocolo%20Estefania%20Martinez%20Mariscal%20ITT3.docx

Figura 14: Porcentaje de incidencia de C. gloeosporioides en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 °

C...37CAPÍTULO 1. INTRODUCCION

INTRODUCCIÓN

El mango es un fruto perteneciente a la familia Anacardiaceae, de tonalidades verdosas, rojizas y amarillentas; dotado de una gran cantidad de azúcares que forman parte del 20% de su contenido total (SAGARPA, 2017). A lo largo de los años, su cultivo Global presenta un constante aumento, logrando obtener en 2019 una cifra alrededor de global de 193 millones hectáreas cosechadas, consolidando a México como el cuarto país productor y exportador (Shahbandeh, 2019). También se ha convertido en un fruto de gran popularidad en diversas partes del mundo (Gómez-Maldonado y cols., 2020). Sin embargo, su período de almacenamiento es limitado debido a problemas fitosanitarios que dañan los frutos principalmente en poscosecha, lo que provoca una reducción

 **Plagio detectado: 0.67%** <https://www.gob.mx/cms/uploads/atta...>

id: 6

a la calidad de la fruta

para exportación, disminuyendo el precio de venta (Jeffries y cols., 1990; Hindorf, 2000). En el mango, la enfermedad más importante es antracnosis causada por el hongo Colletotrichum gloeosporioides, que afecta diversas partes del mango y causando una infección latente en la fruta pequeña 1

1  
1  
22



Detector de plagio  
¡Tu derecho a conocer la autenticidad!

## DEDICATORIA:

A mi familia por todo su apoyo brindado de manera incondicional cuando lo necesite, gracias por estar presente.

Al instituto tecnológico de Tepic, así como a sus docentes por incidir en mi formación profesional. De igual manera a la doctora Montserrat Calderón Santoyo por su asesoría, paciencia y conocimientos brindados.

A mis compañeros por sus consejos, confianza y tiempo invertido en compartir sus conocimientos.

# CONTENIDO

LISTA DE TABLAS .....	IV
LISTA DE FIGURAS .....	V
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. ANTECEDENTES .....	5
2.1 ENFERMEDADES POSTCOSECHA .....	5
2.1.1 Antracnosis .....	5
2.1.2 Ciclo biológico de la antracnosis.....	6
2.1.3 Control químico.....	7
2.1.4 Control biológico.....	8
2.2 RECUBRIMIENTOS A BASE DE BIOPOLÍMEROS .....	8
2.3 CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES.....	9
2.4 COMPONENTES DE LOS RECUBRIMIENTOS.....	10
2.5 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES COMO MATRIZ ESTABILIZADORA PARA COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	11
2.5.1 Alginato de sodio.....	11
2.5.2 Propiedades estructurales .....	11
2.5.3 Alginato de sodio como recubrimiento activo.....	12
2.6 COMPUESTOS BIOACTIVOS.....	14
2.6.1 Compuestos fenólicos.....	15
2.6.2 Compuestos fenólicos con actividad antifúngica .....	15
2.6.2.1 Extracción de compuestos fenólicos de plantas por APH .....	15
3. JUSTIFICACIÓN.....	18
4. OBJETIVOS.....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5.1 Material biológico.....	22
5.1 Preparación de materia prima .....	23
5.2 Primera etapa .....	23
5.2.5 Determinación de propiedades antimicrobianas <i>in vitro</i> .....	26
5.3 Segunda etapa. ....	27

5.3.1	Selección del recubrimiento para la evaluación en frutos .....	27
5.3.2	Protección postcosecha de mangos con recubrimientos de alginato de sodio adicionado con compuestos fenólicos .....	28
5.3.3	Tratamiento curativo.....	28
5.3.4	Tratamiento preventivo.....	28
6.	RESULTADOS .....	31
6.1	Primera etapa .....	31
6.1.1	Análisis de Color .....	31
6.1.2	Parámetros fisicoquímicos.....	32
6.1.3	Análisis termogravimétrico .....	34
6.1.4	Análisis de calorimetría diferencial de barrido.....	36
6.1.5	Inhibición de crecimiento micelial .....	37
6.1.6	Inhibición de germinación de esporas .....	39
6.2	Segunda etapa .....	40
6.2.1	Parámetros fisicoquímicos de mango Kent recubierto con SA con o sin extracto de hoja de jaca (EHJ).....	40
6.2.2	Actividad antifúngica de recubrimientos SA-EHJ sobre antracnosis en mango var. Kent .....	45
7.	CONCLUSIONES.....	49
8.	BIBLIOGRAFÍA .....	51

## LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 2.1: Funciones de componentes de los recubrimientos.....</i>	<i>10</i>
<i>Tabla 2.2: Compuestos bioactivos adicionados a películas a base de alginato .....</i>	<i>13</i>
<i>Tabla 5.1: Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento in vitro .....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 5.2: Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento in vivo .....</i>	<i>29</i>
<i>Tabla 5: Valores obtenidos de L*, a* y b* de películas a base de SA y SA adicionadas con EHJ.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabla 6.1: Contenido de humedad, espesor, solubilidad, PVA y pH de películas a base de SA y adicionadas con EHJ.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabla 6.3: Comportamiento térmico de los compuestos de la película .....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 6.4: Comportamiento de la película con o sin extracto de hoja de jaca.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabla 6.5: Efecto del extracto de hoja de jaca incorporado a un recubrimiento a base de alginato sobre el color de mango var. Kent durante el almacenamiento a 25°C. ....</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 6.6: Cambios de firmeza en mangos almacenados tras exponerlas a los tratamientos SA y EHJ-SA. ....</i>	<i>43</i>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Síntomas de la enfermedad causados por especies de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> en diferentes órganos de la planta de mango. Fuente: Carrillo-Fasio y cols., 2004. ....	6
Figura 2.2: Ciclo de vida de la enfermedad de Antracnosis causada por <i>Glomerella cingulata</i> y <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . Fuente (Agris 2002). ....	7
Figura 2.3: Transferencias que pueden ser controladas por barreras comestibles (Adaptado de Falguera y cols., 2011). ....	9
Figura 2.4: Estructura de la cadena polimérica del alginato de sodio: (a) muestra la conformación de la cadena y (b) muestra la distribución típica de bloques. Fuente: Pawar y Edgar, 2012. ....	12
Figura 5.1: Diagrama general de la metodología ....	22
Figura 6.1: Curvas TG y DTG de películas con y sin extracto de hoja de jaca. ....	35
Figura 6.2: Termogramas DSC de películas con y sin extracto de hoja de jaca. ....	33
Figura 6.3: Inhibición del crecimiento in vitro de <i>C. gloeosporioides</i> después de 7 días del tratamiento con EHJ incorporado en películas de SA. ....	34
Figura 6.4: Inhibición de las películas en dos concentraciones frente a <i>C. gloeosporioides</i> después de 7 días. ....	35
Figura 6.5: Inhibición de la germinación de esporas en <i>C. gloeosporioides</i> pasado 10 h del tratamiento con EHJ incorporadas en películas. ....	36
Figura 6.6: Esporas germinadas en control (A), en presencia de EHJ en concentraciones de 2 mg/ml (B) y concentraciones de 0.5 mg/ml (C) después de 10 h. Las muestras se observaron bajo un microscopio óptico con un aumento de 40X. ....	37
Figura 6.7: Pérdida de peso de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. (—◇—) Control, (—□—) 1.5% SA, (—△—) 0.5 mg/ml de EHJ +1.5% SA. ....	44
Figura 6.8: Pérdida de peso de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. (—◇—) Control, (—□—) 1.5% SA, (—△—) 0.5 mg/ml de EHJ +1.5% SA. ....	40
Figura 6.9: Severidad de <i>C. gloeosporioides</i> en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 °C. Actividad curativa (a) y preventiva (b). Letras diferentes (minúsculas: entre diferentes tratamientos para el mismo tiempo; mayúsculas: entre diferentes tiempos para el mismo tratamiento) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ). ....	45
Figura 6.10: Porcentaje de incidencia de <i>C. gloeosporioides</i> en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 °C. Actividad curativa (a) y preventiva (b). Letras diferentes (minúsculas: entre diferentes tratamientos para el mismo tiempo; mayúsculas: entre diferentes tiempos para el mismo tratamiento) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ). ....	42

## **CAPÍTULO 1. INTRODUCCION**

# 1. INTRODUCCIÓN

El mango es un fruto perteneciente a la familia *Anacardiaceae*, de tonalidades verdosas, rojizas y amarillentas; dotado de una gran cantidad de azúcares que forman parte del 20% de su contenido total (SAGARPA, 2017). A lo largo de los años, su cultivo Global presenta un constante aumento, logrando obtener en 2019 una cifra alrededor de global de 193 millones hectáreas cosechadas, consolidando a México como el cuarto país productor y exportador (Shahbandeh, 2019). También se ha convertido en un fruto de gran popularidad en diversas partes del mundo (Gómez-Maldonado y cols., 2020). Sin embargo, su período de almacenamiento es limitado debido a problemas fitosanitarios que dañan los frutos principalmente en poscosecha, lo que provoca una reducción a la calidad de la fruta para exportación, disminuyendo el precio de venta (Jeffries y cols., 1990; Hindorf, 2000). En el mango, la enfermedad más importante es antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, que afecta diversas partes del mango y causando una infección latente en la fruta pequeña (Kefialew y Ayalew, 2008; X. Xu y cols., 2017). El control de la antracnosis convencionalmente se realiza mediante la aplicación de fungicidas químicos, los cuales generan un impacto negativo tanto en el medio ambiente como en la salud del consumidor. Por lo tanto, es necesario establecer medidas para retardar la disminución de la calidad de los frutos y extender su conservación mediante la inhibición del crecimiento de hongos fitopatógenos. El recubrimiento a base de biopolímeros comestibles ha sido investigado como un método efectivo para mejorar la calidad de los alimentos (Song y cols., 2011), diversos estudios han demostrado que películas a base de proteínas, polisacáridos y lípidos generan una barrera contra gases y poseen propiedades mecánicas adecuadas de baja humedad relativa. Sin embargo, los recubrimientos de mango, papaya, melón y manzana a base de alginato de sodio demostraron que pueden prolongar su vida útil (Paul, 2020; Tabassum y Khan, 2020; Yousuf y Qadri, 2020). Además, de ser capaz de incorporar en su matriz biopolimérica agentes bioactivos con capacidad antioxidante y antifúngica. Por ello, las investigaciones se han intensificado con el objetivo de encontrar frutas, verduras, plantas y residuos agroindustriales como fuentes de compuestos bioactivos. Por lo general, estos compuestos se recuperan de fuentes naturales mediante extracción sólido-líquido empleando solventes orgánicos en sistemas de reflujo de calor (Martins y cols., 2010; Wang y Weller, 2006). Sin embargo, recientemente se han propuesto métodos para obtener estos compuestos,

incluido el uso de fluidos supercríticos, extracción asistida por microondas y ultrasonido (Cortazar y cols., 2005; Markom et al. 2007; Wang y Weller, 2006). Entre las técnicas de extracción, se destaca la aplicación de alta presión como alternativa interesante que merece atención, ya que es capaz de proporcionar extractos con alta variedad y alta actividad. Sin embargo, son sensibles a diversos factores medio ambientales tales como, radiación UV, altas temperaturas y humedad relativa; que pueden afectar su estabilidad, por lo que, recientemente sea propuesto su incorporación en dichas matrices biopoliméricas. Las propiedades de las películas comestibles pueden mejorarse mediante la adición de agentes antifúngicos como ácidos orgánicos, extractos de plantas y aceites esenciales (Tabassum y Khan, 2020). Aunque el uso de algunos aceites y ácidos se ve limitados debido a sus costos de aplicación y en algunos casos aromas intensos. Debido a ello, se propone la utilización de hoja de jaca considerada como residuos en la industria agrícola para la obtención de extractos pueden presentar una amplia variedad de compuestos fenólicos, dentro de estos se reporta la presencia de Kaempferol 3-O-rutinoside, ácido cítrico, ácido quínico, ácido clorogénico, apigenina 8-C-xilosido-6-C-glucósido (Vicenin 3) y catequina por Vázquez 2019. Por lo tanto, el objetivo del estudio es evaluar la incorporación de agentes antifúngicos extraídos de hojas de jaca en las soluciones de revestimiento de alginato de sodio para controlar el desarrollo de antracnosis y extender la vida útil del mango Ken.

## **CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES**

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 ENFERMEDADES POSTCOSECHA**

Las enfermedades del cultivo de mango representan un serio problema, principalmente para las exportaciones (INTAGRI, 2017), debido a que la infección permanece en quiescencia, durante su desarrollo, lo que provoca que los síntomas visibles se presenten en poscosecha y cuando el fruto es transportado a su mercado de consumo (Ochoa, 2009). Dentro de las enfermedades que se presentan en el mango, se encuentra la necrosis apical del mango, proliferación de brotes y gomosis del ápice de los brotes; sin embargo, la enfermedad de mayor importancia en la zona de producción de mangos es la antracnosis, misma que causa grandes pérdidas del cultivo (Shao y cols., 2019)

#### **2.1.1 Antracnosis**

La antracnosis es una enfermedad fúngica caracterizada por el desarrollo de lesiones necróticas limitadas, hundidas en las hojas, tallos, flores y frutos, así como pudrición de la corona, el tallo, tizón de las plántulas y en la pulpa, ocasionando un sabor desagradable (Barkai-Golan, 2001; Cannon y cols., 2012). En la Fig. 1 se ilustra una variedad de síntomas de la enfermedad. Las mayores pérdidas causadas por la enfermedad se manifiestan durante la poscosecha, llegando a causar valores superiores al 50% del cultivo (Gañán y cols., 2015), sin embargo, estos valores dependen de las condiciones que favorecen su desarrollo, como la humedad relativa, ya que, porcentajes superiores al 95% en periodo mínimo de 12 h favorecen su desarrollo. La transmisión de la enfermedad se da por medio de salpicaduras del agua de lluvia y por acción del viento (Tapia, 2018). La enfermedad afecta principalmente a los frutos de mango, no obstante, también pueden aparecer en las hojas y los tallos (Nelson, 2008).



Figura 2.1: Síntomas de la enfermedad causados por especies de *Colletotrichum gloeosporioides* en diferentes órganos de la planta de mango. Fuente: Carrillo-Fasio y cols., 2004.

La infección es causada por diversas especies de hongos, estos incluyen *Diplocarpon* sp., *Elsinoe* sp. y *Colletotrichum* sp. (Sarkar, 2016). El principal agente causal de la antracnosis en mango es el fitopatógeno *Colletotrichum gloeosporioides* (Sarkar, 2016).

### 2.1.2 Ciclo biológico de la antracnosis

El ciclo de vida de *C. gloeosporioides* inicia con la germinación de esporas en la superficie de la planta para formar estructuras de infección llamadas apresorios (Sharma y Kulshrestha, 2015). Los apresorios funcionan como esporas en reposo sobre la fruta, ya que resisten las condiciones ambientales mucho mejor que los conidios; permanecen viables durante largos períodos mientras se incrustan en la cera natural de la fruta o se unen a su superficie (Barkai-Golan, 2001) En este punto, se producen hifas de infección gruesa en las células infectadas primarias, esta etapa se denomina etapa biotrófica de infección. Después el hongo cambia repentinamente a la fase necrotrófica de infección, que se caracteriza por la formación de hifas secundarias delgadas, que se originaron a partir de las hifas primarias y son estas hifas secundarias las que comienzan a colonizar las células cercanas, lo que conduce al desarrollo de lesiones visibles de color marrón oscuro en el sitio de infección (Figura. 2). Finalmente, las esporas se forman en la superficie del tejido infectado (Barkai-Golan, 2001; Sarkar, 2016; Tapia, 2018).

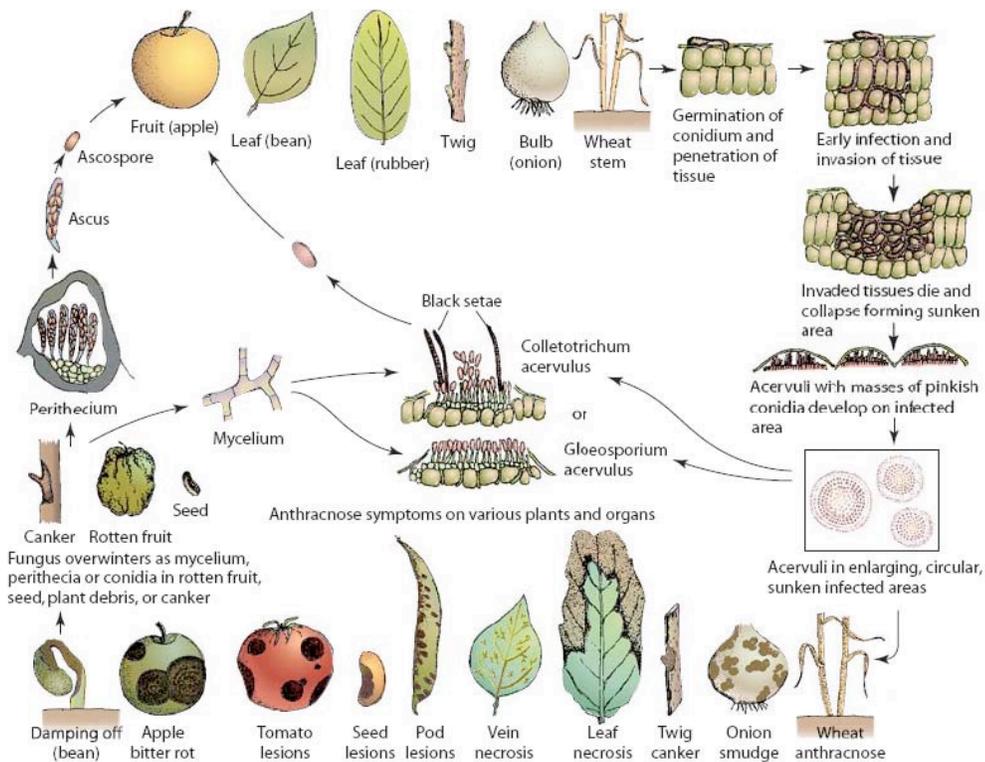


Figura 2.2: Ciclo de vida de la enfermedad de Antracnosis causada por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Fuente (Agris 2002).

El hongo *C. gloeosporioides* tiende a presentarse durante las últimas etapas del desarrollo fenológico, afectando el amarre del fruto y causando daño también en hojas y ramas, disminuyendo la capacidad fotosintética del árbol; puede permanecer aproximadamente por tres años como infección latente en los huertos hasta, presentándose el proceso de infección hasta que existan condiciones ambientales óptimas para su desarrollo (Gutiérrez, 2004; Tapia, 2018).

### 2.1.3 Control químico

El control de la antracnosis en frutos está basado principalmente en el monitoreo y manejo del cultivo relacionado con una serie de actividades preventivas que incluyen la limpieza del terreno, mejora del drenaje, sanitarias, manejo de cobertura y aireación en el árbol (Landeró y cols., 2016). Sin embargo, para el control eficiente de la enfermedad, se emplean medidas

de control químico a base de fungicidas sintéticos (Tapia, 2018). Estos pueden afectar a los cultivos, mediante la inhibición de la respiración celular al unirse al sitio submicron del complejo III de la cadena respiratoria o inhibir el transporte de electrones mitocondrial, así como inhibir la división celular, la síntesis de la pared celular (Bi y Ma, 2016; Fairchild y cols., 2013; Gutiérrez, 2014).

En México, en los últimos 10 años la demanda de fungicidas y bactericidas incrementó un 528% (FAOSTAT, 2015), lo cual se traduce en mayor inversión para el control de enfermedades de los agro-productos y mayor carga de residuos al ambiente. El uso indiscriminado de fungicidas químicos ha generado efectos negativos a la salud humana, animal y al ambiente, cambiando las propiedades fisicoquímicas del suelo y alterando la composición de las comunidades microbianas en las que se incluyen poblaciones benéficas (You y cols., 2016).

#### **2.1.4 Control biológico**

El control biológico hace referencia a la utilización de organismos vivos para disminuir la severidad una enfermedad o reducir el crecimiento de plagas (Peregrín, 2013). Afectando organismos entomófagos: vertebrados (pequeños mamíferos, aves) e invertebrados (parasitoides y depredadores, artrópodos: arácnidos o insectos), así como entomopatógenos: virus, bacterias, hongos, nemátodos y protozoos (Jurado y Moraga, 2012). Estos antagonistas se denominan agentes de control biológico, entre los microorganismos más usados se encuentran bacteria, hongos y levaduras (Bazauri, 2016; Quirós-Sauceda y cols., 2014). El control biológico de antracnosis ha sido reportado en manzanas [*Malus sylvestris* (L.) Mill. var. *domestica* (Borkh.) Mansf.], papaya (*Carica papaya* L.), aguacate (*Persea americana* Mill.) y mango (*Mangifera indica* L.) (Zequera et al., 2005)

## **2.2 RECUBRIMIENTOS A BASE DE BIOPOLÍMEROS**

Los recubrimientos pueden definirse como capas delgadas comestibles aplicadas en la superficie de los alimentos, de manera que retarda la pérdida de las propiedades deseables del fruto y lo convierte en parte integral del producto de tal forma que, se pueden ingerir en conjunto (Kowalczyk y Baraniak, 2011; Montalvo y cols., 2012; Baldwin y cols., 2012; Velázquez-Moreira y Guerrero, 2014). La aplicación de biopelículas es una tecnología conocida que se desarrolló para imitar las cubiertas naturales de los productos vegetales

comestible, con el fin de prolongar su vida de anaquel (Romero y Estrada, 2011). Estas coberturas llamadas recubrimientos actúan como una barrera física semipermeable a los gases y al vapor de agua (Montalvo y cols., 2012), retrasando el deterioro del alimento; su función también es mantener la integridad estructural del alimento y actuar como vehículo de aditivos alimentarios (Paredes, 2015).

### 2.3 CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS MEDIANTE RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES

La problemática de obtener un producto agrícola seguro, con mayor calidad y no perjudicial hacia la salud consumidor, han dirigido los esfuerzos en dirección del desarrollo de recubrimientos como alternativa para satisfacer estas necesidades (Guilbert y cols., 2002; Avila-Sosa y López-Malo, 2008). Los recubrimientos presentan una interesante alternativa debido a su capacidad de modificar la atmósfera interna de la fruta (Fig.3), lo cual permite retardar la maduración, protegerlo de la acción física, mecánica, química y microbiológica, disminuyendo así la senescencia (Romero y Estrada, 2011; Quintero y cols., 2010). Además, de poseer un procesamiento simple, bajo costo, no tóxico y fácil manipulación, lo que ayudaría a las necesidades de lograr una agricultura sostenible (Bautista-Baños y cols., 2006).

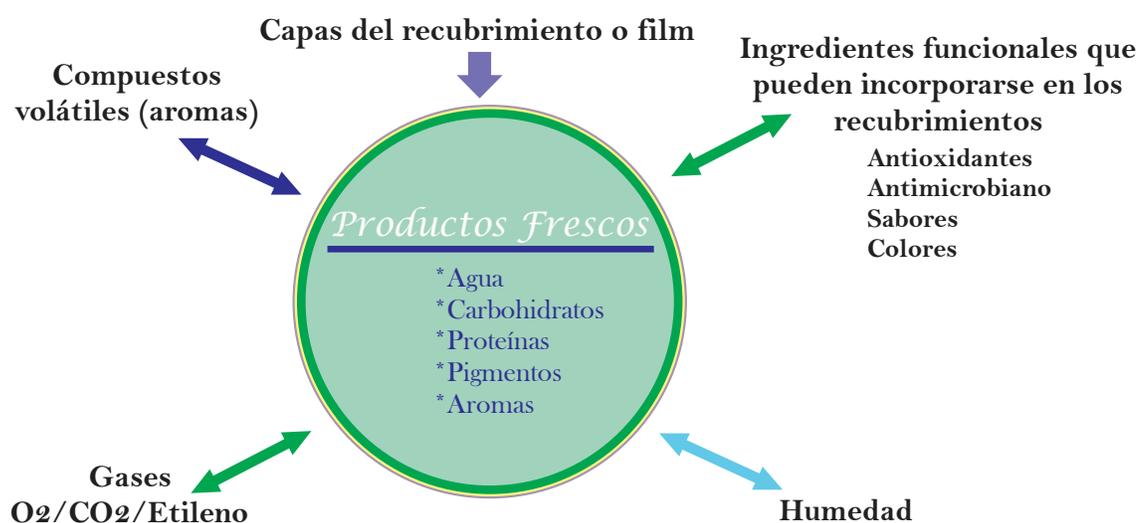


Figura 2.2.1: Transferencias que pueden ser controladas por barreras comestibles (Adaptado de Falguera y cols., 2011).

## 2.4 COMPONENTES DE LOS RECUBRIMIENTOS

Los recubrimientos son matrices continuas formuladas con diferentes componentes, que les confieren, según su base propiedades fisicoquímicas únicas (Ramos–García y cols., 2010). Generalmente, una película comestible está integrada por tres componentes: proteínas, lípidos, polisacáridos, además de combinaciones posibles entre ellos (Cazón, Velazquez y cols., 2017; Espitia y cols., 2014; Fakhouri, Martelli, Caon y cols., 2015).

Tabla 2.2.1: Funciones de componentes de los recubrimientos

Compuesto	Función en la formación de recubrimientos	Referencia
Carbohidratos	Estos componentes forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas, filmógenas, flexibles y son una excelente barrera a los gases, pero presenta una baja resistencia a la pérdida de agua. Dentro de este grupo se encuentra el almidón, alginatos, carragenanos, pectina, quitosano, celulosa y derivados, celofán y acetato de celulosa	(Romero y Estrada, 2011; Figueroa, Salcedo, y Narváez, 2013)
Lípidos	Forman compuestos hidrofóbicos con buenas propiedades de resistencia al vapor de agua y gases. Los lípidos no forman películas por sí solos, sino que, se utilizan en la formulación de recubrimientos con el objetivo de mejorar la propiedad de barrera al vapor y flexibilidad. Entre los lípidos que pueden ser incorporados se encuentran como acetoglicéridos, ceras, ácidos grasos, monoglicéridos.	(Pérez-Gago y cols., 2006; Ancos y cols., 2015; Romero y Estrada, 2011)
Proteínas	Los recubrimientos hechos a base de proteínas presentan excelentes propiedades de barrera a los gases, sin embargo, la resistencia al vapor de agua es menor debido a su estructura hidrofóbica. Algunas proteínas usadas para recubrimientos son:	(Vieiray cols., 2011)

---

el colágeno, gelatina, zeína, gluten de trigo,  
aislados de proteína de soya y proteínas de leche.

---

## **2.5 RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES COMO MATRIZ ESTABILIZADORA PARA COMPUESTOS BIOACTIVOS**

### **2.5.1 Alginato de sodio**

Los alginatos son polisacáridos que se obtienen por extracción alcalina de sales solubles del ácido algínico que proviene de diferentes tipos de algas marinas (Phaeophyceae) (Raeisi y cols., 2016), principalmente las algas pardas (*Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera*), las cuales son materia prima para la extracción de ficocoloides como el alginato. La extracción del alginato de sodio a partir de algas comprende 2 etapas principalmente, una que se lleva a cabo un pretratamiento ácido, para convertir las sales insolubles de alginato en ácido algínico, el cual es extraído en una segunda etapa con medio alcalino para obtener alginato de sodio soluble, que después pasa a la fase acuosa del proceso y finalmente se lleva a un proceso de separación líquido-sólido, precipitación y secado. El producto de la extracción se comercializa en forma de sal sódica, potásica o magnésica, siendo el de sodio el más utilizado en la industria agroalimentaria (Basha y cols, 2011; Méndez-Reyes y cols., 2015). En los últimos años igualmente se ha demostrado que el alginato de sodio es un material capaz de retrasar el proceso de maduración de alimentos vegetales, ya que posee propiedades coloidales únicas que le permiten formar geles fuertes (Song y cols., 2011). Dichas películas pueden prolongar la vida útil de los alimentos al formar una barrera contra grasas, prevenir la contaminación por microorganismos, mantener el sabor y retardar la oxidación de las grasas (Tabassum y Khan, 2020).

### **2.5.2 Propiedades estructurales**

Los alginatos son las sales del ácido algínico, un copolímero lineal compuesto por dos ácidos, ácido  $\beta$ -D-manurónico (M 1,4- enlace ácido  $\beta$ -D-manopiranosilurónico  $^4C_1$ ) y ácido  $\alpha$ -L-gulurónico (G 1,4-enlace ácido  $\alpha$ -L-gulopiranosilurónico  $^1C_4$ ) (Díaz-Mula, Serrano, & Valero, 2012). En la cadena polimérica, se encuentran

monómeros distribuidos en secuencias de homopolímeros M (bloques M), G (bloques G) y de manera alterna los heteropolímeros GM como se muestra en la Fig. 4. Sin embargo, tanto la secuencia, como la masa moleculares en la cadena polimérica varían según la especie de origen (Méndez Reyes y cols., 2015; Pawar y Edgar, 2012), esta distribución variada de los monómeros pueden conferir al gel características de flexibilidad o rigidez distintas dependiendo del contenido de ácido gulurónico (Romero, Malo, & Palou, 2013).

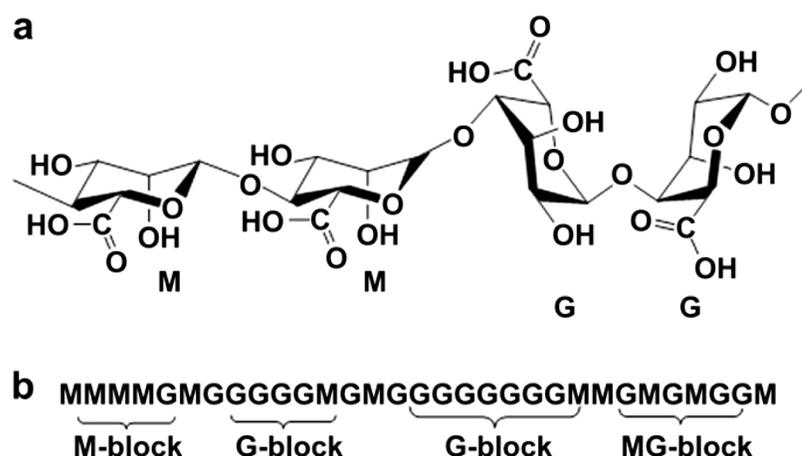


Figura 2.2.1 Estructura de la cadena polimérica del alginato de sodio: (a) muestra la conformación de la cadena y (b) muestra la distribución típica de bloques. Fuente: Pawar y Edgar, 2012.

### 2.5.3 Alginato de sodio como recubrimiento activo

Actualmente, el alginato se ha convertido en películas de alginato conocidas como 'empaque activo' al incorporar compuestos bioactivos como antioxidantes, antifúngicos y antimicrobianos (Raeisi y cols., 2016; Xu y cols., 2020). Esto debido a su capacidad para atrapar sustancias en una red formada por matrices poliméricas, logrando así obtener empaques activos; los recubrimientos a partir de alginato poseen una gran variedad de aplicaciones en el campo alimentario siendo su capacidad de biodegradabilidad, biocompatibilidad, baja persistencia en el ambiente y grado de compatibilidad con diferentes sustancias (Méndez y cols, 2014). En el cuadro 1. Se presenta diversas investigaciones enfocadas en la elaboración de películas y/o recubrimientos a base de alginato de sodio adicionadas con un agente de control biológico.

Tabla 2.2.1: Compuestos bioactivos adicionados a películas a base de alginato

Fruto	Matriz	Bioactivo	Función	Referencia
Aguacate	Alginato de sodio	<i>Meyerozyma caribbica</i>	Inhibición in vitro de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> aislado de aguacate	(Iñiguez-Moreno y cols., 2020)
-	Alginato de sodio - polietilenglicol (PEG) - glicerol	Lisozima, Nisina, Extracto de semilla de uva, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético	Diseño de películas con actividad antimicrobiana contra, <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Listeria innocua</i>	Cha y cols (2002)
-	Alginato de sodio-Carboximetilcelulosa	Vitamina C y polifenoles de té	Extensión de la vida útil de la dorada ( <i>Megalobrama amblycephala</i> )	(Song, Liu y cols., 2011)
-	Alginato-Calcio	Canela y nisina	Desarrollo de películas con actividad antioxidante	(Lu y cols., 2010)
Papaya	Alginato de sodio	Aceites esenciales de tomillo y orégano	Disminución de la tasa de respiración y crecimiento microbiológico	(Tabassum & Khan, 2020)
Piña	Alginato de sodio	Aceite esencial de limoncillo	Extensión de la vida útil de piña troceada	(Azarakhsh y cols., 2014)

Uva	Alginato de sodio	Extracto de semilla de toronja	Preservación de la actividad antioxidante y reducción de la incidencia de pudrición en las frutas	(Aloui y cols., 2014)
-----	-------------------	--------------------------------	---	-----------------------

## 2.6 COMPUESTOS BIOACTIVOS

Los compuestos bioactivos son componentes nutricionales presentes en pequeñas cantidades en plantas, animales, organismos marinos y microorganismos. Estos provienen de sistema biológicos que se dividen en dos grupos. metabolitos primarios, que son las sustancias químicas destinadas al crecimiento y desarrollo. Otro son los metabolitos secundarios, considerados como compuestos que aumentan la capacidad de supervivencia de los sistemas vegetales. Entre los compuestos bioactivos más comunes se encuentran antibióticos, micotoxinas, alcaloides, pigmentos de grado alimenticio, factores de crecimiento de plantas y compuestos fenólicos (Kris-Etherton y cols., 2002; Martins y cols., 2011; Azmir y cols., 2013; Díaz, 2017; Martínez-Navarrete y cols., 2008). Los compuestos fenólicos comprenden flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, entre otros. Los flavonoides constituyen el grupo más grande de compuestos fenólicos de plantas, que representan más de la mitad de los ocho mil compuestos fenólicos naturales (Martins y cols., 2011).

En los últimos años, su aplicación y consumo han ganado gran atención debido al efecto positivo que provee en la salud humana. Además, en el área alimenticia, proveen alimentos funcionales, con una vida útil mejorada y calidad nutricional, y aumentan la aceptación del consumidor. Además, estos compuestos tienen propiedades funcionales como antioxidantes (fenólicos), antimicrobianos (aceites esenciales), probióticos y sabores (Quirós-Sauceda y cols., 2014)

### **2.6.1 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos (PCs, del inglés phenolic compounds) comprenden todas aquellas sustancias que presentan en su estructura un anillo bencénico (fenil) unido a uno o más grupos hidroxilos (OH), dentro de la diversidad incluye desde moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina. Dentro de los compuestos fenólicos también se encuentran pigmentos flavonoides (Martín, 2018)

Generalmente son producto vegetal, como resultado de su metabolismo secundario, suelen biosintetizarse cantidades elevadas a consecuencia del sistema de defensa ante situaciones de estrés, sin embargo, algunos son producidos para sus funciones fisiológicas (Bährle-Rapp, 2007). Se localizan habitualmente en las vacuolas de las células vegetales, sin embargo, en tejidos jóvenes, cuyas células presentan vacuolas en desarrollo, suelen encontrarse principalmente en cloroplastos y núcleo (Babenko y cols., 2019; Khlestkina, 2013). Los PCs participan en diversos procesos tales como, fotosíntesis, respiración, formación de elementos de soporte de células y tejidos, formación de mecanismos de protección, regulación del transporte de auxinas, reducciones oxidativa y actividad antifúngica (Gómez-García y Ochoa-Alejo, 2013)

### **2.6.2 Compuestos fenólicos con actividad antifúngica**

La actividad antifúngica de los compuestos fenólicos (PCs) se basa en la capacidad de inhibir el crecimiento, reproducción, respiración, entre otras funciones vitales de los microorganismos (Martín, 2018). Los mecanismos de acción que provocan inhibición enzimática por oxidación de compuestos, a través de reacciones involucradas con grupos sulfhídricos. o a través de otras interacciones no específicas con proteínas (Rivas-Morales y cols., 2016). Además, algunos PCs disminuyen el desarrollo de patógenos, por inhibición de la síntesis de aminoácidos (Rodríguez y cols., 2015). Mikulic-Petkovsek (2013) señala que, estas sustancias tóxicas para patógenos actúan de manera conjunta y no de manera individual, lo que permite inhibir la infección en cultivares resistentes.

#### **2.6.2.1 Extracción de compuestos fenólicos de plantas por APH**

La técnica de altas presiones hidrostática consiste en someter al alimento sólido o líquido ya envasado al vacío, en su formato flexible a presiones de entre 100 y 1000 MPa, con la presencia de un vehículo transmisor de la presión, a una temperatura en un rango de 0 y 100

°C. Ya que normalmente el medio utilizado para transmitir la presión es el agua, este tratamiento se le conoce como altas presiones hidrostáticas (Andrés, 2016; Daoudi, 2006). Una de las grandes ventajas que presenta las APH, es la uniformidad inmediata a través del medio de transferencia de presión, además de ser independiente del tamaño y la geometría del producto (Daoudi, 2006; Parada y Aguilera, 2007).

La aplicación de APH en matrices vegetales da lugar a modificaciones en los biopolímeros (proteínas, polisacáridos y lípidos), cambios en la permeabilidad de iones de las membranas y ruptura de la pared celular de los orgánulos, permitiendo la salida de agua, nutrientes y compuestos bioactivos (Vázquez, 2013). Por lo tanto, el APH es un excelente método de extracción de metabolitos secundarios presentes en estructuras vegetales, como la hoja de jaca (Vázquez, 2019).

### **CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN**

### 3. JUSTIFICACIÓN

La agricultura en México representa la actividad de gran importancia económica, siendo uno de los principales cultivos es el mango con más de 50 variedades, y entre ellas la “Kent” es una de las más apreciadas por su atractivo color, delicioso sabor y agradable fragancia (Vázquez-Celestino, Ramos-Sotelo, Rivera -Pastrana, Vázquez-Barrios y Mercado-Silva, 2016). Sin embargo, el cultivo de mango presenta una desventaja considerable ya que, está sujeto a grandes pérdidas debido a factores bióticos que influyen la formación de enfermedades, dentro de las cuales la presenta un mayor impacto es antracnosis, ocasionada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, considerado uno de los patógenos más importante del mango, ya que provoca disminución radical en la calidad y por lo tanto el valor del producto. Para el control de esta enfermedad se utilizan fungicidas sintéticos, que con la aplicación excesiva puede provocar la aparición de cepas resistentes a los agroquímicos y los residuos de estos productos químicos pueden provocar daños a la salud humana y al ambiente. Una alternativa para el control de antracnosis es la utilización de agentes antifúngicos naturales, como los compuestos fenólicos. Se ha informado que estos metabolitos secundarios participan en la defensa de las plantas, su acumulación en el sitio de infección se ha correlacionado con la restricción del desarrollo de patógenos. Estos pueden ser extraídos a partir de hojas de jacas, adicionados a una película a base de un polisacárido formen un recubrimiento activo, como es el caso del alginato de sodio consideramos uno de los materiales con excelentes propiedades biocompatibles, biodegradables y con capacidad de retener agentes bioactivos, logrando conservarlos, liberarlos y reducir la incidencia de la enfermedad.

## **CAPÍTULO 4. OBJETIVOS**

## 4. OBJETIVOS

### Objetivo General

- Elaborar un recubrimiento a base de alginato de sodio adicionado de compuestos fenólicos para el control de antracnosis en poscosecha en mango (*Mangifera indica* L.).

### Objetivo Específico

- Evaluar la capacidad antifúngica *in vitro* de la película adicionada de compuestos fenólicos.
- Evaluar propiedades fisicoquímicas y mecánicas de las películas de alginato de sodio adicionadas de compuestos fenólicos.
- Elaborar un recubrimiento a base de alginato de sodio adicionado de compuestos fenólicos extraídos por APH de hoja de jaca.
- Evaluar la actividad de un recubrimiento a base de alginato de sodio de compuestos fenólicos en frutos de mango contra *C. gloeosporioides*.

## **CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS**

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

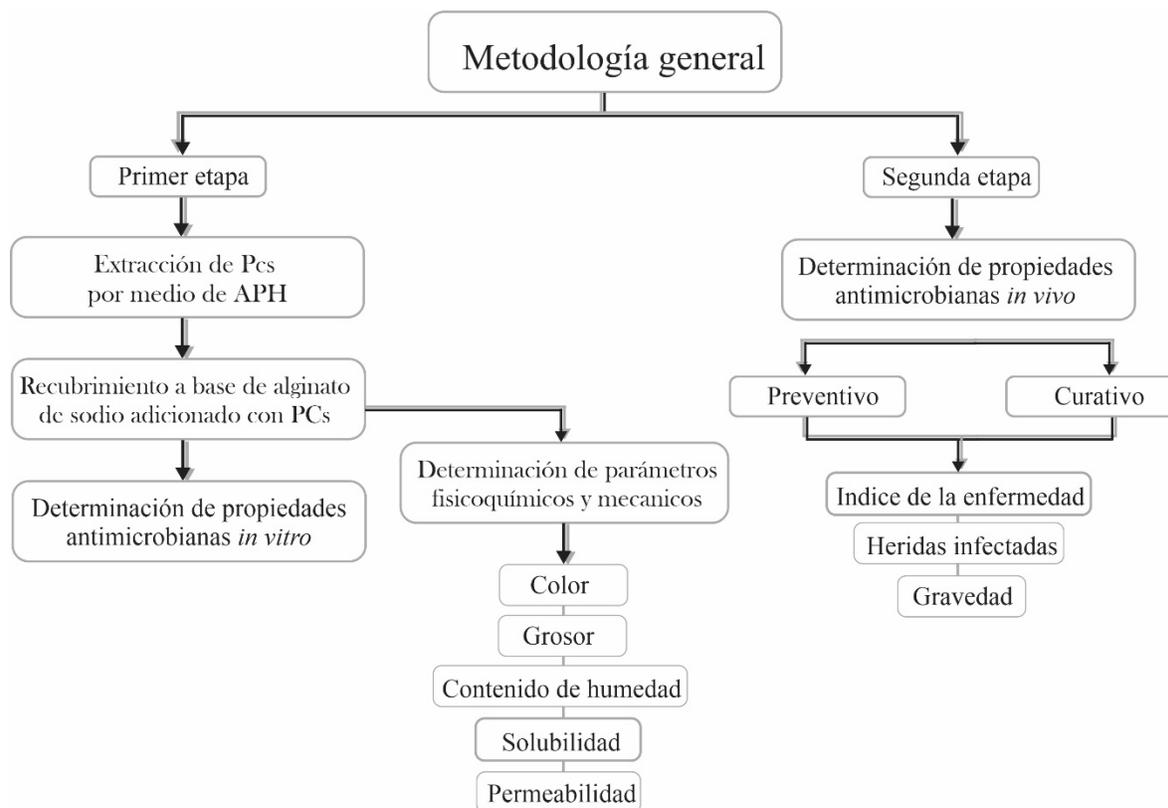


Figura 5.1 Diagrama general de la metodología

El desarrollo experimental de esta investigación se realizará en 2 etapas. La primera etapa consistirá en la evaluación de la actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides in vitro* del recubrimiento a base de alginato de sodio adicionado con extracto fenólico.

La segunda etapa consistirá en la evaluación *in vivo* del recubrimiento adicionado con el extracto fenólico aplicado por inmersión en el mango, evaluando su actividad antifúngica contra los hongos anteriormente mencionados.

### 5.1 Material biológico

Para el desarrollo de la investigación, se realizará a recolección de la muestra mediante un muestreo aleatorio simple de hoja de jaca en estado joven y madura.

Los Frutos de mango variedad Kent serán adquiridos en la localidad de Tepic, Nayarit. Se seleccionarán los mangos que presente características similares de tamaño, peso, saludables, sin daños mecánicos y madurez fisiológica.

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* que se utilizará, fue aislado previamente de un fruto de mango enfermo con antracnosis.

## **5.1 Preparación de materia prima**

Las muestras de hoja de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.) en los dos estados de madurez se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 min, enseguida se lavarán con agua estéril, se dejarán secar a temperatura ambiente, posteriormente se deshidratarán en una estufa de secado a 40 °C durante 24 h por último, se pulverizará y tamizará con un tamaño de malla de 100 µm con el fin de tener distribuciones de tamaño homogéneas.

Previo a la aplicación de películas, los frutos de mango serán sumergidos en agua clorada (100 ppm cloro) por 5 min. Posteriormente serán secados a temperatura ambiente.

## **5.2 Primera etapa**

### **5.2.1 Extracción de compuestos fenólicos**

La extracción se realizará según lo descrito por Vázquez (2019). Se pesarán 50 g del polvo de hoja de jaca y se añadirá 80% (v / v) de mezcla de etanol / agua (500 ml). A continuación, la mezcla se mantendrá bajo agitación orbital a 150 rpm durante 10 min, a temperatura ambiente. La muestra se empacará al vacío en bolsas de polietileno de alta densidad empleando un sistema de sellado al vacío (FoodSaver modelo V38305) y consecutivamente, se realizará la extracción mediante un equipo de altas presiones hidrostáticas modelo CIP42260 (Avure Autoclave Systems, Eri PA USA) a 200 MPa durante 15 min. La fase líquida se separa por medio de centrifugación a 4,500 rpm por 10 min, para eliminar el sólido restante en la muestra se realizará una filtración al vacío a través de un Millipore de 45 m (Billerica, MA). El filtrado obtenido se colocará en un evaporador rotatorio RV10BS1 (IKA USA) a 40 °C para eliminar el solvente. Finalmente, las muestras obtenidas se almacenarán a -18°C hasta su uso.

### **5.2.2 Recubrimiento a base de alginato de sodio y compuestos fenólicos**

Para la elaboración de la solución base se preparará alginato de sodio al 1.5% con agua destilada bajo agitación constante (500 rpm) a 70 °C. Después de 45 min se agregará la fracción másica de glicerol correspondiente al 20% (p / p) en relación con SA seco manteniéndolo las mismas condiciones (500 rpm a 70 °C)-

Para la elaboración de la solución base se preparará alginato de sodio al 2% con agua destilada bajo agitación constante (500 rpm) a 70 °C. Después de 5 min se agregará la fracción másica de glicerol correspondiente al 10% manteniéndolo las mismas condiciones (500 rpm a 70 °C).

El extracto fenólico previamente filtrado con un filtro de jeringa con un tamaño de poro de 0.45 µm y diámetro de 25 mm, se dispersará en concentraciones de 0.5 y 2 mg de extracto liofilizado /mL de recubrimiento y se adicionará a la solución, se homogenizará a 10000 rpm durante 10 min (ULTRA TURRAX IKA T18 basic).

### **5.2.3 Determinación de los parámetros fisicoquímicos y mecánicos**

#### **3.2.2.1 Color**

El color de las películas se evaluará utilizando un colorímetro Konica-Minolta modelo CR-400. El sistema proporciona los valores de tres componentes de color L (componente negro-blanco, luminosidad) \* a (componente +rojo a -verde) (saturación) \* b (componente +amarillo a -azul) (tono) \*.

#### **3.2.2.2. Grosor/espesor**

El grosor de las películas se determinará usando un micrómetro de mano (Mitutoyo No. 2412F), con una sensibilidad de 0.001 in.

#### **3.2.2.3. Contenido de humedad**

El contenido de humedad (H) de cada película se determinará de acuerdo con el método t), secando las muestras a una temperatura de 70°C hasta peso constante, el contenido de humedad se calculará mediante la siguiente fórmula:

$$Humedad (\%) = \frac{(P1 - P2)}{m} \times 100$$

Donde:

P1= peso del objeto más muestra

P2= peso del objeto más muestra seca

m= peso de la muestra inicial

#### **3.2.2.4. Solubilidad**

Para la determinación de humedad, se cortarán fragmentos del recubrimiento (2 x 2 cm) se secarán a 70 °C durante 24 h para obtener la masa seca inicial, éstas muestras secas se colocarán en vasos de precipitados de 50 mL con 30 mL de agua destilada. Después, el agua de los vasos de precipitados se desechará y el recubrimiento residual se enjuagará con agua destilada. Las piezas del recubrimiento residual se secarán a 70 °C para determinar la masa seca (Vázquez y Guerrero, 2017). La solubilidad se calculará usando la siguiente ecuación:

$$Solubilidad (\%) = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

Donde:

M<sub>i</sub>= masa inicial de la muestra en g

M<sub>f</sub> = masa final de la muestra en g

#### **3.2.2.5. Permeabilidad**

Las propiedades de tensión se determinarán utilizando un texturómetro TA-TX plus Texture Analyser modelo GU7 1YL de acuerdo al método de (Leerahawong, y cols., 2011) con algunas modificaciones.

Resistencia a la tensión: los recubrimientos serán colocados en un porta muestras con orificio de 4 cm, manteniéndolas fijas y extendidas. Se utilizará una sonda cilíndrica de 3 mm de diámetro.

Elongación: se utilizarán tiras de 6x1 cm para determinar el porcentaje de resistencia a la ruptura. Para la medición de los parámetros antes descritos se utilizará una velocidad de 1 mm/s y una distancia de recorrido de 20 mm. La resistencia a la tensión (RT) y el porcentaje de elongación (%E) serán calculadas usando las siguientes ecuaciones:

$$RT(MPa) = \frac{f}{A}$$

Donde:

f= es la fuerza de ruptura (N)

A= área transversal de la película en mm<sup>2</sup>

$$\text{Elongación (\%)} = \frac{\Delta L}{L} \times 100$$

Donde:

$\Delta L$ = incremento en la longitud en el punto de ruptura en mm

L= longitud inicial en mm

## 5.2.4 Análisis térmico

### 3.2.2.6. Análisis termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico de las películas conteniendo .5 mg/ml extracto de EHJ y sin extracto se realizó el análisis mediante una balanza termogravimétrica (Delaware, Estados Unidos) y el software de análisis utilizado fue TRIOS. El análisis se realizó calentando 1mg de muestra de 25 a 500 °C a una velocidad de calentamiento de 5 ° C / min bajo un flujo de atmósfera de nitrógeno.

### 3.2.2.6. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se realizó un análisis DSC para determinar la posible interacción del EHJ con el polímero SA. Al respecto, se colocaron 1 mg de muestra en crisoles de aluminio sellados herméticamente. La muestra se calentó de 25 a 450 ° C a una velocidad de calentamiento de 5 ° C / min en un calorímetro de barrido diferencial DSC 250, TA Instrument (Delaware, EE. UU.). Los datos se analizaron utilizando el software TA Instrument TRIOS.

### 5.2.5 Determinación de propiedades antimicrobianas *in vitro*

*Colletotrichum gloeosporioides* se cultivarán en PDA durante 7 días a 28 °C. Se añadieron 10 mL de solución salina estéril que contendrá Tween 80 (0.05% m/v) a cada placa para recuperar las esporas, las suspensiones de las mismas se realizaron frotando la superficie de agar con un asa Digalsky estéril. Después, la suspensión se filtró con una gasa estéril y se recuperará en un matraz de dilución estéril. La concentración de esporas se ajustará a  $1 \times 10^5$  esporas/mL por recuento microscópico en cámara Neubauer, 50  $\mu$ L de esporas de hongos

( $1 \times 10^5$  esporas/mL) se extenderán sobre los discos PDA (1.4 cm) y después se dejarán secar durante 5 min en una campana de bioseguridad, posteriormente los discos se cubrirán con recubrimientos solidificados que contendrán o no los extractos fenólicos de jaca.

Posteriormente, los discos se incubarán a 25 ° C, por 6 h. Después del tiempo de incubación, los recubrimientos serán removidos asépticamente para determinar la tasa de germinación de *Colletotrichum gloeosporioides* por microscopía óptica. El porcentaje de esporas germinadas se determinará en muestras aproximadamente de 200 esporas. Se considerarán las esporas germinadas cuando la longitud del tubo germinal sea igual o mayor que el diámetro de la espora.

La determinación del porcentaje de inhibición de las películas contra el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* se realizará cortando discos de PDA (5 mm) con crecimiento de micelio activo de 7 días y se colocaron asépticamente en medio PDA y luego se cubrirá el medio inoculado con películas que contengan o no extractos fenólicos de jaca. Finalmente, el medio inoculado cubierto por las películas se incubará a 25 °C. Las placas se cubrirán con parafilm para evitar la deshidratación. El diámetro de crecimiento se registrará durante 7 días 25 °C (González-Estrada y cols., 2017). Se usarán 3 controles, cajas de Petri PDA inoculadas, cubiertas con recubrimientos solidificados sin extracto, cajas de Petri PDA inoculadas, pero no recubiertas y cajas de Petri sin inocular con recubrimiento solidificado adicionado con extracto fenólico. El porcentaje de inhibición de crecimiento micelial se calculará de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{dc - dt}{dc} \times 100$$

Dónde:

dc= es la media del diámetro de la colonia para el control en cm

dt= es la media del diámetro de la colonia para los tratamientos en cm

### **5.3 Segunda etapa.**

#### **5.3.1 Selección del recubrimiento para la evaluación en frutos**

Se seleccionará una formulación de las propuestas en el apartado 5.2.2 , que presente mejor porcentaje de inhibición.

### **5.3.2 Protección postcosecha de mangos con recubrimientos de alginato de sodio adicionado con compuestos fenólicos**

Para la evaluación del control del desarrollo *C. gloeosporioides*, se realizará una suspensión de  $1 \times 10^6$  esporas por ml. Los frutos de mango se estilizarán en una solución en hipoclorito de sodio al 1% (v/v) durante 2 min y lavados con agua destilada. Se dejarán secar en una campana de flujo laminar por media hora.

### **5.3.3 Tratamiento curativo**

Posteriormente serán inoculados con 15  $\mu$ L de una solución a  $1 \times 10^5$  esporas/mL con una aguja estéril (3 mm de profundidad y 3 mm de ancho). La fruta con la suspensión de esporas reposara durante 6 h para permitir la infección del patógeno antes de aplicar el tratamiento adecuado.

El recubrimiento se aplicará mediante el método de inmersión por 1 min y se almacenará en una cámara durante 7 días (Novatech modelo CA-550) a 25 °C con humidificadores (Vick <sup>TM</sup> Modelo V420-LA).

### **5.3.4 Tratamiento preventivo**

Los tratamientos preventivos se realizaron aplicando primero el tratamiento a la fruta herida, dejando que la fruta se seque 6 h a temperatura ambiente (25 ° C), después se expondré la fruta tratada al patógeno, inoculando con la suspensión de esporas. Los tratamientos de control consistieran en inocular la fruta herida solo con agua estéril, antes o después de la inoculación. Las frutas se almacenaron durante 15 días en una cámara (Novatech modelo CA-550) A 25 ° C con humidificadores (Vick <sup>TM</sup> Modelo V420-LA) para garantizar una humedad relativa alta. Se evaluará la incidencia de la enfermedad (porcentaje de fruta infectada), las heridas infectadas (porcentaje) y la gravedad (diámetro de la lesión). Una cal se consideró descompuesta cuando al menos una de las heridas inoculadas estaba infectada.

## **5.4 Análisis estadístico**

Los ensayos se dividirán en dos etapas, en primera etapa se realizara un diseño experimental diseño experimental ANOVA de un solo factor (one-way ANOVA), el factor (concentración de extracto fenólico extraído) con dos niveles (0,5 y 2 mg/mL de extracto fenólico de jaca),

tal como se muestra en la tabla 3. En la segunda etapa el ensayo se elaborará con un diseño experimental ANOVA de un solo factor (one-way ANOVA), el factor (concentración de extracto fenólico extraído) con un nivel de extracto fenólico que será elegido según los resultados de la primera etapa (tabla 4).

Tabla 5.1: Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento *in vitro*

<b>Tratamiento</b>	<b>Película</b>	<b>Extracto fenólico (mg/mL)</b>
1	1	0.5
2	1	2
3	1	0
4	0	0

Tabla 5.2: Tratamientos propuestos para la preparación del recubrimiento *in vivo*

<b>Tratamiento</b>	<b>Recubrimiento</b>	<b>Extracto fenólico (mg/mL)</b>
1	1	1
2	1	0
3	0	0

Se realizará un análisis de varianza y El Test HSD (Honestly-significant-difference) de Tukey para evaluar diferencia entre las medias de los tratamientos utilizando el software STATISTICA 12. Una  $p < 0.05$  será considerada como estadísticamente significativa.

## **CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Primera etapa

#### 6.1.1 Análisis de Color

El color es aquel atributo de calidad que desempeña un papel importante en la determinación de la preferencia y aceptabilidad del consumidor hacia los alimentos recubiertos con estos tratamientos. Los atributos incoloros de las películas formadas a base de SA no interfieren con el color del fruto, permitiendo observar su color original, por ello se midieron los valores de  $L^*$  (claridad),  $a^*$  (enrojecimiento) y  $b^*$  (amarillez), que se utilizaron para evaluar el cambio de color de los tratamientos. La diferencia de color total ( $\Delta E^*$ ) en las películas SA con 0.05 mg/ml es mayor en comparación con las películas de 2 mg/ml de EHJ. Además, Las películas adicionadas con extracto presentan una disminución del valor de  $L^*$ , sin diferencias significativas entre las dos concentraciones utilizadas. Lo que puede ser ocasionado por un incremento en la reflexión difusa debido a la disminución de homogeneidad (Van Beest, 2013). La pigmentación verde observada en las películas fue baja en ambas concentraciones de extracto, lo cual probablemente su aplicación en frutos no tendrá un efecto visual negativos. Por otra parte, los valores de  $a^*$  y  $b^*$  aumentaron con la incorporación de EHJ. Un efecto similar fue obtenido por López-Hernández y cols. (2018) en películas agregadas con extracto de tamarindo, en donde las películas presentan una reducción de sus valores de luminosidad y un aumento en la escala azul-amarillo al agregar los extractos. En la Tabla 6.1, se recogen los parámetros cromáticos (luminosidad, croma y tono) así como cambio de color.

Tabla 6.1: Valores obtenidos de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de películas a base de SA y SA adicionadas con EHJ

Películas	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
C2	87.52±1.56 a	0.14±0.34 a	10.08±2.95 a	9.14±1.92 a
C0.5	89.24±1.18 a	0.66±0.03 b	16.19±1.53 b	15.18±3.62 b
SA	95.03±0.62 b	-0.45±0.02 c	3.05±0.06 c	-

C2: 2 mg/ml de EHJ, C0.5: 0.05 mg/ml de EHJ y SA: 15g L<sup>-1</sup>Alginato de sodio. Los valores de luminosidad (L), cromaticidad (a y b), diferencia de color ( $\Delta E$ ) Medias con letras minúsculas distintas son significativamente diferentes para cada concentración de EHJ.

### 6.1.2 Parámetros fisicoquímicos

Los resultados de la tabla 6.2 muestran los efectos de las dos concentraciones de EHJ sobre la humedad, Ph, PVA y grosor de las películas a base de SA. El menor porcentaje de humedad se obtuvo en películas control, en cambio, las películas con 0.5 y 2 mg/ml de extracto no presentaron diferencia estadística entre ellas. Resultados similares fueron reportados por Augusto y cols. (2018) en películas de alginato al 1% agregadas con 0.5% de extracto de algas, las cuáles contenían un porcentaje de agua de  $28.29 \pm 0.01$ . Es posible que esta variación en porcentajes de humedad sea debida a la interacción que puede formarse entre las moléculas de agua y los PST presentes en EHJ, provocando mayor capacidad de retención de moléculas de agua y dificultando su liberación, por lo tanto el tiempo de secado deberá prolongarse (Ruan et al., 2019).

Tabla 2.1.2: Contenido de humedad, espesor, solubilidad, PVA y pH de películas a base de SA y adicionadas con EHJ

Películas	Humedad (%)	pH	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	Solubilidad	PVA ( $\text{kg}/(\text{m.s.Pa}) \times 10^{-13}$ )
C2	28 $\pm$ 0.10a	6.63 $\pm$ 0.13a	39 $\pm$ 0.04a	87 $\pm$ 0.67a	3.14 $\pm$ 0.43a
C0.05	27 $\pm$ 0.031a	6.75 $\pm$ 0.22ab	35 $\pm$ 0.02a	94 $\pm$ 1.34b	1.44 $\pm$ 0.19b
SA	12 $\pm$ 0.080b	7.08 $\pm$ 0.14b	62 $\pm$ 0.06b	98 $\pm$ 0.97b	1.06 $\pm$ 0.32 b

C2: 2 mg/ml de EHJ, C0.5: 0.5 mg/ml de EHJ y SA: 15g L-1Alginato de sodio. Los datos en la misma línea con diferentes letras son significativamente diferentes ( $P < 0.05$ ).

Se obtuvo una ligera disminución de pH, sin diferencias significativas entre la solución control y el tratamiento con la concentración de 0.5 mg/ml. El carácter ligeramente ácido se debe al pH de los compuestos presentes en el extracto, que varía notoriamente según el solvente de extracción. En la investigación realizada por Álvarez-Rosales (2019), estima el pH de cedrón (*Aloysia citrodora*) mediante una solución alcohólica del 10%, el extracto resultante se consideró como muestra de naturaleza neutra. Por otra parte, realizaron mediciones en hojas de *Spondias mombin* L. por medio de soluciones 3:7 etanol-agua,

obteniendo en promedio pH de 6. En este caso, las concentraciones utilizadas no provocan un cambio severo en las formulaciones del recubrimiento.

Respecto al espesor de las películas, las películas control presentaron en promedio 65  $\mu\text{m}$ , a diferencia de aquellas adicionadas con EHJ, las cuales no mostraron diferencias significativas entre ellas ( $P < 0.05$ ) con valores por debajo de 40  $\mu\text{m}$ . Estos resultados concuerdan con los informados por Luo y cols. (2019), quienes mencionan que el grosor de las películas compuestas únicamente de alginato de sodio presentaba un mayor grosor, comparadas con aquellas que contenían extracto. El comportamiento mostrado según Ruan (2019), podría deberse a las interacciones entre los diferentes compuestos del extracto y las estructuras poliméricas que conforman la película, dicha combinación provoca la formación de enlaces covalentes y puentes de hidrogeno que logran como resultado una reducción del grosor.

El efecto de la incorporación de EHJ a diferentes concentraciones sobre la permeabilidad al vapor de agua de películas basadas en SA se muestra en la tabla 6.2. El aumento del contenido de EHJ de 0.5 a 2 mg/ml en concentración redujo significativamente el PVA de las películas de SA / EHJ resultantes. Esta reducción se estimó en más del 16% para las películas incorporadas con el contenido de EHJ más alto (2 mg/ml) en comparación con la película SA sin extracto. Según lo confirmado por el análisis FTIR realizado por Ruan y cols., (2019), tal mejora en las propiedades de barrera al agua de las películas compuestas de alginato de sodio y la presencia de polifenoles podría explicarse por la formación de interacciones débiles entre los grupos OH de ambas sustancias, ya que la adición de los polifenoles a la película provoca un longitud de onda más alta en 3351,17  $\text{cm}^{-1}$  y 3354,65  $\text{cm}^{-1}$ . De acuerdo con nuestros resultados, Aloui y cols., (2020) ) informaron una disminución significativa en PVA en películas a base de alginato de sodio al aumentar el contenido de un extracto de nuez. Según estos autores, dicho fenómeno puede atribuirse los enlaces cruzados entre las cadenas de polímero y los compuestos fenólicos presentes en el extracto a través de interacciones de hidrógeno. Asimismo, Kumar y cols., (2019) informaron que en películas a base de algas y extracto de hojas de neem, la disminución de PVA podría ser ocasionada por puentes de hidrógeno que reducen la disponibilidad de grupos hidroxilo, lo que mejoraría el ángulo de contacto con el agua y reduciría la permeabilidad al agua.

La tabla 6.2 muestra además la solubilidad de las películas estudiadas, entre las cuales se destaca las formadas únicamente de SA debido a su alto grado hidrofílico, en promedio presenta valores de 98%, seguida de aquellas que contenían la menor concentración de EHJ. La disminución de solubilidad consecuente a la agregación de extractos sobre la solución formadora de películas concuerda con lo reportado por Augusto y cols., 2018, en su investigación sobre los efectos causados por la edición de extracto en películas a base de alginato de sodio, concluyen que su incorporación a la matriz polimérica disminuye la solubilidad de las películas, debido a la formación de enlaces de hidrógeno consecuentes de la combinación de ambas soluciones.

### 6.1.3 Análisis termogravimétrico

Se realizaron análisis termogravimétrico para evaluar la estabilidad térmica de las películas sin extracto y con extracto. La Figura 6.1 presenta la curva termogravimétrica (TG) y la derivada de la curva TGA (DTG). Los rangos de temperaturas de descomposición de los componentes y del comportamiento de las películas en la Tabla 6.3 y 6.4 respectivamente. La tabla muestra que, el glicerol presentó una temperatura inicial de evaporación a 105 °C. La película únicamente de alginato mostró dos etapas de descomposición. La pérdida de peso, antes de los 160 °C, se atribuye principalmente a la descomposición del glicerol. La segunda etapa inicia a 175.25 °C y exhibió una velocidad máxima de descomposición térmica a 197.78 °C, correspondiente a la descomposición del biopolímero, este resultado corresponde a lo reportado por Azeredo y cols. (2012). En esta etapa la película sin extracto mostró un pico máximo y un hombro en la curva DTG, lo que según Gao y cols. (2017) podría atribuirse a la ruptura de enlaces glicosídicos, la deshidratación de los anillos de sacáridos o al patrón de bloques distribuidos a lo largo de la cadena; esta descomposición corresponde a más del 40% de pérdida de peso de la película.

Tabla 6.3: Comportamiento térmico de los compuestos de la película

Compuestos de la película	Onset (°C)	Midpoint (°C)	Endet (°C)	% Pérdida	Pérdida de peso (mg)
Glicerol	105.79	190.34	193.75	98.978	19.591
Alginato de sodio	197.64	230.62	251.37	48.494	4.024

Extracto de hoja de jaca	158.8	195.42	221.71	20.146	0.584
--------------------------	-------	--------	--------	--------	-------

Tabla 6.4: Comportamiento de la película con o sin extracto de hoja de jaca

Película sin EHJ	Onset (°C)	Midpoin (°C)	Endet (°C)	% Pérdida	Pérdida de peso (mg)
<b>Fase I</b>					
Glicerol	112.21	138.18	157.8	31.743	2.981
<b>Fase II</b>					
Alginato de sodio	175.25	197.78	241.22	67.95	6.383
Película con EHJ	Onset (°C)	Midpoin (°C)	Endet (°C)	% Pérdida	Pérdida de peso (mg)
<b>Fase I</b>					
Glicerol	108.67	132.06	151.45	23.312	0.911
<b>Fase II</b>					
Alginato de sodio+ EHJ	171.92	192.7	244.2	63.438	2.479

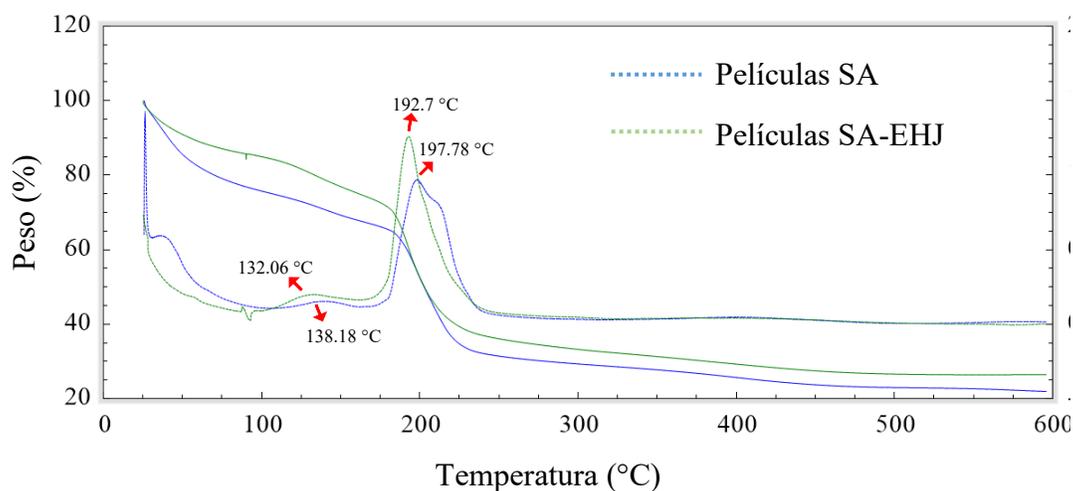


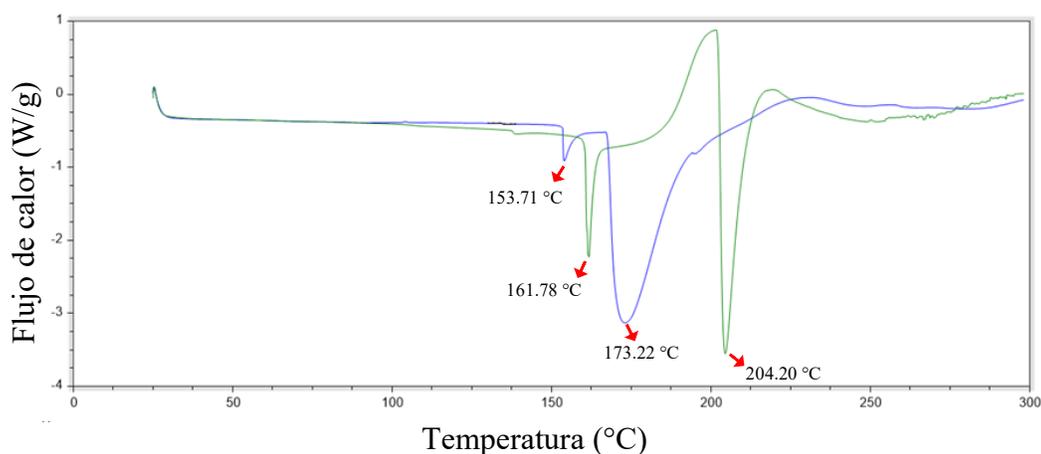
Figura 6.1: Curvas TG y DTG de películas con y sin extracto de hoja de jaca

La película de alginato con extracto mostró una tendencia similar en el paso de descomposición general a la película sin extracto en la gráfica TG y DTG, pero diferencias en las temperaturas de descomposición. Para la película con extracto, la pérdida de peso inició a 108.67 °C, la descomposición de esta fracción másica fue gradual con el aumento de

temperatura, debido a la pérdida continua de plastificante y agua. La disminución de temperatura de descomposición podría deberse al aumento de humedad de películas con extracto, que podría presentar un afectó en la temperatura de inicio, ya que las temperaturas inferiores de descomposición proporcionan menor estabilidad térmica en procesos de termoformado (Valencia-sullca, 2015). En la segunda etapa, se observó una ligera disminución de la temperatura de descomposición térmica (Onset), de aproximadamente 5 °C, como se muestra en la Tabla 6.4, lo que indica que la adición de EHJ disminuyó la estabilidad térmica de la película. Por otro lado, el onset del extracto exhibe una temperatura de 158.8 °C, por su parte, las películas adicionadas con EHJ aumentaron la temperatura a 171.92 °C. Este resultado muestra claramente un efecto termoprotector de la película a base de alginato de sodio sobre el extracto de hoja de jaca adicionado.

#### 6.1.4 Análisis de calorimetría diferencial de barrido

El comportamiento térmico de las películas basado en los datos de DSC se muestra en la Fig. 7. La temperatura teórica de fusión del alginato de sodio y glicerol reportada es de 300 y 18° C respectivamente, sin embargo, el termograma realizado en las muestras reveló dos picos endotérmicos en las películas de control de alginato (153.71 y 173.22 ° C) y 161.78 y 204.20 ° C para peliuals de SA+EHJ. El primer pico se atribuye a la presencia de glicerol en la película, debido a la baja temperatura necesaria para su fusión. Por consecuente el segundo pico corresponde a la fusión de los bloques G y M de la cadena biopolimérica del alginato de sodio, el aumento de temperatura necesaria para dicho evento en la película SA+EHJ, podría deberse a la amplia distribución de pesos moleculares de las mezclas polifenólicas del extracto que induce fuertes interacciones de puentes de hidrógeno entre los grupos OH del SA, provocando un requerimiento mayor de calor. Esto se corrobora en el termograma (TGA, Fig. 6.2) en el que podemos asociar descomposición simultánea con fusión (DSC, Fig. 6.2) a temperaturas proximas a 200 °C.



Según Koc y cols. (2020) el segundo pico es originado por la cristalización de los polímeros, que podría aumentar como respuesta a la adicción e interacción de EHJ con los polímeros. En la investigación realizada por Cheikh y cols. (2020) mencionan que la distribución de pesos moleculares de las sustancias fenólicas aumenta la extensión del pico endotérmico.

### 6.1.5 Inhibición de crecimiento micelial

La inhibición del crecimiento de *C. gloeosporioides* en cajas de PDA recubiertas con películas de SA fue significativamente menor en comparación con las muestras tratadas con recubrimientos SA adicionadas de EHJ en concentraciones de 0.5 mg/ml logrando un porcentaje de 81% de inhibición (Fig. 6.3). Algunos autores han atribuido el efecto a los principales flavonoides naringina y la narirutina, compuestos capaces de interactuar con los lados polares y alifáticos de la membrana fúngica (Ortuño y cols., 2006).

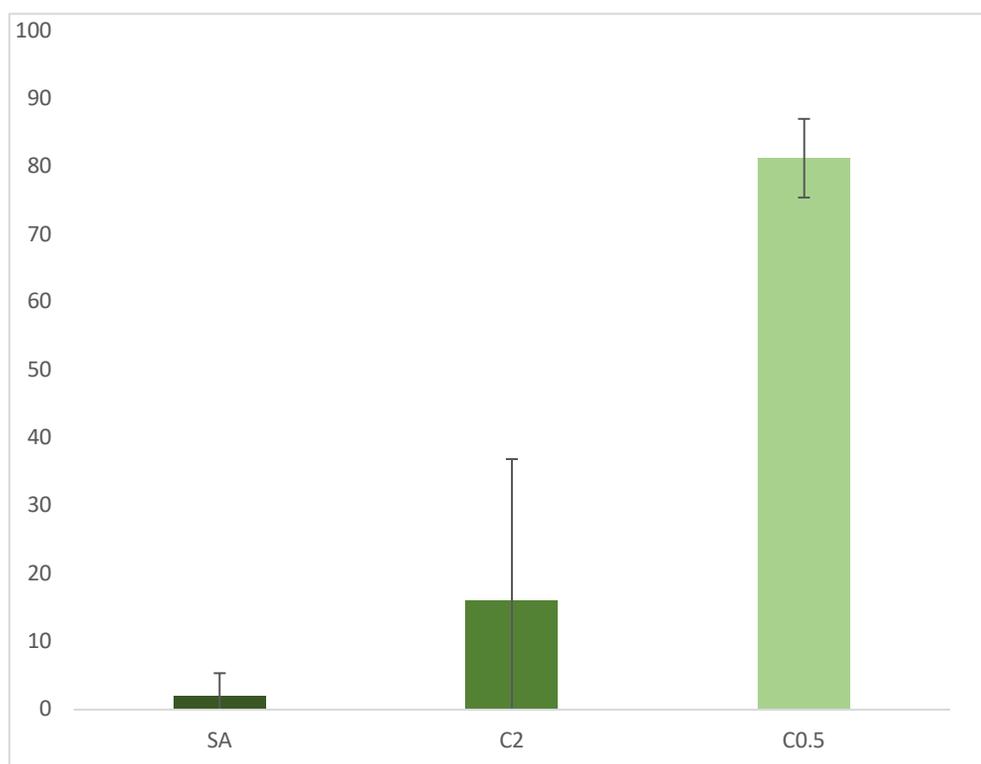


Figura 6.3: Inhibición del crecimiento *in vitro* de *C. gloeosporioides* después de

7 días del tratamiento con EHJ incorporado en películas de SA.

Por otra parte, la actividad antifúngica también podría ser causada por la presencia de taninos en extractos de hoja de jaca, debido a su capacidad de actuar como especies reactivas de oxígeno (ROS) lo cual produce la saturación de la enzima catalasa y por consecuencia estrés oxidativo severo a causada del aumento de  $H_2O_2$ , como informó Vázquez y cols. (2020) en extractos etanólicos obtenidos a partir de hoja de jaca por medio de altas presiones hidrostáticas. En esta investigación se obtuvieron porcentajes similares de inhibición frente a *C. gloeosporioides*. En concentraciones de 0.5 mg/ml se redujo el crecimiento micelial hasta un 80% con de extractos liofilizados adicionados a cajas con PDA tal y como se muestra en la figura 6.4.

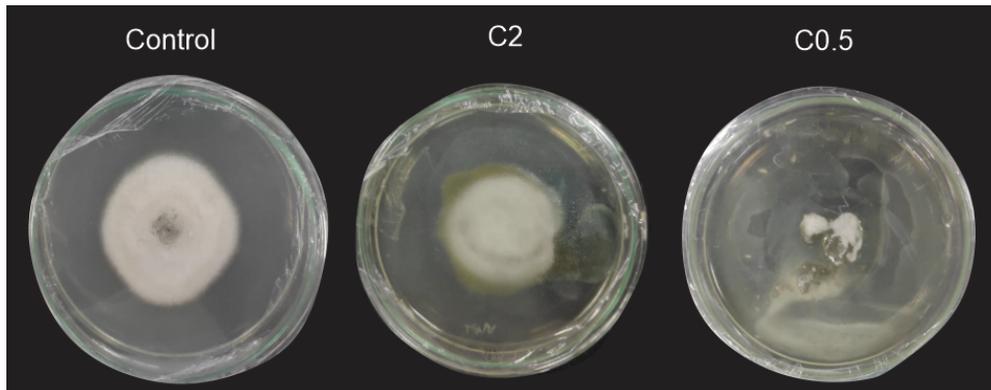


Figura 6.4: Inhibición de las películas en dos concentraciones frente a *C. gloeosporioides* después de 7 días.

### 6.1.6 Inhibición de germinación de esporas

El efecto inhibitorio de los extractos liofilizados se probó en dos concentraciones sobre la germinación de esporas (Fig. 6.5). En particular, la concentración 0.5 mg/ml mostró los mejores resultados, provocando una inhibición superior al 80 %, mientras que la concentración 2 mg/ml obtuvo un porcentaje de 53%. El mecanismo de acción radica en la naturaleza lipofílica liviana de diversos compuestos fenólicos, los cuales se conglomeran en la membrana celular del hongo, alterando así su permeabilidad y afectando algunos mecanismos de transporte (Sales y cols., 2016). En el estudio realizado, la mayor actividad de los extractos radica en el alargamiento del tubo germinal y no en la germinación de conidios. En este sentido, Gatto y cols. 2011 comunicaron que el comportamiento presentado

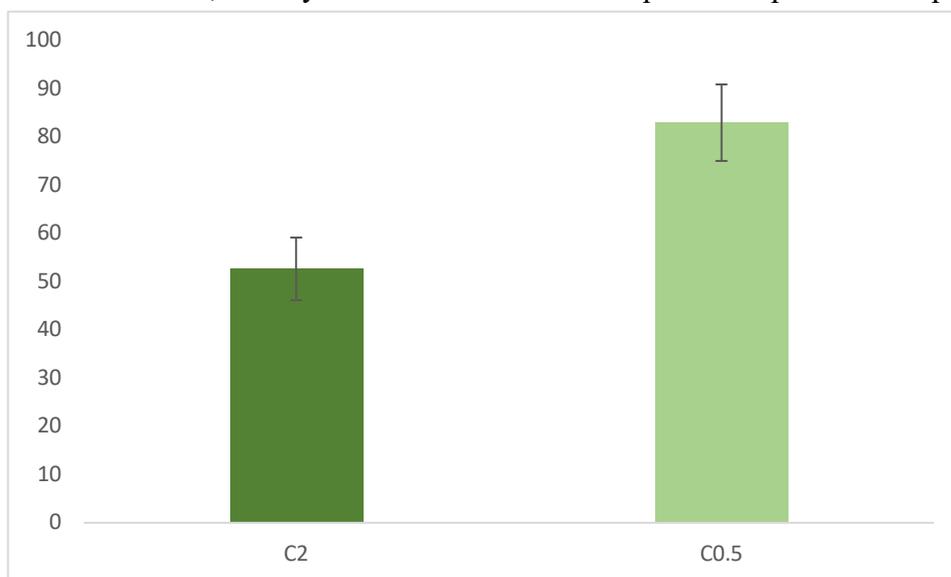


Figura 6.5: Inhibición de la germinación de esporas en *C. gloeosporioides* pasado 10 h del tratamiento con EHJ incorporadas en películas.

podría deberse al aprovechamiento de nutrientes combinado con sustancias fenólicas tóxicas para el patógeno. Asimismo, algunos autores atribuyen la capacidad antifúngica a la presencia del ácido gálico, galato de metilo y probablemente ácido tánico como causantes de retardar la formación de apresorios, actuando sobre la ruta de señalamiento relacionada con el ciclo de la adenil ciclasa (Ahn y cols., 2005; Rodríguez-Maturino y cols., 2015)

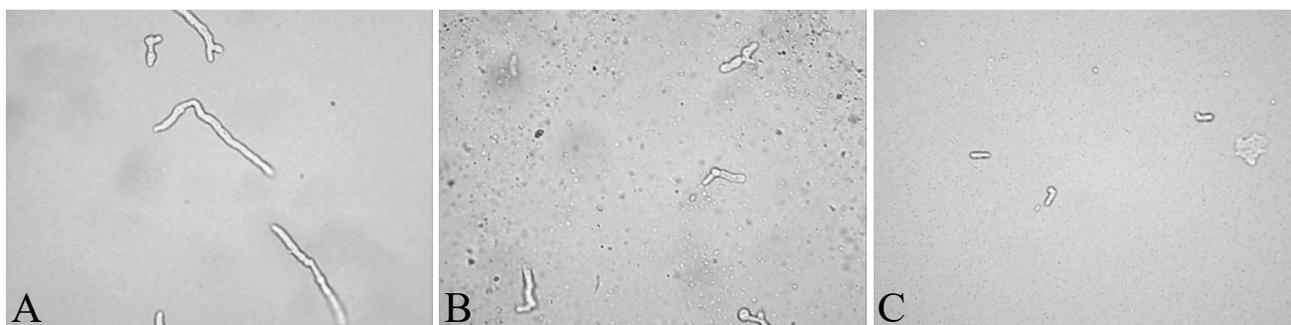


Figura 6.6: Esporas germinadas en control (A), en presencia de EHJ en concentraciones de 2 mg/ml (B) y concentraciones de 0.5 mg/ml (C) después de 10 h. Las muestras se observaron bajo un microscopio óptico con un aumento de 40X.

Diversas investigaciones teorizan sobre fenómeno fúngico parcial efectuado por los extractos de plantas, asegurando que podría ser potenciado en concentraciones bajas de compuestos bioactivos (Castillo y cols., 2012; Mahlo y cols., 2010; Pintos y cols., 2018; Cerqueira y cols., 2016), por lo que, podría explicar la efectividad de la concentración con menor contenido de EHJ. La disminución de la capacidad antifúngica al incremento de concentración de EHJ también puede deberse a de la presencia de impurezas en el extracto liofilizado, las cuales probablemente son fuente de energía del hongo y podrían estimular la germinación de las esporas (Muzzalupo y cols., 2020; Rosengaus y cols., 2000).

## 6.2 Segunda etapa

### 6.2.1 Parámetros fisicoquímicos de mango Kent recubierto con SA con o sin extracto de hoja de jaca (EHJ).

#### 6.2.1.1 Color

La tabla 6.5 muestra el efecto del recubrimiento a base de SA con o sin agentes antifúngicos sobre los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de mango Kent. Los parámetros de luminosidad en los frutos presentaron una reducción gradual a lo largo del período de almacenamiento, perdiendo un mayor porcentaje las muestras control con un valor de 23% de reducción de  $L^*$  después de 9 días, seguidas de los frutos tratados con SA y EHJ, en las cuales se observó una pérdida del 2.5 y 3.7%, respectivamente. La pérdida de luminosidad es consecuencia de la senescencia del fruto, al aplicar un recubrimiento a base de SA en la superficie brinda una capa

ligeramente lustre que retarda su envejecimiento. Por otra parte, la aplicación de EHJ puede llegar a reducir notoriamente la luminosidad, sin embargo, la concentración adicionada no representa un cambio significativo. Estos resultados coincidieron con estudios previos sobre el efecto de los recubrimientos en el aumento de la vida de anaquel de los alimentos. Según (Robles-Sánchez y cols., 2013), la aplicación de alginato de sodio puede tener reducciones del valor de L\* de aproximadamente 4% en mangos precortado. Asimismo, menciona que los valores de L\* pueden ser mejorados con el uso de compuestos bioactivos debido su efecto positivo sobre el pardeamiento de tejidos.

Tabla 6.5: Efecto del extracto de hoja de jaca incorporado a un recubrimiento a base de alginato sobre el color de mango var. Kent durante el almacenamiento a 25°C.

Parámetro de color	Tiempo (días)	Control	SA	SA + 0.5 mg/ml de EHJ
L*	0	51.17±2.52aA	53.31±1.83aA	53.31±.92bA
	3	49.6±3.16aA	52.64±4.28aA	51±3.89aA
	6	45.67±3.77bB	51.74±5.47aA	51.38±2.68aA
	9	42.95±3.47bB	52.19±4.56aA	51.08±4.51aA
a*	0	-15.43aA±.53	-15.73±2.18aA	-14.31±5.53 aA
	3	-15.06±1.93aA	-15.68±3.03aA	-14.26±1.88aA
	6	-11.01±3.95cA	-15.43±3.07aA	-13.94±2.61bA
	9	-6.95±2.52cB	-15.07±3.14aA	-13.89±3.1bA
b*	0	29.06±2.51aA	26.88±2.53abB	31.39±.78aA
	3	33.58±6.98aAB	28.23±3.94aA	31.34±2.64aA
	6	37.51±5.65bB	29.39±4.31aA	32.23±1.83abA
	9	41.44±9.45aB	30.55±5.35abA	33.11±2.45bBA

Luminosidad L\*, a\* (componente +rojo a –verde) (saturación) b\* (componente +amarillo a –azul). Letras diferentes (minúsculas: entre diferentes tratamientos para el mismo tiempo; mayúsculas: entre diferentes tiempos para el mismo tratamiento) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

En cuanto a los valores a\* de los frutos control disminuyen considerablemente durante el almacenamiento, contrario a aquellos frutos tratados con SA y SA+EHJ los cuales la disminución mínima. Los resultados obtenidos se deben a la degradación de la clorofila provocada por una alta actividad metabólica, que conduce a la pérdida del color verde, sin embargo, la aplicación de recubrimientos retarda el intercambio de gases, la frecuencia respiratoria y, en consecuencia, las actividades metabólicas (Chiumarelli y cols., 2011).

El cambio de valores de  $b^*$  son mostrados en la Tabla 6.5 Durante los días de almacenamiento, los frutos tratados con EHJ mostraron un valor  $b^*$  ligeramente menor que los frutos tratados únicamente con SA. Los resultados podrían ser causados por el efecto recirculante del extracto sobre el recubrimiento a base de alginato de sodio. Al final del almacenamiento, el valor de  $b^*$  más alto se observó en el control. La tonalidad amarilla es un indicativo fundamental para determinar el nivel de madurez del fruto, debido a que, durante la maduración ocurren incrementos de  $b^*$  puede ser causado por la oxidación de compuestos fenólicos hasta quinonas mediante enzimas PPO. Estas reacciones bioquímicas provocan a su vez rotura del tejido, así como cambios de textura, sabor y aromas.

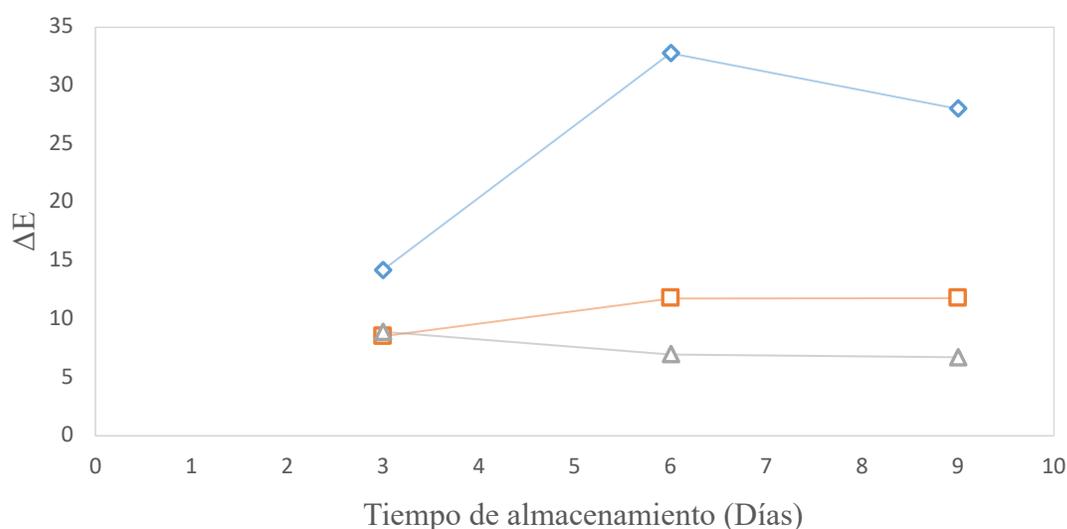


Figura 6.7: Efecto sobre el cambio de color ( $\Delta E$ ) de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. ( —◇— ) Control, ( —□— ) 1.5% SA, ( —△— ) 0.5 mg/ml de EHJ +1.5% SA. Los valores representan la media de las tres repeticiones  $\pm$  DS, letras diferentes indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

Los valores de  $\Delta E$  representados en la Fig. 6.7 son indicativos del efecto provocado por la aplicación del recubrimiento sobre el color del fruto. El cambio de color de las muestras tratadas con SA presenta un ligero incremento en el sexto día, por lo contrario, SA+EHJ disminuyó levemente para permanecer constante. Se logra observar una diferencia notable al comparar los resultados de los tratamientos con el control, ya que, los resultados de  $\Delta E$  incrementan durante el almacenamiento. Probablemente los valores de  $\Delta E$  podrían deberse la aplicación de una atmosfera modificada que controla el intercambio de gases y brinda

protección ante factores ambientales. Las interacciones dadas con el biopolímero y los compuestos presentes en el EHJ podrían dificultar la salida y/o entrada de gases.

### 6.2.1.2 Firmeza

Además del color, la firmeza es un factor importante en la aceptabilidad del mango por parte del consumidor. Como se muestra en la tabla 6.6 la firmeza inicial no presentó diferencias significativas entre el control y los tratamientos, no obstante, se redujo gradualmente durante el almacenamiento. La firmeza de los frutos control representaron los valores bajos, disminuyendo a 11.5 N, a comparación de los frutos tratados con recubrimientos a base de SA y adicionados de EHJ que obtuvieron 17.3 y 18 N, respectivamente, mostrando una firmeza significativamente mayor en comparación con las muestras control. Los cambios en la estructura de las paredes celulares se deben a la acción de enzimas degradativas como poligalacturonasa, celulasa y pectinmetilesterasa, que determinan la firmeza de los frutos. Un método para retardar estos procesos de respiración es el uso de recubrimientos a base de SA, ya que, disminuyen la hidrólisis de carbohidratos estructurales y la pérdida de agua (Cuvil y cols., 2016). Estas propiedades se ven mejoradas con el uso de bioactivos que logran formar interacciones débiles que disminuyen el intercambio de gases y vapor de agua entre el fruto y el ambiente. Y obteniendo como consecuencia un decremento en la actividad enzimática, provocado por un lento consumo de oxígeno y en una baja producción de etileno.

Tabla 6.6. Cambios de firmeza en mangos almacenados tras exponerlos a los tratamientos SA y EHJ-SA.

Tratamiento	Tiempo (días)	
	0	9
Control	24.1±1.16a	11.5±3.56b
SA	24.5±2.34a	17.5±3.89a
EHJ	24.9725±2.54a	18±3.23a

Letras minúsculas diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

En la investigación a cargo de Zhang y cols., 2016 obtuvieron mayor firmeza en frutos de azufaifa recubiertas con películas incorporadas con polifenoles de té en comparación de las muestras control, sin diferencias significativas según la base del recubrimiento, relacionando el efecto a la reducción de la difusión de gases causado por la reticulación entre los

compuestos fenólicos y la película; obteniendo como consecuencia una baja tasa de respiración y la actividad de la amilasa.

### 6.2.1.3 Pérdida de peso

En la Fig. 6.8 se muestra la pérdida de peso de los mangos, la cual presentó un incremento independientemente del tratamiento a lo largo de 9 días de almacenamiento. La pérdida de peso registrada por parte de los tratamientos SA y EHJ no mostraron diferencia significativa entre sí, respecto al control que registró la mayor reducción de peso (17%). Según Rastegar y Atrash, (2020), el resultado se relaciona con decremento de la transpiración e intercambio de gases provocado por la formación de una barrera adicional en la superficie de los frutos.

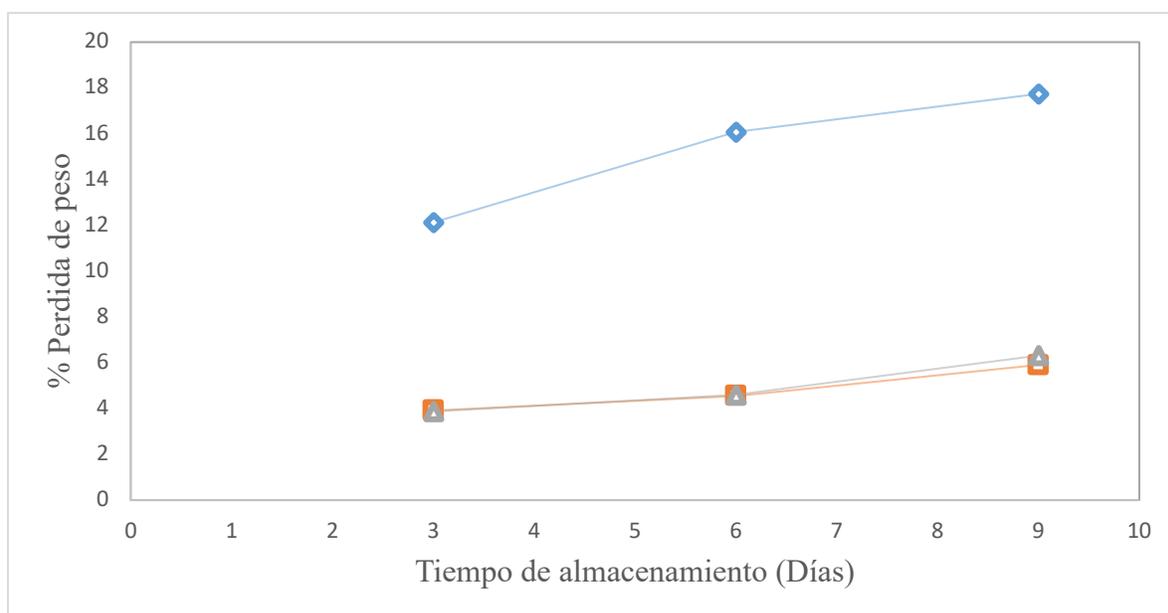


Figura 6.8: Pérdida de peso de mango var. Kent recubierto SA-EHJ durante 9 días a 25 °C. ( —◇— ) Control, ( —□— ) 1.5% SA, ( —△— ) 0.5 mg/ml de EHJ + 1.5% SA

Además de demostrar en su estudio una reducción de peso control del 5.1% significativamente mayor a los frutos con tratamiento. Ribeiro y col. (2007) reportaron que los recubrimientos aplicados en fresas reducen en gran medida la pérdida de peso. Por su parte, Fan y cols., (2019) mencionan que los principales factores que acortan la vida útil de la fruta de goji son la deshidratación y el deterioro microbiano.

### 6.2.2 Actividad antifúngica de recubrimientos SA-EHJ sobre antracnosis en mango var. Kent

Las muestras recubiertas y no recubiertas analizadas durante un período de 9 días de almacenamiento se presentan en la Fig. 6.9. Los datos mostrados en la gráfica exponen mayor efectividad en aquellos tratamientos aplicados preventivamente sobre aquellos aplicados curativamente, concordando con lo reportado por (González-Estrada y cols., 2017). La severidad de las muestras sin tratamiento alcanzó un valor mayor a 3 cm, seguidas de las muestras recubiertas únicamente con SA con 0.94 cm, por el contrario, los mejores resultados fueron presentados por los frutos tratados con SA-EHJ con 0.5 cm. En nuestro estudio, la efectividad para controlar el desarrollo del hongo presente en los mangos recubiertos parece estar relacionada con múltiples mecanismos de acción efectuados por los diferentes compuestos fenólicos que posee el extracto, incluido el efecto sinérgico que podrían tener entre los mismos, tal y como lo menciona Gómez-Maldonado y cols., (2020) en su estudio sobre el efecto antifúngico de polifenoles de té frente a antracnosis.

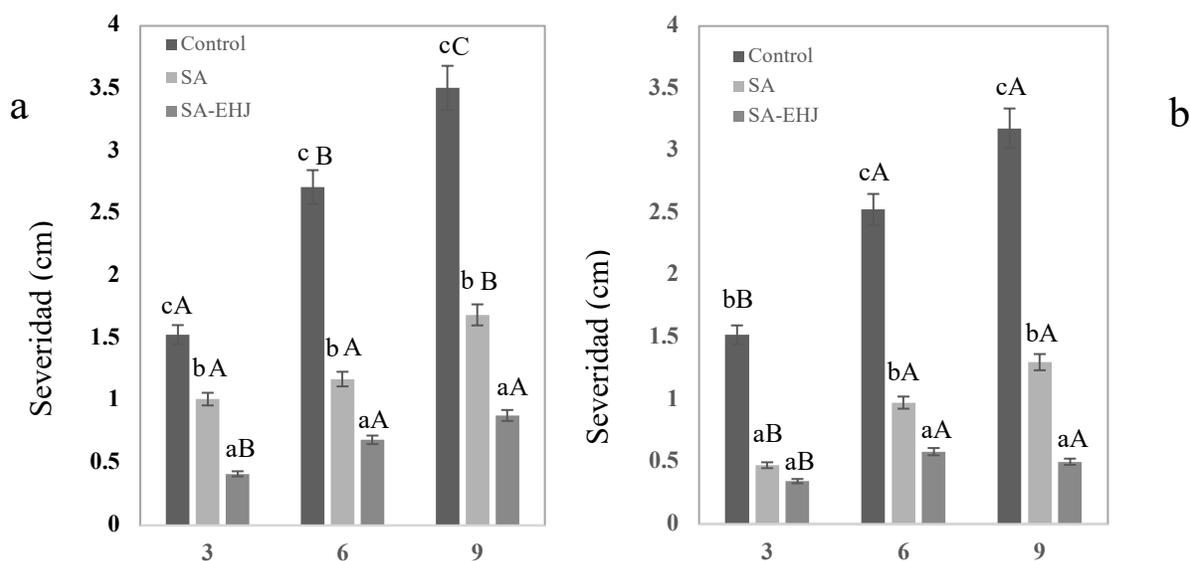


Figura 6.9: Severidad de *C. gloeosporioides* en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 ° C. Actividad curativa (a) y preventiva (b). Letras diferentes (minúsculas: entre diferentes tratamientos para el mismo tiempo; mayúsculas: entre diferentes tiempos para el mismo tratamiento) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Por otro lado, Nair y cols. (2018) menciona que la actividad antifúngica del extracto de cascara de granada frente a *C. gloeosporioides* se debe a la presencia de una amplia gama de compuestos bioactivos, principalmente fenólicos, que ocasionan muerte celular desencadenada por reacciones entre grupos sulfhídrico y proteínas. Entre los compuestos Nguyen y cols., (2020) señalan que la actividad antifúngica como antibacteriana depende principalmente de la presencia de flavonoides, mencionando específicamente a luteolina y el 7- $\beta$ -glucósido de luteolina. Por su parte Vázquez-González y cols. (2020) identifico ácido 3,5-dicafeoilquínico y el éster de 1-soleucina-pentafluoropropiónico-pentadecilo en un extracto etanólico de hoja de jaca; atribuyendo el efecto antifúngico frente *C. gloeosporioides* principalmente a los compuestos anteriormente mencionados.

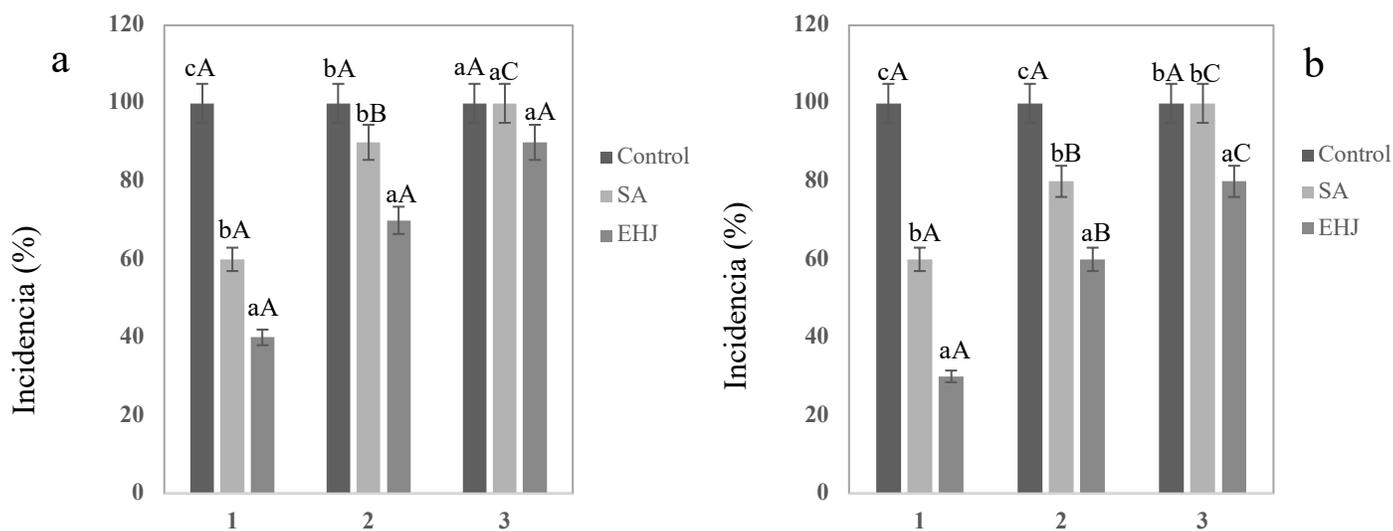


Figura 6.10: Porcentaje de incidencia de *C. gloeosporioides* en mango var. Kent mediante la aplicación de EHJ incorporados en recubrimientos a base de SA almacenados durante 9 días a 25 ° C. Actividad curativa (a) y preventiva (b). Letras diferentes (minúsculas: entre diferentes tratamientos para el mismo tiempo; mayúsculas: entre diferentes tiempos para el mismo tratamiento) indican diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ).

Además de los mecanismos anteriormente mencionados, Riaz y cols. (2012) informan de manera general el efecto de los compuestos fenólicos sobre los microorganismos, estas sustancias pueden desequilibrar la permeabilidad de las membranas bacterianas, inhibir la transcripción de genes e inducir la pérdida de integridad de las membranas bacterianas desencadenados cambios fisiológicos.

Los efectos de los tratamientos SA y SA+EHJ sobre la descomposición fúngica de mangos inoculados durante el almacenamiento a 25 ° C se presentan en las Fig. 6.10. Al tercer día de almacenamiento, los mangos recubiertos con una concentración de 0.5 mg/ml de EHJ mostraron un menor porcentaje de frutos infectados en comparación con el tratamiento SA. El recubrimiento únicamente de SA podría disminuir la disponibilidad de oxígeno para las actividades metabólicas del patógeno, disminuyendo como consecuencia su crecimiento. Después de 9 días de almacenamiento, el 100% de mangos sin recubrir y recubiertas con SA fueron infectadas, sin embargo se observó un retraso significativo ( $p < 0.05$ ) en la tasa de deterioro fúngica en frutos recubiertos con SA+EHJ. Al final del tiempo de almacenamiento, los recubrimientos adicionales con extracto fueron efectivos para proteger las heridas, mostrando un 80% de frutos infectados, de lo contrario los otros tratamientos mostraron un 100%.

## **CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES**

## 7. CONCLUSIONES

La incorporación del extracto etanólico liofilizado de hojas de jaca obtenido por extracción asistida por altas presiones hidrostáticas mejora de la solubilidad y WVP de la película comestible a base de alginato de sodio.

Las películas bioactivas reducen mínimamente la luminosidad, sin afectar de manera drástica los valores de  $a^*$  y  $b^*$ .

El control de intercambio de gases, pérdida de peso y firmeza es mejorada en frutos de mango recubiertos con SA-EHJ.

EHJ a una concentración de 0.5 mg/ml fue presenta una actividad antifúngica frente a *C. gloeosporioides* en pruebas *in vitro* e *in vivo*.

Los resultados proporcionan una alternativa al control de antracnosis del mango variedad Kent postcosecha, mediante el uso de residuos agrícolas capaces de formar productos con alcance a aplicaciones en la industria alimentaria.

## **CAPÍTULO 8. BIBLIOGRAFÍA**

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Ahn, Y. J., Lee, H. S., Oh, H. S., Kim, H. T., & Lee, Y. H. (2005). Antifungal activity and mode of action of *Galla rhois*-derived phenolics against phytopathogenic fungi. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 81(2), 105–112. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2004.10.003>
- Aloui, H., Deshmukh, A. R., Khomlaem, C., & Kim, B. S. (2020). Novel composite films based on sodium alginate and gallnut extract with enhanced antioxidant, antimicrobial, barrier and mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 106508. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106508>
- Aloui, H., Khwaldia, K., Sánchez-González, L., Muneret, L., Jeandel, C., Hamdi, M., & Desobry, S. (2014). Alginate coatings containing grapefruit essential oil or grapefruit seed extract for grapes preservation. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(4), 952–959. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12387>
- Andrade Cuvi, M. J., Moreno Guerrero, C., Bravo Vasquez, J., Guijarro Fuertes, M., Monar Bosquez, V. M., Cevallos Navarrete, C., & Concellón, A. (2016). Efecto del estado de madurez sobre la calidad de tres variedades de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 17, n.
- Andrés, V. (2016). *Y La Calidad Nutricional, Sensorial*. Departamento de Nutrición y Bromatología II. Bromatología.
- Augusto, A., Dias, J. R., Campos, M. J., Alves, N. M., Pedrosa, R., & Silva, S. F. J. (2018). Influence of *Codium tomentosum* extract in the properties of alginate and chitosan edible films. *Foods*, 7(4), 1–13. <https://doi.org/10.3390/foods7040053>
- Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H. M., Tan, C. P., & Mohd Adzahan, N. (2014). Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 88, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.004>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant

materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>

Bährle-Rapp, M. (2007). *Arctostaphylos uva-ursi*. Springer Lexikon Kosmetik Und Körperpflege, 44–44. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0\\_779](https://doi.org/10.1007/978-3-540-71095-0_779)

Barkai-Golan, R. (2001). Postharvest Disease Initiation. *Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables*, 3–24. <https://doi.org/10.1016/b978-044450584-2/50002-2>

Basha, N. S., Rekha, R., Letensie, A., & Mensura, S. (2011). Preliminary Investigation on Sodium Alginate Extracted from *Sargassum Subrepandum* of Red Sea of Eritrea as Tablet Binder. *Journal of Scientific Research*, 3(3), 609–618. <https://doi.org/10.3329/jsr.v3i3.6770>

Bautista-Baños, S., Hernández-Lauzardo, A. N., Velázquez-Del Valle, M. G., Hernández-López, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108–118. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.010>

Castillo, F., Hernandez, D., Gallegos, G., Rodriguez, R., & N., C. (2012). Antifungal Properties of Bioactive Compounds from Plants. *Fungicides for Plant and Animal Diseases*. <https://doi.org/10.5772/26598>

Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>

Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., & Hubinger, M. D. (2011). Fresh cut Tommy Atkins mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(3), 381–387. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.02.006>

Daoudi, L. (2006). Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre el gazpacho y zumo de uva. C.E.R. planta de tecnologia dels aliments. Retrieved from <http://www.tdx.cat/handle/10803/5662>

Díaz-Mula, H. M., Serrano, M., & Valero, D. (2012). Alginate Coatings Preserve Fruit Quality and Bioactive Compounds during Storage of Sweet Cherry Fruit. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 2990–2997. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0599-2>

Díaz, L. (2017). Compuestos bioactivos en cereales y su implicación en la salud. Retrieved from [http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/laura diaz de la calle.pdf](http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/laura%20diaz%20de%20la%20calle.pdf)

Espitia, P. J. P., Du, W. X., Avena-Bustillos, R. de J., Soares, N. de F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocolloids*, 35, 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.005>

Fakhouri, F. M., Martelli, S. M., Caon, T., Velasco, J. I., & Mei, L. H. I. (2015). Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.015>

Fan, X. J., Zhang, B., Yan, H., Feng, J. T., Ma, Z. Q., & Zhang, X. (2019). Effect of lotus leaf extract incorporated composite coating on the postharvest quality of fresh goji (*Lycium barbarum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 148(June 2018), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.020>

Flor Peregrín, M. E. (2013). Uso de agentes de control y protección biológica frente a nemátodos del género *Meloidogyne* en cultivos protegidos bajo plástico. Retrieved from <http://digibug.ugr.es/handle/10481/29519%5Cnhttp://digibug.ugr.es/bitstream/10481/29519/1/21862369.pdf>

Flores Bazauri, W. (2016). Control biológico in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis frente a *Clonostachys rosea*, *Fusarium oxysporum* y *Trichoderma harzianum*.

Gao, C., Pollet, E., & Avérous, L. (2017). Properties of glycerol-plasticized alginate films obtained by thermo-mechanical mixing. *Food Hydrocolloids*, 63, 414–420. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.023>

Gómez-García, M. del R., & Ochoa-Alejo, N. (2013). Biochemistry and molecular Biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum* spp.). *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9), 19025–19053. <https://doi.org/10.3390/ijms140919025>

Gómez-Maldonado, D., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Leyva-Mir, S. G., Robles-Yerena, L., & Vernon-Carter, E. J. (2020). Antifungal activity of mango kernel polyphenols on mango fruit infected by anthracnose. *Lwt*, 126(March), 109337. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109337>

González-Estrada, R. R., Carvajal-Millán, E., Ragazzo-Sánchez, J. A., Bautista-Rosales, P. U., & Calderón-Santoyo, M. (2017). Control of blue mold decay on Persian lime: Application of covalently cross-linked arabinoxylans bioactive coatings with antagonistic yeast entrapped. *LWT - Food Science and Technology*, 85, 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.019>

Gutiérrez, E. D. (2014). Tesis Maestro en Ciencias. Uso, Manejo y Preservación de Los Recursos Naturales Presenta (Orientación En Agricultura Sustentable).

Iñiguez-Moreno, M., Ragazzo-Sánchez, J. A., Barros-Castillo, J. C., Sandoval-Contreras, T., & Calderón-Santoyo, M. (2020). Sodium alginate coatings added with *Meyerozyma caribbica*: Postharvest biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass). *Postharvest Biology and Technology*, 163(January), 111123. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111123>

Jurado, I. G., & Moraga, E. Q. (2012). Tesis doctoral Control biológico de estados edáficos de tefrítidos ( *Diptera* : *Tephritidae* ) mediante tratamientos de suelo con ascomicetos mitospóricos entomopatógenos ( *Ascomycota* : *Hypocreales* ).

Kefialew, Y., & Ayalew, A. (2008). Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 8–11. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.03.007>

Kowalczyk, D., & Baraniak, B. (2011). Effects of plasticizers, pH and heating of film-forming solution on the properties of pea protein isolate films. *Journal of Food Engineering*, 105(2), 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.02.037>

Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., ... Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9 SUPPL. 2), 71–88. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00995-0)

López-Hernández, L. H., Calderón-Oliver, M., Soriano-Santos, J., Severiano-Pérez, P., Escalona-Buendía, H. B., & Ponce-Alquicira, E. (2018). Development and antioxidant stability of edible films supplemented with a tamarind seed extract. *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, 17(3), 975–987. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2018v17n3/Lopez>

Luo, Y., Liu, H., Yang, S., Zeng, J., & Wu, Z. (2019). Sodium alginate-based green packaging films functionalized by guava leaf extracts and their bioactivities. *Materials*, 12(18). <https://doi.org/10.3390/ma12182923>

Mahlo, S. M., McGaw, L. J., & Eloff, J. N. (2010). Antifungal activity of leaf extracts from South African trees against plant pathogens. *Crop Protection*, 29(12), 1529–1533. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.08.015>

Martín Gordo, D. A. (2018). Los Compuestos Fenólicos, Un Acercamiento A Su Biosíntesis, Síntesis Y Actividad Biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1), 81–104. <https://doi.org/10.22490/21456453.1968>

Martínez-Navarrete, N., del Mar Camacho Vidal, M., & José Martínez Lahuerta, J. (2008). The bioactive compounds of fruits and their effects on health. *Actividad Dietetica*, 12(2), 64–68. [https://doi.org/10.1016/S1138-0322\(08\)75623-2](https://doi.org/10.1016/S1138-0322(08)75623-2)

Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N., & Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances*, 29(3), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.01.008>

Méndez Reyes, D. A., Quintero Ceró, J. P., Vaquiro Herrera, H. A., & Solanilla Dique, J. F. (2015). Revisión Alginato de sodio en el desarrollo de películas comestibles Sodium alginate in the development of edible films. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 5(2), 89–113. Retrieved from <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495547761.pdf>

Montalvo, C., López Malo, A., & Palou, E. (2012). Películas comestibles de proteína : características , propiedades y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 2, 32–46.

Muzzalupo, I., Badolati, G., Chiappetta, A., Picci, N., & Muzzalupo, R. (2020). In vitro Antifungal Activity of Olive (*Olea europaea*) Leaf Extracts Loaded in Chitosan Nanoparticles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8(March), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00151>

Nguyen, T. T., Thi Dao, U. T., Thi Bui, Q. P., Bach, G. L., Ha Thuc, C. N., & Ha Thuc, H. (2020). Enhanced antimicrobial activities and physiochemical properties of edible film based on chitosan incorporated with *Sonneratia caseolaris* (L.) Engl. leaf extract. *Progress in Organic Coatings*, 140(March), 105487. <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105487>

Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), 21–32. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00274.x>

Paul, S. K. (2020). Edible Films and Coatings for Fruits and Vegetables. In *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.11509-7>

Pawar, S. N., & Edgar, K. J. (2012). Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*, 33(11), 3279–3305. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.007>

Pintos, B., Martín-Calvarro, L., Piñón, D., Esteban, A., Tello, M. L., Pérez-Urria, E., & Gómez-Garay, A. (2018). Antifungal effects of phenolic extract from industrial residues of *Aloe vera*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(4). <https://doi.org/10.5424/sjar/2018164-12480>

Quirós-Sauceda, A. E., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., & González-Aguilar, G. A. (2014). Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 1674–1685. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1246-x>

x

Raeisi, M., Tabaraei, A., Hashemi, M., & Behnampour, N. (2016). Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, *Cinnamomum zeylanicum*, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 139–145. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.042>

Rastegar, S., & Atrash, S. (2020). Effect of alginate coating incorporated with *Spirulina*, *Aloe vera* and guar gum on physicochemical, respiration rate and color changes of mango fruits during cold storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, (0123456789). <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00635-6>

Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., Verde-Star, M. J., García-Hernández, D. G., Rivas-Morales, C., & Leos-Rivas, C. (2016). Actividad antifúngica. *Investigación En Plantas de Importancia Médica*, (April), 101–128. <https://doi.org/10.3926/oms.314>

Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., & Martín-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.021>

Rodríguez-Maturino, A., Troncoso-Rojas, R., Sánchez-Estrada, A., González-Mendoza, D., Ruiz-Sánchez, E., Zamora-Bustillos, R., ... Aviles-Marin, M. (2015). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(1), 72–77. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2014.12.005>

Romero, G. C. A., Malo, a L., & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 1, 87–96.

Rosengaus, R. B., Lefebvre, M. L., & Traniello, J. F. A. (2000). Inhibition of fungal spore germination by *Nasutitermes*: Evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. *Journal of Chemical Ecology*, 26(1), 21–39. <https://doi.org/10.1023/A:1005481209579>

Ruan, C., Zhang, Y., Wang, J., Sun, Y., Gao, X., Xiong, G., & Liang, J. (2019). Preparation and antioxidant activity of sodium alginate and carboxymethyl cellulose edible films with epigallocatechin gallate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 134, 1038–1044. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.143>

Sales, M. D. C., Costa, H. B., Fernandes, P. M. B., Ventura, J. A., & Meira, D. D. (2016). Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.09.026>

Sarkar, A. K. (2016). Anthracnose diseases of some common medicinally important fruit plants. *Journal of Medicinal Plants*, 4(3), 233–236. Retrieved from [https://scholar.google.nl/citations?view\\_op=view\\_citation&continue=/scholar%3Fhl%3Den%26start%3D106%26as\\_sdt%3D0,5%26scilib%3D1&citilm=1&citation\\_for\\_view=zR2UmAkAAAAJ:qxL8FJ1GzNcC&hl=en&oi=p](https://scholar.google.nl/citations?view_op=view_citation&continue=/scholar%3Fhl%3Den%26start%3D106%26as_sdt%3D0,5%26scilib%3D1&citilm=1&citation_for_view=zR2UmAkAAAAJ:qxL8FJ1GzNcC&hl=en&oi=p)

SHAO, Y. zhi, ZENG, J. ke, TANG, H., ZHOU, Y., & LI, W. (2019). The chemical treatments combined with antagonistic yeast control anthracnose and maintain the quality of postharvest mango fruit. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(5), 1159–1169. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62128-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62128-8)

Sharma, M., & Kulshrestha, S. (2015). *Colletotrichum gloeosporioides*: An Anthracnose Causing Pathogen of Fruits and Vegetables. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 1233–1246. <https://doi.org/10.13005/bbra/1776>

Song, Y., Liu, L., Shen, H., You, J., & Luo, Y. (2011). Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control*, 22(3–4), 608–615. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.10.012>

Tabassum, N., & Khan, M. A. (2020). Modified atmosphere packaging of fresh-cut papaya using alginate based edible coating: Quality evaluation and shelf life study. *Scientia Horticulturae*, Vol. 259. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108853>

Tapia, A. (2018). Distribución espacial de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en el estado de México. maestría en ciencias agropecuarias y recursos naturales.

Uthaya Kumar, U. S., Paridah, M. T., Owolabi, F. A. T., Gopakumar, D. A., Rizal, S., Amirul, A. A., ... Khalil, H. P. S. A. (2019). Neem leaves extract based seaweed bio-degradable composite films with excellent antimicrobial activity for sustainable packaging material. *BioResources*, 14(1), 700–713. <https://doi.org/10.15376/biores.14.1.700-713>

Valencia-sullca, C. (2015). Universitat politècnica de valència Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agronòmica i del Medi natural encapsulació en liposomas de aceites esenciales para mejorar su retención en films de quitosano.

Vázquez-González, Y., Ragazzo-Sánchez, J. A., & Calderón-Santoyo, M. (2020). Characterization and antifungal activity of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) leaf extract obtained using conventional and emerging technologies. *Food Chemistry*, 330(December 2019), 127211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127211>

Vázquez, J. (2013). Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre la estructura y estabilidad de tejidos vegetales. relación con la extractabilidad de compuestos bioactivos.

Vieira, M. G. A., Da Silva, M. A., Dos Santos, L. O., & Beppu, M. M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47(3), 254–263. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011>

Xu, L., Zhang, B., Qin, Y., Li, F., Yang, S., Lu, P., ... Fan, J. (2020). Preparation and characterization of antifungal coating films composed of sodium alginate and cyclolipopeptides produced by *Bacillus subtilis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.051>

Xu, X., Lei, H., Ma, X., Lai, T., Song, H., Shi, X., & Li, J. (2017). Antifungal activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP) against anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in postharvest mango fruit and its possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.002>

Yousuf, B., & Qadri, O. S. (2020). Preservation of fresh-cut fruits and vegetables by edible coatings. In *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816184-5.00011-2>

Zequera, M., Molar, A., Ruiz, D. G., Fentanes, G., Carrillo-fasio, J. A., García-estrada, R. S., ... Chamilpa, C. (2005). Control biológico de antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc.] y su efecto en la calidad poscosecha del mango (*Mangifera indica* L.) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23(1), 24–32.

Zhang, L., Li, S., Dong, Y., Zhi, H., & Zong, W. (2016). Tea polyphenols incorporated into alginate-based edible coating for quality maintenance of Chinese winter jujube under ambient temperature. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.046>