

Recubrimientos y películas comestibles a base de quitosano con aceite esencial de *Cymbopogon citratus* aplicados en guayava (*Psidium guajava* L.)

VÁZQUEZ-BRIONES, María del Carmen*†, GUERRERO-BELTRAN, José Ángel, OCHOA-VELAZCO, Carlos Enrique y MATA-GARCÍA, Moisés

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés, Cholula, Puebla. C.P. 72810.México.

Recibido 2 de Enero, 2015; Aceptado 26 de Marzo, 2015

Resumen

En este trabajo fueron caracterizadas soluciones y películas de quitosano con aceite esencial de *Cymbopogon citratus* para posteriormente ser incorporadas en guayaba cortada a la mitad para consumo. La solución de recubrimiento de quitosano presentó un pH de 5.92 ± 0.03 y la solución de quitosano con aceite esencial obtuvo valores más bajos de 5.64 ± 0.01 . Se mostró un incremento en los valores de L^* al incrementar la concentración de quitosano en las soluciones de recubrimiento. Los valores de b^* ascendieron de -3.80 ± 0.08 a 0.62 ± 2.7 al incrementar la concentración de quitosano de 1 a 2%. La solución de recubrimiento de quitosano presentó un fluido Newtoniano. En películas de quitosano fueron evaluadas concentraciones de 0, 0.05, 0.1 y 0.25 del AE sobre propiedades físicas y mecánicas presentando un incremento en los valores de espesor, en el parámetro b^* indicando una inclinación hacia el color amarillo y resistencia a la tracción. Mostrando una disminución los valores de humedad, solubilidad, permeabilidad al vapor de agua y elongación en las películas de quitosano al adicionar AE. Se observó un efecto inhibitorio significativo ($p < 0.05$) sobre *Escherichia coli* y *Sacharomyces rouxii* al incrementar la concentración del AE. A partir del día 3 se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) en los valores de SST en el testigo y la fruta recubierta con quitosano y AE.

Quitosano, guayaba, aceite esencial, recubrimientos, películas comestibles, *Cymbopogon citratus*.

Abstract

In this work were characterized chitosan solutions and films with essential oil of *Cymbopogon citratus* later be incorporated into halved guava consumer. The coating solution of chitosan showed a pH of 5.92 ± 0.03 and the chitosan solution with essential oil obtained lower values of 5.64 ± 0.01 , an increase was shown in the values of L^* to increase the concentration of chitosan solutions coating. B^* values of $-3.80 \pm$ rose from 0.08 to 0.62 ± 2.7 with increasing chitosan concentration of 1 to 2%. The coating solution of chitosan provided a Newtonian fluid. In chitosan films were evaluated concentrations of 0, 0.05, 0.25 AE 01 and on physical and mechanical properties showing an increase in the thickness values in the b^* parameter indicating an inclination toward yellow and tensile strength. Showing a decrease humidity values, solubility, water vapor permeability and elongation in films of chitosan by adding AE.

Chitosan, guava, essential oil, coatings, edible films, *Cymbopogon citratus*.

Citación: VÁZQUEZ-BRIONES, María del Carmen, GUERRERO-BELTRAN, José Ángel, OCHOA-VELAZCO, Carlos Enrique y MATA-GARCÍA, Moisés. Recubrimientos y películas comestibles a base de quitosano con aceite esencial de *Cymbopogon citratus* aplicados en guayava (*Psidium guajava* L.). Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias 2015, 2-2:120-135

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: vazbri20@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El nombre común en México de *Cymbopogon citratus* es té limón, es una hierba tropical perenne, es resistente a diferentes temperaturas, crece en climas cálidos, semicálidos y templados, mide de 60 a 120 cm de altura, sus hojas son verdes y largas como listones y despiden un agradable aroma y sabor, ésta hierba es nativa de la India (Shah et al., 2011). Debido a su agradable olor en México es consumido como té solo o con leche, ya que el consumo de hierbas aromáticas es una costumbre en la población (Juárez-Rosete y et al., 2013). El aceite esencial (AE) de *Cymbopogon citratus*, ha mostrado tener un efecto anti-inflamatorio, analgésico y antipirético (Gbenou et al., 2013), además de presentar efectos antimicrobianos (Adukwu, Allen y Phillips, 2012). El componente principal del AE de *Cymbopogon citratus* es el citral una mezcla de aldehídos (geranial y neral) (Figura 1).

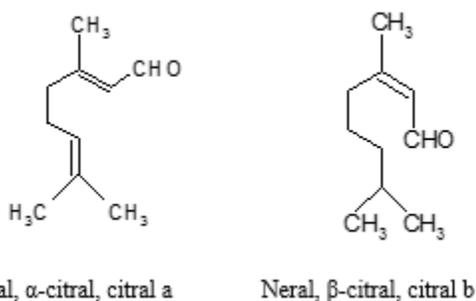


Figura 1 Estructura química del geranial y neral.

Por otra parte el quitosano es una forma N-acetilada de la quitina (Duan, Jiang y Zhao, 2011). Es el segundo polímero natural más abundante en el mundo (Shahidi, Arachchi y Jeon, 1999), se obtiene de las conchas de los cangrejos, camarones, insectos y algunos hongos. Se compone principalmente de un polímero de beta (1-4) -2 amino-unidades de 2-desoxi-D-glucosa.

Actualmente, el quitosano es un biopolímero que juega un papel importante en la economía mundial, ya que es biocompatible, biodegradable, comestible y antimicrobiano (Martelli et al., 2013). Así mismo, tiene la propiedad de formar películas que son utilizadas en la preservación de alimentos (De Moura, Lorevice, Mattoso y Zucolotto, 2011). Diversos estudios han demostrado que los AE proporcionan un efecto positivo en las propiedades mecánicas y permeabilidad al vapor de agua en películas comestibles; Cháfer, Sánchez-González, González-Martínez y Chiralt, 2012; Krkic et al., 2012). Sin embargo aun existe poca información (Peng, Yin y Li, 2013) al ser adicionados en películas de quitosano. Este efecto podría ser limitado debido a la alta volatilidad de los AE (López-Mata et al., 2013). Por lo que el propósito del presente trabajo fue caracterizar recubrimientos y películas a base de quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus* mediante parámetros fisicoquímicos, así como la aplicación del recubrimiento en guayaba cortada lista para consumo.

Materiales y métodos

El *Cymbopogon citratus* fue adquirido de la central de abasto de la Ciudad de Puebla. El quitosano, grado comercial, desacetilación mayor al 80% y material insoluble menor al 0.5%, glicerol y ácido acético fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, St. Louis, E.U.

Solución formadora de películas

Glicerol (g)	Ác. Acético (mL)	H ₂ O destilada (mL)	Quitosano (g)
0.5	1	97.5	1

Tabla 1 Solución de quitosano 100 mL.

Se calentó la solución de ácido acético con glicerol a 70°C (cantidad mostrada en la tabla 1), se retiró de la parrilla y se adicionó lentamente el quitosano, agitando constantemente.

Una vez disperso el quitosano se filtró (con gasas) y se adiciona el glicerol. El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* se dispersó en 0.1% de tween 20 (v/v) y se adicionó a la solución para alcanzar concentraciones de 0.05, 0.1 y 0.25%, se homogenizo a 10000 RPM durante 10 min, con un homogenizador ULTRA TURRAX® IKA® T18 basic (Laboratory Equipment, E.U) y posteriormente se eliminaron burbujas colocando la solución al vacío. Para evaluar el recubrimiento en guayaba cortada, la solución de quitosano fue esterilizada y el AE fue adicionado a temperatura ambiente previamente filtrado con membrana de tamaño de poro de 0.45 µm y diámetro de 25 mm (para una concentración de 400 ppm) (Tabla 1).

Caracterización del recubrimiento

pH: Se determinó por el método 32.016 de la AOAC (2000), de forma directa sumergiendo el electrodo del potenciómetro ORION, modelo 420A (EE.UU) en el recubrimiento comestible y en pulpa obtenida de la fruta.

Color: El color fué medido usando un colorímetro (Colorgard 05, Gardner Laboratory, E.U), el colorímetro se calibró utilizando una placa blanca estándar ($L^* = 93.49$, $a^* = -0.25$, $b^* = 0.09$). Las mediciones de color se realizaron mediante la colocación de las muestras de película sobre una placa blanca con al menos tres puntos de cada muestra seleccionada al azar. También se calculó el ángulo de Hue fue calculado.

Capacidad antioxidante del recubrimiento: El método utilizado para determinar la capacidad antioxidante de la solución de recubrimiento fue adaptado por Brand-Williams, Cuvelier, y Berset (1995) con algunas modificaciones.

La solución de iones se preparó con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (Sigma-Aldrich Química, Toluca, Edomex. México), 3,94 mg se disolvieron en 100 ml de etanol. Ciento cincuenta µL de solución de recubrimiento se añadió con 1850 µL de etanol. La muestra diluida se mezcló con 2 mL de DPPH, para llevar a un volumen total de 4 mL. La mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad durante 30 minutos. La absorbancia de las muestras (As) se registró a 517 nm en un espectrofotómetro UNICO® 2800H UV-visible (Shanghai, China). Fue usado etanol como blanco (Ab), se calculó la capacidad antioxidante (AC).

La capacidad antioxidante se expresó en mg de Trolox por mL de solución de recubrimiento: Para preparar la curva de calibración de una solución estándar de Trolox ((±) -6-hidroxi-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxílico, 97%) se preparó, 3,5 mg se disolvieron en 10 ml de etanol, ocho tubos se utilizaron para obtener una gama de concentración de 0 a 80 µL (0,35 mg ml⁻¹) de Trolox. La concentración de compuestos fenólicos se calcula a partir de una curva estándar de Trolox (0-0,028 mg) como estándar: $I (\%) = (2699,2 / \text{mg}) * [\text{mg}] - 4,3749$ ($R^2 = 0,989$).

Reología: La medición de la solución del recubrimiento se realizó en un viscosímetro a una velocidad de 10-100 rpm a $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Se utilizó un Viscosímetro Brookfield (Modelo DV-III, Stoughton, MA. 02072 E.U). Aguja LV-3, con una longitud de 4.99 cm y un diámetro de 1.26 cm. Se calculó el esfuerzo cortante (τ) y la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$). Formación de películas: Las películas fueron formadas mediante la técnica de colado utilizada por Eum et al. (2009).

Espesor: El espesor de las películas fue medido con un micrómetro de mano (Mitutoyo No. 2412F, Illinois, E.U.) con una resolución de 0.001 in.

Contenido de humedad: El contenido de humedad en las películas fue determinado acorde al método 934.06 de la AOAC (2000), secando las muestras a una temperatura de 70°C a 18 inHg hasta peso constante.

Solubilidad: Un método modificado de Andreuccetti et al. (2011) se utilizó para medir la solubilidad de la película, se cortaron pedazos de película (2 x 2 cm) se secaron a 70 °C a 18 inHg durante 24 h.

Propiedades mecánicas: Las propiedades de tracción se determinaron utilizando un texturometro modelo TA-TX2 (Texture Technologies Corp., E.U), de acuerdo al método de Leerahawong, Tanaka, Okazaki y Osako, 2011, con algunas modificaciones. Las películas fueron cortadas en cuadros de 9 x 9 cm para obtener los parámetros de resistencia a la tracción, se utilizaron celdas de plástico circulares de 3.9 cm de diámetro para mantener fijas y extendidas la películas. Se utilizaron tiras de 6 x 1 cm para determinar el porcentaje de elongación a la rotura. Para la medición de los parámetros antes descritos se utilizó una celda de carga de 25 kg, una sonda cilíndrica con 0.4 cm de diámetro, a una velocidad de 1 mm/s y la distancia recorrida por la aguja fue de 20 mm. Se calculó resistencia a la tracción y porcentaje de elongación

Permeabilidad al vapor de agua: La permeabilidad al vapor de agua se determinó usando el método E96-80 (ASTM-1996).

Efecto inhibitorio del AE: Las cepas de microorganismos *Escherichia Coli* silvestre y *Zigasacharomyces rouxi* fueron obtenidas del cepario de la UDLAP.

Se inoculó el microorganismo en un tubo con caldo de soya tripticaseina y la levadura en cuñas de agar maltosa saboraud, incubándose a 37 °C de 12 a 14 horas respectivamente. Los microorganismos fueron conservados en una solución de glicerol 20% en agua, congelados hasta su utilización. Se añadió 1 mL de microorganismo a 100 mL de medio de cultivo de caldo lauril sulfato de sodio y se incubo a 35°C con agitación constante durante 14 horas. 1 mL de cultivo de levaduras se inoculo en 100 mL de caldo de maltosa saboraud y se incubo a 37 °C con agitación constante durante 48 horas. Para la cuenta de microorganismo se utilizó agar EMB y para levaduras agar rosa de bengala con cloranfenicol. Se evaluaron concentraciones de 0 a 1000 ppm de AE de *Cymbopogon citratus* para comprobar el efecto inhibitorio del AE en los microorganismos.

Evaluación de la fruta recubierta:
Lavado de la fruta: La guayaba fue desinfectada en una solución de NaClO al 2% durante 10 minutos.

La guayaba se cortó a la mitad y se extrajo la semilla, para posteriormente ser tratada con los recubrimientos.

Almacenamiento de la fruta: La fruta se distribuyó aleatoriamente y se dividió en 3 tratamientos: a) control (T): fruta inmersa en agua destilada estéril b) fruta recubierta con quitosano (Q) c) fruta recubierta con quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Q-AE), en contenedores de plástico. Realizando por triplicado los tratamientos, cada 3 días durante 15 días.

Aplicación del recubrimiento: La guayaba cortada (13.77±0.60) se sumergió en una solución de recubrimiento (300 mL) durante 2 minutos, posteriormente se colocó en mayas, se dejó secar por 10 min a 35°C en un deshidratador de alimentos.

Modelo paralexx, Escalibur® products (Sacramento, CA. E.U) por un lado y otros 10 minutos por la otra cara del fruto. Se realizó otra inmersión y se repitió el proceso de secado. Para que la guayaba tuviera dos recubrimientos. El tiempo de secado fue de 40 minutos. Se colocaron en envases de plástico y se almacenaron a 4°C, en un refrigerador modelo VRD18 (México), durante 15 días.

Evaluación de la fruta: 15 g de fruta fue homogenizada en un mortero y posteriormente se adicionó 25 mL de agua destilada y se homogenizó a 1000 RPM, durante 1 min. Utilizando un homogenizador ULTRA TURRAX® IKA® T18 basic (Laboratory Equipment, EE.UU) para hacer los siguientes análisis.

Sólidos solubles totales (SST): Se determinó usando un refractómetro ATAGO-01020 (Sn Luis Potosí, México) a partir de una gota de jugo extraído de la fruta, el refractómetro se calibró con agua destilada a 20°C. Los resultados se expresaron como °Brix. Acidez titulable: Se utilizó el método 942.15 establecido por la AOAC (2000), utilizando como indicador fenolftaleína.

Pérdida de peso (WL%): Se utilizó el método 934.06 (37.1.10) de la AOAC (2000) para la determinación de la pérdida de peso en la fruta. Se utilizó una balanza electrónica con una precisión de 0.0001 g (Precisa 180A, in Switzerland).

Firmeza: La firmeza en guayaba se determinó al final de cada periodo de almacenamiento utilizando un texturómetro modelo TA-TX2 (Texture Technologies Corp., E.U), mediante análisis de compresión uniaxial, utilizando una sonda de 3 mm de diámetro, penetrando hasta 7 mm a una velocidad de 1 mm/s (Rocculi, et al., 2009).

Calidad microbiológica: La calidad microbiológica fue determinada mediante la cuenta total de mesófilos aerobios, con el método de siembra en profundidad en placa, utilizando agar para métodos estándar. Un gramo de pulpa de guayaba se mezcló con 9 mL de agua peptonada. Las cajas Petri fueron incubadas a 35°C durante 48 horas. Hongos y levaduras fueron determinados usando agar papa dextrosa, acidificando a un pH de 3.5 mediante una solución de ácido tartárico, incubando a 25°C durante 5 días.

Análisis estadístico: Se realizó un análisis de varianza y pruebas de Tukey para evaluar diferencia entre las medias de los tratamientos utilizando el software Minitab 17, (LEAD Technologies Inc., NJ). Una $P < 0.05$ fue considerada como estadísticamente significativa

Resultados y discusión

Caracterización del recubrimiento: La solución de recubrimiento de quitosano presentó un pH de 5.92 ± 0.03 y la solución de quitosano con aceite esencial obtuvo valores más bajos de 5.64 ± 0.01 , estos valores son más elevados que los reportados por Peng et al. (2013) los autores reportan valores de pH de 4.4 a 4.6.

Color: Al incrementar la concentración del quitosano de 2 y 3% en la solución se observa un incremento significativo en los valores de Luminosidad, con respecto a la concentración 1%, los valores de a^* no presentaron diferencia significativa, mientras que la concentración más baja de 1% de quitosano en la solución de recubrimiento mostró diferencia significativa con respecto a la concentración de 2 y 3 %. Visualmente se observó un ligero incremento del color amarillo en las soluciones de quitosano al incrementar la concentración del quitosano (Tabla 2).

Concentración de quitosano (%)	L*	a*	b*
1	42.46±1.7a	3.5±0.4a	-3.80±0.08a
2	52.40±1.2b	-0.27±0.6a	0.62±2.75b
3	55.79±1.1b	-1.47±4.1a	-3.21±0.19ab

Tabla 2 Parámetros de color en soluciones de quitosano.

Ppm de AE	L*	a*	b*
200	44.35±1.5a	3.50±0.4a	-3.46± 0.5a
400	47.82±1.4b	4.5±0.5a	-5.93±0.7b
600	53.80±1.1c	3.98±0.9a	-6.67±0.3b
800	58.30±1.0d	4.66±0.9a	-4.22±0.9a

Tabla 3 Parámetros de color en soluciones de quitosano y aceite esencial.

Al incrementar la concentración del aceite esencial en soluciones de quitosano se observa un incremento en los valores de L*, al adicionar mayor concentración del AE se observa blanca la solución debido a las gotas de aceites presentes en la solución de recubrimiento. Los valores de b* descendieron de -3.46 ± 0.5 a -6.67 ± 0.3 al incrementar la concentración del aceite de 200 a 600 ppm (Tabla 3).

Capacidad antioxidante: Se obtuvieron valores de 14.35 ± 1.3 mg de Trolox por mL de solución de recubrimiento equivalente a 2.26 % de inhibición. Oriani, et al. (2014) informan que recubrimientos de almidón de yuca (2% w/v) con la adición de aceite esencial de canela a concentraciones de 0,30% (v/v) mostraron capacidad antioxidante.

Reología

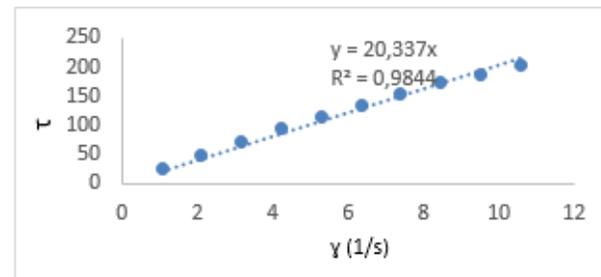


Figura 2 Reograma de la solución de quitosano al 2%.

De acuerdo al reograma de la figura 2, la solución de recubrimiento de quitosano al 2% presenta un fluido Newtoniano ya que muestra una relación lineal entre la magnitud del esfuerzo cortante aplicado y la velocidad de deformación resultante. Este comportamiento fue reportado por Bonilla, Atarés, Vargasa y Chiralt, 2011; Aguirre-Loredo & Rodríguez-Hernández y Chavarría-Hernández (2014). Las propiedades reológicas de soluciones de quitosano pueden afectar características de las películas o recubrimientos (Figura 2).

Propiedades físicas en películas

Espesor : El espesor en las películas de quitosano vario de 0.047 a 0.054 mm como se muestra en la tabla 4, se presentó un incremento significativo ($p < 0.05$) en los valores de espesor en películas formuladas con 0.25% de AE con respecto a las películas con 0, 0.05 y 0.1 % de AE, valores más elevados de espesor fueron reportados por Ojagh, Rezaei, Razavi y Hosseini (2010) de 0.095 a 0.107 mm, sin embargo los valores de espesor varían de acuerdo al volumen y tamaño del recipiente en el cual se forma la película o la formulación de la solución.

AE	Espesor	Humedad	Solubilidad
(%)	(mm)	(%)	(%)
0	0.047±0.001a	22.63±0.2a	27.48±0.2a
0.05	0.048±0.001a	20.51±0.3b	26.03±0.6b
0.1	0.049±0.005a	20.33±0.5b	25.56±0.2b
0.25	0.054±0.002b	19.62±0.7b	24.44±0.2c

Tabla 4 Espesor, humedad y solubilidad de películas de quitosano con aceite esencial de *Cymbopogon citratus* a diferentes concentraciones.

Contenido de humedad: Con respecto a los valores de contenido de humedad, se presentó una disminución significativa ($p < 0.05$) en las películas formuladas sin AE con respecto a las películas que contenían AE. La disminución de los valores de humedad al incrementar la concentración del AE no fue significativa debido a que las concentraciones utilizadas son muy pequeñas. Sin embargo esta disminución puede atribuirse a que los AE forman enlaces covalentes entre los grupos funcionales de las cadenas de quitosano, lo que lleva a una disminución de la disponibilidad de grupos hidroxilo y amino, limitando las interacciones del agua con el quitosano mediante enlaces de hidrógeno, dando como resultado la disminución del valor del contenido de humedad en las películas comestibles (Park y Zhao, 2004). Un efecto similar fue reportado por Sánchez-González, Cháfer, Chiralt y González-Martínez (2010) en películas de quitosano formuladas con aceite esencial de bergamota (Tabla 4).

Solubilidad en agua: La solubilidad en películas comestibles es una característica importante debido a que puede afectar la resistencia de la película en ambientes húmedos. Las películas de quitosano presentaron baja solubilidad al agua.

Se presentó una disminución en los valores de solubilidad en películas formuladas con AE con respecto al control, este comportamiento podría atribuirse a los efectos de entrecruzamiento entre el quitosano y el AE (Peng et al., 2013), reduciéndose 11 por ciento la solubilidad en agua en películas elaboradas con 0.25 % de AE, por lo tanto la reticulación en la matriz de la película de quitosano con AE disminuyó la solubilidad en agua produciendo películas con baja afinidad hacia el agua. Valores de solubilidad más altos de 92.3 ± 1.3 a 97.3 ± 1.5 % fueron reportados por Moura, Lorevice, Mattoso y Zucolotto (2011) en películas a base de celulosa con nanopartículas de quitosano. Por otra parte Rawdkuen, Suthiluk, Kamhangwong y Benjakul (2012) reportaron valores de 43.96 ± 2.57 a 57.51 ± 2.04 en películas a base de gelatina.

Color

AE	L*	a*	b*
0	93.27±0.1a	-1.55±0.02a	2.93±0.1a
0.05	93.00±0.2ab	-2.33±0.00b	5.68±0.08b
0.1	92.86±0.2ab	-2.39±0.00b	5.63±0.2b
0.25	92.62±0.09b	-3.12±0.05c	8.99±0.2c

Tabla 5 Color en películas de quitosano con aceite esencial de *Cymbopogon citratus* a diferentes concentraciones.

Resistencia a la tracción: Los resultados mostraron un incremento en los valores de resistencia a la tracción al incrementar la concentración de AE, en forma significativa ($p < 0,05$) comparada con películas formuladas sin AE. Un efecto similar fue reportado por Ojagh, et al. (2010) en películas de quitosano con aceite esencial de canela. Peng, et al. (2013) informaron una disminución en los valores de TS al incorporar AE de limón en películas de quitosano con respecto al control.

Este comportamiento se considera como consecuencia de una interacción entre el quitosano y el AE produciéndose un efecto de reticulación, disminuyendo el volumen libre y la movilidad molecular del polímero. Ojagh, et al. (2010) informan que la disminución en el contenido de humedad en las películas al incorporar aceites esenciales podría conducir a una disminución de la resistencia a la tracción.

Elongación (%): La elongación es una medida de la capacidad de estiramiento de la película antes de la rotura, esta propiedad está relacionada con las fuerzas intermoleculares de la película. (Atarés, Bonilla y Chiralt, 2010). En la tabla 4 se observa una disminución significativa ($p < 0.05$) en los valores de elongación al incrementar la concentración de AE en películas de quitosano, indicando una pérdida de la movilidad macromolecular. Sánchez-González et al., 2010; Ojagh et al., 2010; Peng y Li, 2014, reportaron que el alargamiento a la rotura en películas de quitosano disminuye con la incorporación de aceites esenciales de bergamota, canela, limón y tomillo, estos autores informan que la composición del quitosano, el tipo de plastificante y la presencia de surfactantes tienen un efecto sobre las propiedades mecánicas de las películas.

Caracterización del recubrimiento

Análisis microbiológico: El AE de *Cymbopogon citratus* presentó un efecto inhibitorio significativo ($p < 0.05$) sobre *Escherichia coli* y *Saccharomyces rouxii* al incrementar la concentración del AE. A una concentración de 400 ppm del AE se observó el valor más bajo de 4.63 y 5.43 log₁₀ UFC/mL, inhibiendo completamente el crecimiento a 500 ppm del AE de ambos microorganismos. De acuerdo a estos resultados se estableció evaluar el recubrimiento de quitosano con 400 ppm de AE en guayaba cortada lista para consumo y los resultados se muestran a continuación.

Sólidos solubles totales (SST)

En la figura 3 se observa una disminución significativa ($p < 0.05$) de los valores de SST en el tercer día de almacenamiento en el testigo y la fruta recubierta con quitosano. Los días 3, 6 y 12 muestran un incremento significativo ($p < 0.05$) en los valores de SST en la fruta recubierta con quitosano. En la fruta recubierta con quitosano-AE el incremento de los valores del día 3 al 6 fueron significativos ($p < 0.05$). El testigo y la guayaba recubierta con quitosano-AE a los 6 y 9 días presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) (Figura 3).

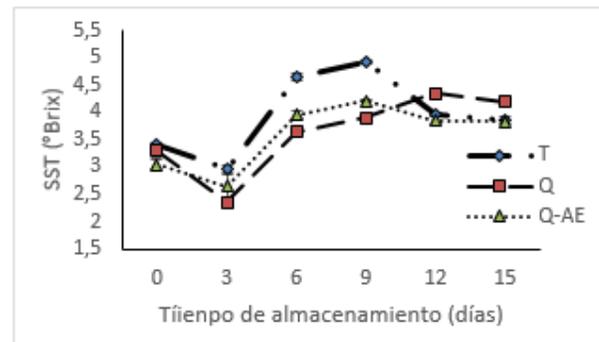


Figura 3 Efecto del recubrimiento en guayaba cortada lista para consumo con un mínimo de procesamiento, tratada con recubrimiento de quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, almacenadas a 4°C sobre SST.

Dang et al., 2010 informan que los valores de SST en cerezas revestidas con acetato de quitosano aumentaron hasta el día 15 de almacenada la fruta. El incremento en los valores de SST indican una degradación del almidón debido a un aumento en la actividad de las enzimas hidrolasas en la fruta induciendo a una acumulación de azúcares como glucosa, fructuosa y sacarosa.

PH

El pH en guayabas recubiertas con quitosano-AE no presentó diferencia significativa en los 15 días de almacenada la fruta. Se observa una disminución significativa ($p < 0.05$) en los valores de pH a partir del día 6 en la fruta recubierta con quitosano, este efecto se atribuye a una acumulación de ácidos orgánicos (Srinivasa, et al., 2002). A los seis días de almacenamiento hay una diferencia significativa ($p < 0.05$) en los valores de pH de la fruta tratada con quitosano-AE comparada con la fruta recubierta solo con quitosano. A los nueve días de almacenamiento se observa una diferencia significativa ($p < 0.05$) del testigo y la fruta recubierta con quitosano. Campaniello, Bevilacqua, Sinigaglia y Corbo (2008) reportaron que el pH en fresas recién cortadas parecía no ser influenciada por el tratamiento con quitosano al 1%.

Acidez titulable

Los valores de acidez titulable disminuyen significativamente ($p < 0.05$) hasta el sexto día de almacenamiento en guayabas recubiertas con quitosano. En el testigo se observa un incremento significativo ($p < 0.05$) a partir del tercer día hasta el día 9. No se presentó diferencia significativa en los valores de acidez titulable en guayabas recubiertas con quitosano y aceite esencial *Cymbopogon citratus*. En el día 9 existió diferencia significativa ($p < 0.05$) en guayaba recubierta con quitosano-AE compara con el testigo. A los 12 días de almacenada la fruta se presentó un descenso en los valores de acidez titulable en el testigo y la guayaba recubierta con quitosano. La disminución de la acidez se relaciona con bajas tasas de respiración y menos infestación fúngica, que se traduce en una mayor vida de anaquel de la fruta.

Tratamientos térmicos a 50 °C por 30 minutos combinados con recubrimientos de quitosano al 0.25% en mango, mantuvieron los valores de TA hasta el día 6, presentando un incremento de los valores de AT el día 9 (Djioua et al., 2010).

Pérdida de peso (WL%)

La guayaba cortada lista para consumo es susceptible a la pérdida de peso por lo tanto fue necesario evaluar este parámetro durante el almacenamiento. En todos los tratamientos se observó un incremento en la pérdida de peso al prolongar el periodo de almacenamiento. Pero en la guayaba recubierta con quitosano y aceite esencial la pérdida de peso fue menor, comparada con la guayaba sin recubrimiento y la recubierta con quitosano. Los resultados en este trabajo muestran que la fruta recubierta con quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus* fue menor significativamente ($p < 0,05$) en cada periodo de almacenamiento. La reducción de la pérdida de peso por el uso de soluciones de quitosano en frutas recubiertas se relaciona con sus propiedades higroscópicas que permiten la formación de una barrera selectiva alrededor de la superficie de la fruta, disminuyendo la pérdida de humedad hacia el medio ambiente y reduciendo la respiración (De Oliveira et al., 2014). Tezotto-Uliana, Fargoni, Geerdink y Kluge (2014) reportan una reducción estadísticamente no significativa comparada con el control, en la pérdida de peso en frambuesas tratadas con recubrimiento de quitosano a concentraciones de 0.5 a 2%. Puede existir una diferencia significativa en la pérdida de peso de un alimento de acuerdo a la manera de cubrir el alimento yasea por inmersión, brocha ó aspersión.

Color

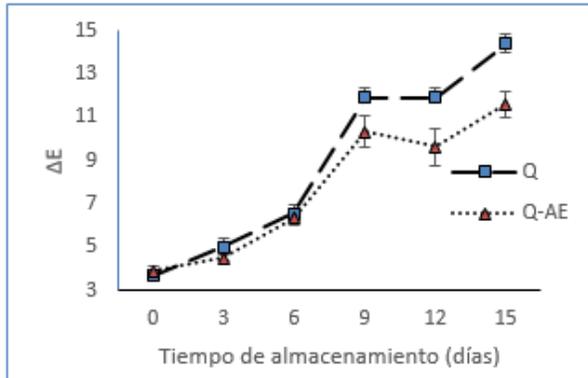


Figura 4 Efecto del recubrimiento en guayaba cortada lista para consumo con un mínimo de procesamiento, tratada con recubrimiento de quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, almacenadas a 4°C sobre el cambio total de color.

El cambio total de color fue evaluado en un periodo de almacenamiento de la fruta recubierta, observándose en la figura 4 un incremento en los valores. En la guayaba recubierta con quitosano y quitosano-AE se observó un incremento significativo ($p < 0,05$) en los valores de ΔE a partir del día 9 de almacenada la fruta (Figura 4). Presentando diferencia significativa ($p < 0,05$) a partir del tercer día de almacenada la fruta recubierta con quitosano comparada con la fruta recubierta con quitosano-AE. Ochoa-Velasco & Guerrero-Beltrán (2014) informan un incremento en los valores de ΔE en tuna blanca y tuna roja recubiertas con quitosano utilizando dos concentraciones de ácido acético (1 y 2.5%).

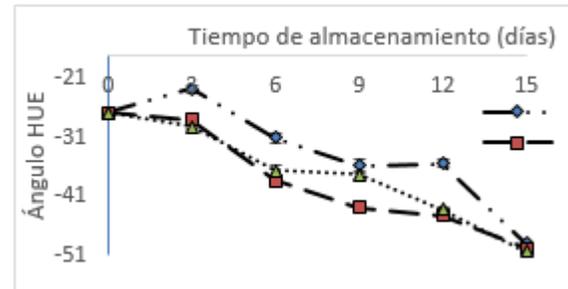


Figura 5 Efecto del recubrimiento en guayaba cortada lista para consumo con un mínimo de procesamiento, tratada con recubrimiento de quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus*, almacenadas a 4°C sobre el valor del ángulo HUE.

Una inclinación significativa se observó en el testigo y la fruta recubierta con quitosano desde -26.74 del día 0, hasta -48.97 y -49.77 respectivamente el día 15, de acuerdo con el color amarillo de la cáscara de la guayaba. Los valores del ángulo HUE en guayabas recubiertas con quitosano y Quitosano-AE presentaron una diferencia significativa a partir del primer día de almacenamiento comparado con el testigo. Del día 6 al 9 se observa que el recubrimiento de quitosano-AE logra mantener los valores de HUE. Azarakhsh et al. (2014) informan que piñas recién cortadas con un recubrimiento a base de alginato y aceite esencial de té limón, durante 16 días de almacenamiento a 10 °C fueron significativamente ($p < 0,05$) eficaz en mantener valores del ángulo HUE en comparación con las muestras sin recubrir (Figura 5).

Firmeza: El fenómeno de ablandamiento ocurre por la participación de las enzimas pectinesterasa (PE) y poligalacturonasa (PG) las cuales degradan la pectina y el ácido poligalacturónico presente en la pared celular de las células del fruto (Imsabai, Ketsa y Van Doorn, 2002), puede ser afectado el ablandamiento en la fruta por la composición de la pared celular y contaminación por microorganismos.

El efecto físico observable de este fenómeno es la pérdida de dureza o firmeza. La firmeza en la guayaba sin recubrir se redujo de 12.44 ± 0.54 a 4.35 ± 0.36 , durante los 15 días de almacenada la fruta, esta pérdida de firmeza fue significativa los días 0, 3, 6, 12 y 15. Sin embargo el cambio de firmeza en guayaba recubierta con quitosano y aceite esencial no fue significativa los días 0, 3 y 15 de almacenada la fruta y del día 6 al 12, el efecto antimicrobiano que presenta el quitosano y el aceite esencial podrían haber contribuido para mantener la firmeza en la guayaba recubierta (Ali, Muhammad, Sijam y Siddiqui, 2011). Azarakhsh et al., (2014) reportaron que la incorporación de aceite esencial de té limón (0,1 y 0,3%, p/v) en formulaciones de recubrimientos a base de alginato no tenía efecto significativo ($p > 0.05$) en la firmeza de piña cortada. González-Aguilar et al., (2009) reportaron que recubrimientos de quitosano formaron una barrera protectora en papaya maradol reduciendo la firmeza durante 9 días de almacenamiento ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$), informando que la pérdida de firmeza en la frutas podría ser debido a los daños en vacuolas celulares, que a su vez puede causar la difusión de agua a través del tejido y en consecuencia causar la pérdida de agua de la fruta. El ablandamiento de frutas y verduras también se ha relacionado con la degradación de la lamela media debido a la solubilización de pectina. La adición de AE en recubrimientos podría reducir la firmeza de la fruta, probablemente debido a un pH bajo (Rojas-Grau et al., 2007).

Microbiología en fruta recubierta: La guayaba cortada es un ambiente fértil para el crecimiento de microorganismos debido a la alta cantidad de humedad y el azúcar presente en su superficie, por lo cual se aplicó la tecnología de recubrimientos a base de quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus*.

En la figura 6 se observa una diferencia significativa ($p < 0.05$) en la cuenta de microorganismos mesófilos en guayabas cortadas recubierta con quitosano y aceite esencial con respecto a guayabas sin recubrir. Hubo un incremento significativo en la cuenta de microorganismos a partir del día tres en los tratamientos (T, Q y Q-AE). La guayaba recubierta con Q-AE no mostró crecimiento hasta el día 6, en ese mismo día la guayaba recubierta con quitosano no presentó diferencia significativa con respecto a la guayaba tratada con quitosano y aceite esencial. Revelando valores más bajos en la cuenta de microorganismos de 2.95 ± 0.00 Log₁₀ UFC/mL a los 15 días de almacenada la guayaba recubierta con Q-AE, mientras que el testigo exhibió valores de 5.45 ± 0.03 Log₁₀ UFC/mL.

Los recubrimientos comestibles pueden crear una atmosfera modificada afectando la tasa de crecimiento de microorganismos que deterioran la fruta (Rojas-Grau et al., 2007), la adición del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* en recubrimientos de quitosano extiende la vida útil de la guayaba debido a que reduce el crecimiento de microorganismos (Figura 6).

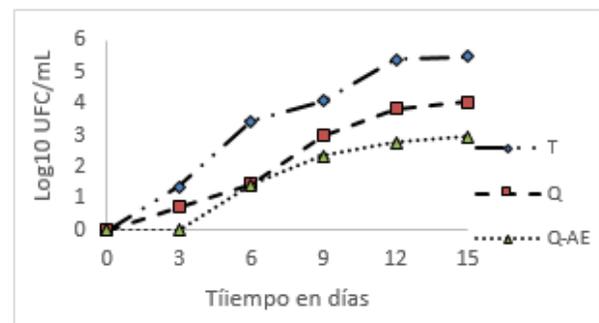


Figura 6 Resultados de la cuenta total de mesófilos aerobios en el testigo (T), guayaba cortada recubierta con quitosano (Q), guayaba recubierta con quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Q-AE).

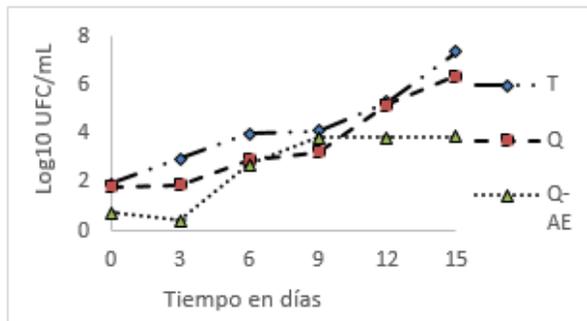


Figura 7 Resultados de la cuenta total de mohos y levaduras en el testigo (T), guayaba cortada recubierta con quitosano (Q), guayaba recubierta con quitosano y aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Q-AE).

Con respecto a la cuenta de mohos y levaduras se mostró diferencia significativa durante los días de almacenamiento en las frutas recubiertas solo con quitosano y quitosano y aceite esencial con respecto al testigo. A partir del día 9 en guayaba recubierta con quitosano y AE el incremento en la cuenta de mohos y levaduras no es significativo. Presentando valores bajos de 3.86 ± 0.02 Log10 UFC/mL en guayaba recubierta con Q-AE a los 15 días de almacenada la fruta, este efecto podría ser a causa de una disminución de la actividad enzimática que degradan la pared celular del fruto. La incorporación de aceites esenciales en recubrimientos de quitosano puede mejorar su eficiencia antimicrobiana (Figura 7).



Figura 8 Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano con aceite esencial sobre características sensoriales en guayaba cortada a un día de almacenamiento, n=30,

En los atributos de color, olor y aceptabilidad general no se observó diferencia significativa en las muestras de guayabas recubiertas con quitosano y AE comparadas con las guayabas sin recubrir. Se observó diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la fruta recubierta con quitosano y fruta sin recubrir. Los jueces detectaron diferencia significativa ($p < 0.05$) en el sabor en fruta recubierta con quitosano comparada con la fruta recubierta con quitosano y AE. A concentraciones de 400 ppm de AE (Figura 8).

Conclusiones

De acuerdo a estos resultados el AE de *Cymbopogon citratus* puede ser utilizado en la formulación de recubrimientos de quitosano como una fuente de compuestos que presenta actividad antioxidante. La adición de AE *Cymbopogon citratus* presentó un efecto sobre las propiedades físicas y mecánicas en películas de quitosano, éste biopolímero es prometedor para el recubrimiento de alimentos, su sensibilidad a la humedad puede mejorar al adicionar AE de *Cymbopogon citratus*. El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* al ser adicionado en el recubrimiento de quitosano extiende la vida útil de la guayaba debido a que reduce el crecimiento de microorganismos.

Referencias

- Adukwu, E. C., Allen, S. C. H., & Phillips, C. A. (2012). The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 113, 1217-1227.
- Aguirre-Loredo, R. Y., Rodríguez-Hernández, A. I., & Chavarría-Hernández, N. (2014). Physical properties of emulsified films based on chitosan and oleic acid. *CyTA - Journal of Food*, (12)4, 305-312. DOI: 10.1080/19476337.2013.853207
- Ali, A., Muhammad, M. T. M., Sijam, K., & Siddiqui, Y. (2011). Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chemistry*, 124, 620–626.
- Andreuccetti, C., Carvalho, R., Galicia, G. T., Martínez, B. F., & Grosso, C. R. F. (2011). Effect of surfactants on the functional properties of gelatin-based edible films. *Journal of Food Engineering*, 103(2), 129–136.
- ASTM (American Society for Testing and Materials). (1996). Standard test methods for water vapor transmission of materials E96–80. En: *Annual book of ASTM*. Philadelphia, PA. pp: 771–778.
- Atarés, L., Bonilla, J., & Chiralt, A. (2010). Characterization of sodium caseinate-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, 100, 678-687.
- Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H. M., Tan, Ch. P., & Adzahan, N. M. (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.
- Bonilla, B., Atarés, L., Vargasa, M., & Chiralt, A. (2011). Physicochemical properties of chitosan-essential oils filmforming dispersions. Effect of homogenization treatments. *Procedia Food Science*, 1, 44 – 49.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Campaniello, D., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2008). Chitosan: antimicrobial activity and potential applications for preserving minimally processed strawberries. *Food Microbiology*, 25, 992–1000
- Cháfer, M., Sánchez-González, L., González-Martínez, Ch., & Chiralt, A. (2012). Fungal decay and shelf life of oranges coated with chitosan and bergamot, thyme, and tea tree essential oils. *Journal of Food Science*, 77(8), E182–E187.
- Dang, Q. F., Yan, J. Q., LI, Y., Cheng, X. J., Liu, C. S., & Chen, X. G. (2010). Chitosan acetate as an active coating material and its effects on the storing of *Prunus avium* L. *Journal of Food Science*, (75)2. S125-S131.
- De Moura, M. R., Lorevice, M. V. Mattoso, L. H. C., & Zucolotto, V. (2011). Highly stable, edible cellulose films incorporating chitosan nanoparticles. *Journal of Food Science*, 76(2), N25–N29.

De Oliveira, C. E. V., Magnani, M., De Sales, C. V., Pontes, A. L. S., Campos-Takaki, G. M., Stamford, T. C. M., & De Souza, E. L. (2014). Effects of chitosan from *Cunninghamella elegans* on virulence of post-harvest pathogenic fungi in table grapes (*Vitis labrusca* L.). *International Journal of Food Microbiology*, 171, 54–61.

Djioua, T., Charles, F., Freire, M., Filgueiras, H., Ducamp-Collin, M. N., & Sallanon, H. (2010). Combined effects of postharvest heat treatment and chitosan coating on quality of fresh-cut mangoes (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 849–855.

Duan, J., Jiang, Y., & Zhao, Y. (2011). Chitosan-whey protein isolate composite films for encapsulation and stabilization of fish oil containing ultra pure omega-3 fatty acids. *Journal of Food Science*, 76(1), C133-C141.

Eum, H., Hwang, D., Linke, M., Lee, S., & Zude, M. (2009). Influence of edible coating on quality of plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Sapphire'). *European Food Research and Technology*, 229(3), 427-434.

Gbenou, J. D., Ahounou, J. F., Akakpo, H. B., Laleye, A., Yayi, E., Gbaguidi, F., Baba-Moussa, L., Darboux, R., Dansou, P., Moudachirou, M., & Kotchoni, S. O. (2013).

González-Aguilar, G., Valenzuela-Soto, E., Lizardi-Mendoza, J., Goycoolea, M., Martínez-Téllez, M., Villegas-Ochoa, M., Monroy-García, I., & Ayala-Zavala, F. (2009). Effect of chitosan coating in preventing deterioration and preserving the quality of fresh-cut papaya 'Maradol'. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 89, 15–23.

Hosseini, S. F., Rezaei, M., Zandi, M., & Ghavi, F. F. (2013). Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chemistry*, 136, 1490-1495.

Imsabai, W., Ketsa, S., & Van Doorn, W. G. (2002). Effect of temperature on softening and the activities of polygalacturonase and pectinesterase in durian fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 26, 347-351.

Juárez-Rosete, C. R., Aguilar-Castillo, J. A., Juárez-Rosete, M. E., Bugarín-Montoya, R., Juárez-López, P., & Cruz, C. E. (2013). Hierbas aromáticas y medicinales en México: tradición e innovación. *Revista Bio Ciencias*, 2(3): 119-129.

Krkic, N., Lazi, V., Savatic, S., Sojuc, B., Petrovi, L., & Suput, D. (2012). Application of chitosan coating with oregano essential oil on dry fermented sausage. *Journal of Food and Nutrition Research*, 51(1), 60–68.

Leerahawong, A., Tanaka, M., Okazaki, E., & Osako, K. (2011). Effects of plasticizer type and concentration on the physicochemical properties of edible film from squid *Todarodes pacificus* mantle muscle. *Food Science and Technology*, 77, 1061-1068.

López-Mata, A. M., Ruiz-Cruz, S., Silva-Beltrán, P. N., Ornelas-Paz, J. J., Zamudio-Flores, B. P., & Burrueal-Ibarra, E. S. (2013). Physicochemical, antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18, 13735-13753.

Martelli, R. M., Barros, T. T., De Moura, R. M., Maltoso, L. H., & Assis, O. B. (2013). Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. *Journal of Food Science*, 78(1), N98–N103.

Moura, R. M., Lorevice, V. M., Mattoso, H. C. L., & Zucolotto, V. (2011). Highly Stable, Edible Cellulose Films Incorporating Chitosan Nanoparticles. *Journal of Food Science*, 76(2), N25-N29.

Ochoa-Velasco, C. E., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2014). Postharvest quality of peeled prickly pear fruit treated with acetic acid and chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 139–145.

Official Methods of Analysis of AOAC International. (2000). 17 th Edition, Volume II, Gaithersburg, Maryland, USA. Chapter 41, p. 2-4.

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H. (2010). Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122, 161–166.

Oriani, V. B., Molina, G., Chiumarelli, M., Pastore, G. M., & Hubinger, M. D. (2014). Properties of cassava starch-based edible coating containing essential oils. *Journal of Food Science*, 79(2), E189-194. Doi: 10.1111/1750-3841.12332

Park, S., & Zhao, Y. (2004). Incorporation of a high concentration of mineral or vitamin into chitosan-based films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 1933–1939.

Peng, Y., & Li, Y. (2014). Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 36, 287-293.

Peng, Y., Yin, L., & Li, Y. (2013). Combined effects of lemon essential oil and surfactants on physical and structural properties of chitosan films. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 44–50.

Rawdkuen, S., Suthiluk, P., Kamhangwong, K., & Benjakul, S. (2012). Mechanical, physico-chemical, and antimicrobial properties of gelatin-based film incorporated with catechin-lysozyme. *Chemistry Central Journal*, 6, 2-10.

Rocculi, R., Cocci, E., Romani, S., Sacchetti, G., & Dalla Rosa, M. (2009). Effect of 1- MCP treatment and N2O MAP on physiological and quality changes of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 51, 371–377.

Rojas-Grau, M., Raybaudi.Massilia, R., Soliva-Fortuny, R., Avena-Bustillo, R, Mc Hugh, T., & Martin-Belloso, O. (2007). Apple pure-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cup apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45, 254-264.

Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82, 277-283.

Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B., & Mann, A. S. (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass), *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2, 3-8.

Srinivasa, P. C., Baskaran, R., Ramesh. M. N., Prashanth, K. V. H., & Tharanathan, R. N. (2002). *European Food Research and Technology*, 215, 504–508.

Souza, V. C., Monte, M. L., & Pinto, L. A. A. (2011). Preparation of biopolymer film from chitosan modified with lipid fraction. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(9), 1856–1862.

Tezotto-Uliana, J. V., Fargoni, G. P., Geerdink, G. M., & Kluge, R. A. (2014). Chitosan applications pre- or postharvest prolong raspberry shelf-lifequality. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 72–77.