



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN COMO REQUISITO PREVIO PARA
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE UNA
BIOPELÍCULA CON ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO
DESTINADO AL RECUBRIMIENTO PARA MORAS**

AUTORA

ORTIZ CAMBA SOLANGE MABEL

TUTOR

ING. MIGUEL MORENO PAREDES, M.Sc.

GUAYAQUIL, ECUADOR

2024



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR. JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

El suscrito, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE UNA BIOPELÍCULA CON ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO DESTINADO AL RECUBRIMIENTO PARA MORAS**, realizado por la estudiante **ORTIZ CAMBA SOLANGE MABEL**; con cédula de identidad **N°0955901467** de la carrera **AGROINDUSTRIA, Unidad Académica Guayaquil**, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos y legales exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Ing. Miguel Moreno Paredes, M.Sc.

Guayaquil, 13 de diciembre del 2024



UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
“DR JACOBO BUCARAM ORTIZ”
CARRERA AGROINDUSTRIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIFÚNGICO DE UNA BIOPELÍCULA CON ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO DESTINADO AL RECUBRIMIENTO PARA MORAS”**, realizado por la estudiante **ORTIZ CAMBA SOLANGE MABEL**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Luis Zúñiga, M.Sc.
PRESIDENTE

Ing. Julio Palmay, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Yoansy García, M.Sc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Miguel Moreno, M.Sc.
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 03 de diciembre del 2024

DEDICATORIA

La presente Tesis la dedico en primer lugar a Dios, quien me ha brindado la fuerza, sabiduría y entendimiento necesarios para continuar y culminar la carrera exitosamente. También quiero dedicar este trabajo a mis padres, Erwin Ortiz y Tanya Camba, quienes han sido mi mayor inspiración y fortaleza por el constante apoyo que me mostraron día a día a lo largo de este arduo camino académico. Su amor incondicional y sabiduría me permitieron continuar con mis estudios ante las adversidades, por ellos que me han guiado con sabiduría y amor desde pequeña hasta la actualidad con el propósito de prosperar, ser una mejor persona y lograr avanzar de poco a poco a un futuro próspero. A mis familiares, que me mostraron apoyo y comprensión a lo largo de este viaje.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por brindarme vida y otorgarme tolerancia y esperanza, por ser mi guía y luz en el camino hacia el futuro que me espera. Agradezco a mis padres, Erwin Ortiz y Tanya Camba, así como a mis hermanos, Erwin y Justin Ortiz, por siempre brindarme una mano cuando más la necesitaba, por ellos que son mi soporte diario para impulsarme a seguir adelante en mi camino académico. Por inculcarme valores desde pequeña que han logrado forjar y moldear mi ser.

Agradezco también a mis amigos de carrera, con los que he compartido parte de mi vida académica en la universidad, por su apoyo y amistad. Atesoraré y recordaré a futuro los recuerdos de los buenos momentos que vivimos juntos en la universidad.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo Ortiz Camba Solange Mabel, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre “Evaluación del efecto antifúngico de una biopelícula con aceite esencial de eucalipto destinado al recubrimiento para moras” para optar el título de Ingeniera Agroindustrial por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, diciembre 13 del 2024

ORTIZ CAMBA SOLANGE MABEL
C.I. 0955901467

RESUMEN

La pérdida de calidad de las frutas, como las moras, debido a su alta susceptibilidad a hongos y bacterias, representa un desafío significativo para la industria agroalimentaria. Este problema afecta tanto la apariencia como la seguridad alimentaria y la vida útil de los productos. En respuesta a este problema, la investigación se centró en desarrollar una biopelícula a base de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto. Para ello se planteó un diseño experimental con un enfoque cuantitativo, donde se prepararon biopelículas a partir de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto en diferentes concentraciones. Se realizaron pruebas de eficacia antifúngica contra hongos en moras mediante un diseño completamente al azar, con análisis de variables como el pH, el rendimiento de extracción y la actividad antimicrobiana de las biopelículas. Los resultados indican que el proceso de extracción de pectina de cáscara de naranja mediante hidrólisis ácida resultó ser más eficiente que la extracción de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación, con rendimientos de 8.16 % y 0.944 %, respectivamente. En el Tratamiento 1, con 1.5 g de pectina (0.8%), 5.5 mL de aceite esencial de eucalipto (4.4 %), 3 g de almidón de maíz (1.6%), y 115 mL de agua destilada (93.2 %), se observó la mayor eficacia en inhibir el crecimiento de hongos en moras, mostrando un menor número de colonias fúngicas a los 10 días en comparación con tratamientos de menor concentración. Además, el tratamiento 1 mantuvo mejor las propiedades físico-químicas de las moras, prolongando su vida útil y preservando su calidad de manera más efectiva.

Palabras clave: *antifúngico, biopelícula, eucalipto, naranja.*

ABSTRACT

The loss of quality of fruits, such as blackberries, due to their high susceptibility to fungi and bacteria, represents a significant challenge for the agri-food industry. This problem affects both the appearance and the food safety and shelf life of the products. In response to this problem, research focused on developing a biofilm based on orange peel pectin and eucalyptus oil. To this end, an experimental design with a quantitative approach was proposed, where biofilms were prepared from orange peel pectin and eucalyptus essential oil at different concentrations.

Antifungal efficacy tests against fungi in blackberries were carried out using a completely randomized design, with analysis of variables such as pH, extraction yield and antimicrobial activity of the biofilms. The results indicate that the process of extracting orange peel pectin by acid hydrolysis was found to be more efficient than the extraction of eucalyptus essential oil by hydrodistillation, with yields of 8.16 % and 0.944 %, respectively. In Treatment 1, with 1.5 g of pectin (0.8 %), 5.5 mL of eucalyptus essential oil (4.4 %), 3 g of corn starch (1.6 %), and 115 mL of distilled water (93.2 %), the highest efficacy in inhibiting fungal growth in blackberries was observed, showing a lower number of fungal colonies at 10 days compared to lower concentration treatments. In addition, Treatment 1 better maintained the physicochemical properties of blackberries, prolonging their shelf life and preserving their quality more effectively.

Keywords: *Antifungic, eucalyptus, food coating, orange.*

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes del problema.....	1
1.2 Planteamiento y formulación del problema.....	2
1.3 Justificación de la investigación	3
1.4 Delimitación de la investigación	4
1.5 Objetivo general	4
1.6 Objetivos específicos	4
1.7 Hipótesis o idea a defender.....	5
MARCO TEÓRICO	6
2.1 Estado del arte	6
2.1 Bases científicas y teóricas de la temática.....	9
2.3 Marco legal.....	15
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
3.1 Enfoque de la investigación.....	19
3.2 Metodología.....	19
4. RESULTADOS.....	37
4.1 Evaluación del rendimiento del proceso de extracción de pectina de cáscara de naranja (<i>Citrus sinensis</i>) por hidrólisis ácida y aceite esencial de eucalipto (<i>Eucalyptus</i>) por hidrodestilación	37
4.2 Evaluación del efecto antifúngico de una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto <i>in vitro</i> frente a hongos	39
4.3 Evaluación del efecto antifúngico y vida útil de moras cubiertas con una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto.....	40
5. DISCUSIÓN	45
6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
6.1 Conclusiones.....	48
6.2 Recomendaciones.....	49
7. BIBLIOGRAFÍA	50
8. ANEXOS	57

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Análisis estadístico de rendimiento de pectina de cáscara de naranja ..	57
Anexo 2 Resultados obtenidos en conteo de colonias en moras con recubrimiento antifúngico	61
Anexo 3 Datos objetivo 3 conteo por equipo contador de colonias	62
Anexo 4 Proceso de obtención de pectina de cáscara de naranja.....	65
Anexo 5 Proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto	70
Anexo 6. Proceso de aislamiento de hongos	74
Anexo 7 Proceso de elaboración de biopelícula.....	80
Anexo 8 Proceso <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de biopelícula con actividad fúngica ante hongos	85

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes del problema

En la actualidad, las industrias buscan alternativas para sustituir materiales poliméricos sintéticos por materiales de origen natural que permitan preservar y alargar la vida útil de los alimentos, de tal manera que priorizan el conservar las características organolépticas propias del alimento y su frescura. Entre las tecnologías relacionadas para la conservación están en el empleo de los recubrimientos alimenticios o biopelículas, las cuales se dispersan alrededor del alimento. La funcionalidad de estos recubrimientos está en mejorar la calidad del producto, alargar su vida útil, además de su habilidad para incorporar ingredientes activos como son los antioxidantes, antimicrobianos, entre otros (Palma, Pérez y Padilla, 2021).

A nivel mundial, las biopelículas o recubrimientos han formado parte de los métodos que han logrado preservar diferentes tipos de alimentos. A grandes rasgos el desarrollo y aplicación específica de biopelículas es un reto, ya que éstas no pueden ser usadas de forma universal. Entre los materiales más utilizados para el desarrollo de las películas se encuentran los polisacáridos, como gomas, almidones, quitosano, carrageninas, proteínas, entre otros (Palma et al., 2020).

Uno de los polisacáridos con mayor realce dentro de la industria agroalimentaria es la denominada pectina. La pectina es un heteropolisacárido complejo que presenta en su estructura por ácidos D-galacturónico α -1 con 4 enlaces ramificados en cadenas de azúcares neutrales como ramnosa, arabinosa, xilosa y galactosa. La pectina es empleada en la industria alimenticia como agente espesante, texturizante, gelificante, emulsificante y estabilizante para la modificación de productos alimenticios (Saberia et al., 2017).

Los aceites esenciales de plantas aromáticas han sido objeto de una amplia investigación por ser un producto natural utilizado por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes; y la forma en la que pueden ser adicionados directamente al alimento o pueden ser incorporados en los envases y envolturas de los mismos para preservar su calidad y extender su vida útil (Ribeiro-Santos et al., 2017).

En el estudio denominado "Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus*

aureus subsp. aureus” mostró resultados positivos al inhibir *in vitro* el crecimiento de las cepas bacterianas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, permitiendo determinar la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial, correspondiendo al cese del crecimiento de colonias en un 60 % de concentración del aceite esencial de eucalipto. Por otro lado, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de eucalipto se presentó a partir del 30 % en donde se identificó presencia de turbidez, refiriendo de tal manera que existe un crecimiento bacteriano positivo, mientras que no hubo turbidez en las concentraciones del 60 y 90 %, indicando ausencia de crecimiento bacteriano (Montero-Recalde et al., 2019).

La mora se considera un fruto no climatérico, caracterizada por ser de frágil manipulación y con una propensión elevada a sufrir ataques fúngicos. En consecuencia, las pérdidas postcosecha de este fruto están directamente relacionadas a las prácticas o manejo inadecuado del almacenamiento a lo largo de la cadena de trazabilidad del producto. Como resultado de tales deficiencias en las prácticas de almacenamiento del fruto se pueden presentar los siguientes efectos: cambio de color, ablandamiento, pérdida de peso, pudrición por bacterias (*Erwinia pseudomonas*) y hongos (*Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus* y *Fusarium*) (Cancino, Escalante y Ricketts, 2023)

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Con el tiempo, las industrias agroalimentarias han buscado alternativas para reemplazar ciertos materiales que provoquen daños a productos agrícolas, así como a los consumidores después de la postcosecha, por lo cual, una de las alternativas que ha surgido con el tiempo es el desarrollo de biopelículas para la protección de alimentos de naturalidad perecedera.

En la actualidad, las investigaciones y el uso de las biopelículas o recubrimientos alimenticios han avanzado de forma significativa en el desarrollo de tecnologías de conservación más afines al medio ambiente. Una de las alternativas para integrar como materia prima a la creación de las biopelículas es la pectina obtenida de residuos de naranja (cáscara de naranja), permitiendo implicar positivamente la reutilización de desechos agroindustriales para darle un valor agregado.

El desarrollo y aplicación de biopelículas elaboradas a partir de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto en moras se ha presentado como una estrategia prometedora en la preservación de tal fruto, siendo una opción emergente para la agroindustria. Para el desarrollo de la biopelícula, la pectina; extraída de las cáscaras de naranja, aporta propiedades filmógenas o plastificantes a la biopelícula, mientras que el aceite de eucalipto presenta propiedades antimicrobianas. La combinación de ambos componentes en biopelículas otorga una barrera física efectiva para caso de contaminación externa además de contribuir a la inhibición de hongos y bacterias, reducir la pérdida de calidad y propiedades nutricionales y, por último, extender la vida útil de las moras de manera natural.

1.2.2 Formulación del problema

La formulación del problema planteada al inicio de la tesis fue: “¿Cuál será la contribución de la pectina de cáscara de naranja y el aceite de eucalipto en biopelículas para la protección frente a hongos en frutos como la mora?”

1.3 Justificación de la investigación

Actualmente, los recubrimientos cumplen innumerables funciones y poseen características que les permiten tanto conservar los productos como atraer e informar a los consumidores. Los materiales utilizados han evolucionado desde las hojas de palma o plátano hasta complejos envases multicapas que no requieren refrigeración, así como otros de tipo activo o inteligente (Palma et al., 2020).

Según Ribeiro et al. (2017), detallan que los aceites esenciales de plantas aromáticas han sido objeto de una amplia investigación no sólo por ser un producto natural utilizado por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes para la conservación de los alimentos, sino también porque han mostrado beneficios en la alimentación y la salud humana; actualmente se estudian las propiedades antioxidantes, antimicrobianas y la forma en que pueden ser adicionados directamente al alimento o pueden ser incorporados en los envases y envolturas de los mismos para preservar su calidad y extender su vida útil.

El uso de pectina de cáscara de naranja proporciona una barrera física efectiva contra la deshidratación y protección de la vida útil de productos perecederos. En cuanto al aceite de eucalipto contribuye con propiedades

antimicrobianas, inhibiendo el crecimiento de hongos y bacterias, lo que resulta crucial para prolongar la vida útil de las moras de manera natural.

Al combinar los insumos como pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto en la formulación de biopelículas se puede lograr optimizar y mejorar la calidad junto a frescura de las moras, adicionando de manera positiva al impulsar el reutilizar subproductos provenientes de industrias agroalimentarias como es la cáscara de naranja. El propósito final de integrar una biopelícula en alimentos, como la mora, es de mejorar la eficiencia de la cadena de producción, prolongar su vida útil y conservar las características organolépticas propias del fruto.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** El presente proyecto se efectuó en Universidad Agraria del Ecuador sede Guayaquil en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Agrarias “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz”.
- **Tiempo:** Proyecto experimental efectuado en un período de 6 meses en el año 2024.
- **Población:** Dirigido al sector agroindustrial. Producto destinado al consumo del público en general.

1.5 Objetivo general

Determinar el efecto antifúngico de una biopelícula de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y aceite de eucalipto (*Eucalyptus*) como recubrimiento en moras (*Rubus glaucus*).

1.6 Objetivos específicos

- Evaluar el rendimiento del proceso de extracción de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) por hidrólisis ácida y aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus*) por hidrodestilación.
- Evaluar el efecto antifúngico de una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto *in vitro* frente a hongos.
- Evaluar el efecto antifúngico de una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto a través del estudio de vida útil en moras como recubrimiento.

1.7 Hipótesis o idea a defender

La hipótesis planteada al inicio de la tesis fue: “La biopelícula a base de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y aceite esencial de eucalipto tendrá un efecto antifúngico que permita prolongar la vida útil al ser aplicado como cobertura de moras (*Rubus glaucus*).”

MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

Escobar (2020) expone sobre los recubrimientos alimenticios, especificando de tal manera el uso fundamental de estos en la industria agroalimentaria y su desarrollo tecnológico que ha pasado de generación en generación hasta la actualidad, donde se incluye el progreso de los primeros recubrimientos a base de polietileno de baja densidad de 5 % a 15 % de fibras de almidón hasta la actualidad con biopelículas a bases de polímeros y biopolímeros (naturales o sintéticos).

Por otro lado, el estudio efectuado por Ju et al. (2019) mencionan que: “El recubrimiento comestible es una nueva estrategia de envasado para prolongar la vida útil de los alimentos. Los recubrimientos comestibles obtenidos a partir de recursos naturales no sólo son respetuosos con el medio ambiente, sino que también pueden mantener la calidad de los alimentos y prolongar su vida útil”. Mediante el uso de referencias bibliográficas lograron concluir que, los consumidores demandan por productos que sean sanos, saludables y seguros para su consumo por lo que, la existencia de recubrimientos alimenticios con efecto antimicrobiano muestran un potencial para mantener la calidad y la seguridad de los alimentos ya que, al presentar aceites esenciales como parte de la formulación del recubrimiento, los productos presentan una mejor estabilidad física y química, siendo una ventaja para la conservación de la frescura de los alimentos.

Fu y Dudley (2021), mediante la recopilación de varios estudios enfocados en recubrimientos alimenticios y propiedades antimicrobianas, llegaron a concluir que, no existen términos comunes que diferencien películas antimicrobianas fabricadas mediante la incorporación de agentes antimicrobianos directamente en polímeros o la aplicación de recubrimiento antimicrobiano sobre superficies poliméricas. Por lo tanto, es adecuado utilizar el término "películas con revestimiento antimicrobiano" para destacar que los antimicrobianos se aplican en la superficie de una película mediante técnicas de recubrimiento, pero que no se incorporan directamente dentro de una película mediante moldeo o extrusión. Por otro lado, mencionan métodos para recubrimientos alimenticios, siendo primordial en el estudio el “recubrimiento por inmersión” o “Dip coating” que refiere a sumergir en el recubrimiento alimenticio un sustrato (fruto, vegetal) a una velocidad constante y controlada (forma manual) que permita que el sustrato sea recubierto en su

totalidad o parcialmente. Luego de sumergir el producto, se forma una fina capa del recubrimiento alimenticio, el cual debe pasar por un proceso final de secado.

Villar, Ruíz y Fuertes (2021) evaluaron la actividad antimicrobiana y antioxidante de una biopelícula a base de 3 concentraciones de quitosano (1 %, 2 % y 3 %) y 3 concentraciones de aceite esencial (AE) de muña (0,5 %, 2 % y 5 %) en 12 tratamientos (3 tratamientos sin adición de AE=blancos), logrando obtener como resultados que la actividad antioxidante evaluada en biopelículas con mayor contenido de aceite esencial de muña (5 %) presentó más del 60 % de captación de radical libre DPPH (método de evaluación), mientras que en la actividad antimicrobiana evaluada por Placas Petri cultivadas con cepas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* y *Aspergillus niger* que las biopelículas presentaron inhibición por zona de contacto directo, siendo que se observó que las cepas bacterianas presentaron un índice de severidad del 1 – 24 % de afectación en las biopelículas.

Por otro lado, Jiménez, Cevallos y Taco (2024) realizaron el estudio titulado Aplicación de recubrimientos a base de almidones y clavo de olor en aguacate Hass, Ecuador, en el Instituto Superior Tecnológico Tsáchila. Los autores concluyeron que el recubrimiento a base de almidón de yuca con un 0,06 % de aceite esencial de clavo de olor fue el más efectivo en la conservación del aguacate Hass, obteniendo sólidos solubles de 6,13°Brix, pH de 6,50, acidez titulable de 0,09 %, y una pérdida de peso del 0,65 %. Además, los valores de luminosidad (L*), Chroma (C) y tono (Hue) disminuyeron con el tiempo, lo que indica que el fruto alcanzó su madurez de consumo. El recuento microbiológico mostró una desaceleración en el crecimiento de mohos y levaduras. Por otro lado, los recubrimientos a base de almidón de malanga y papa china no presentaron diferencias significativas, según un nivel de confianza del 95 %.

En el estudio realizado por León et al. (2022) elaboraron biopelículas mediante método de moldeo con concentraciones de 4 % de almidón (papa y maíz) mientras que, de aceite esencial de orégano (AEO) se adicionaron 0% (tratamiento control), 1 % y 2,5 %. Para evaluar la actividad antimicrobiana implementaron la técnica de difusión en agar, en donde evaluaron 5 cultivos de bacterias tales como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, y *Salmonella spp*, las cuales fueron activadas y diluidas mediante una solución salina al 0,85 %. Luego, inocularon 100 µL de cada solución bacteriana en placas Petri

con agar Mueller Hilton, mediante la técnica de difusión en agar. Las placas con las biopelículas (AEO control, 1 % y 2,5 %) se mantuvieron en refrigeración durante 3 h y luego fueron incubadas a 35 °C por 24 h. Como resultado, el aceite esencial de orégano demostró un efecto inhibitorio sobre *Bacillus cereus* (mayor zona inhibitoria), *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli* mientras que en *Salmonella spp.* no existió inhibición.

Peralta et al. (2024) llevaron a cabo una investigación con el objetivo de evaluar el efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill.*) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis Linn. Osbeck*) sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium spp.*, causante de pérdidas significativas en tubérculos de papa almacenados. Se implementaron nueve tratamientos combinando tres concentraciones de aceite esencial de eucalipto (E1, E2 y E3) y tres concentraciones de aceite esencial de cáscara de naranja (C1, C2 y C3), utilizando un Diseño Completamente al Azar con cuatro repeticiones. Después de siete días de evaluación, se observó que el tratamiento E3 (eucalipto al 50 %) presentó un menor crecimiento de la colonia de *Fusarium spp.*, con un área radial promedio de 43.7 mm, mientras que el tratamiento C1 (cáscara de naranja al 0 %) mostró un crecimiento de 58.4 mm. La combinación E3C1 (eucalipto al 50 % + cáscara de naranja al 0 %) resultó ser la más efectiva, con un promedio de 28.8 mm de crecimiento de la colonia, lo que demuestra el mayor control sobre el hongo *Fusarium spp.*

Andrade y Sampedro (2023) en la evaluación de un recubrimiento alimenticio a base de mucílago de cacao con adición de aceites esenciales (coco, orégano y oliva) para la conservación de manzanas de la variedad Royal gala mostró como resultado, en el análisis sensorial la aceptabilidad del Tratamiento 3 (con 0,25 mL de aceite de oliva, equivalente al 0,44 %) en comparación con el Tratamiento 1 (0,25 mL de aceite de coco) y Tratamiento 2 (0,25 mL de aceite de orégano), mientras que, los resultados sobre la vida útil de los tratamientos mostraron un efecto positivo contra los parámetros de pérdida de peso, maduración y crecimiento microbiológico de mohos y levaduras.

2.1 Bases científicas y teóricas de la temática

2.2.1. Naranja

2.2.1.1. Sección sobre clasificación de bebidas alimenticias.

Según López et al. (2021) indican que la naranja (*Citrus sinensis* L.) se destaca como uno de los productos de mayor consumo a nivel mundial por su diversidad en la adaptabilidad a diferentes condiciones climáticas. Alrededor del 10 % de la producción total, que equivale a aproximadamente 6.5 millones de toneladas, se exporta a diversos países, incluyendo Francia, Reino Unido, Alemania, Rusia y Arabia Saudita, entre otros destinos. Este fruto se cultiva extensamente en todo el mundo, abarcando un total de 4,060,129 hectáreas, con un rendimiento promedio de 19,383.5 kg por hectárea y una producción global de 78,699,604 toneladas. La presencia de la producción y exportación de este cítrico contribuye como un componente especial en la dieta global y de ingresos para países productores

2.2.1.2. Taxonomía.

Téllez (2024) menciona las características propias de los árboles de cultivo de naranja siendo, por lo general, de una altura de 5 a 15 metros (mediano). Además, presenta en su estudio la taxonomía del fruto.

Tabla 1.

Taxonomía de naranja (*Citrus sinensis*)

Categoría	Nombre
Reino	Plantae
Nombre científico	<i>Citrus sinensis</i>
Clase	Dicotiledóneas
Familia	Rutácea
Orden	Sapindales
Género	<i>Citrus</i>

Fuente: Téllez, 2024

2.2.1.3. Características.

Los cítricos se subdividen en diferentes especies, tales como: *Citrus sinensis* L. (naranja dulce), *Citrus limón* L. (limón), *Citrus medica* L (cidras), *Citrus aurantium*

L., entre otros. Las plantas pertenecientes al género *Citrus* se encuentran compuestas por dos partes: parte superior que corresponde al tronco, hojas, ramas, frutos, y la parte inferior, formada en gran medida por la porción del tronco, la cual se puede hallar en los primeros 15 centímetros del suelo de donde emerge todo el sistema radicular. Por otro lado, las hojas del género *Citrus* son unifoliadas y de nerviación reticular, aunque en el género *Poncirus* y sus híbridos se presentan como trifoliadas. Las nervaduras son reticuladas y, en especies como el naranjo amargo (apepú, pomelo, toronjas) los peciolos son alados mientras que, los peciolos de las naranjas y mandarinas son pequeños. La raíz de los cítricos es sólida, blanca y bajo condiciones de cultivo poseen una gran cantidad de pelos radiculares superficiales. Además, presenta una raíz principal del que salen las raíces secundarias formando una maza densa de raíces (Morales et al., 2020).

2.2.1.4. Cáscara de naranja.

Según Ramos et al. (2020) indican que la cáscara de naranja es un residuo agroindustrial proveniente principalmente de las industrias jugueras generando, de tal forma, entre 50–60 % de la cáscara, que por sus características ocasionan diversos problemas ambientales como la contaminación de suelo, ya que tiene un tiempo de degradación aproximado de 6 meses. Para mitigar dicho problema, se han realizado diversas investigaciones para dar valor agregado a este residuo agroindustria. La piel de la naranja presenta un elevado porcentaje de materia orgánica, aproximadamente el 95 % de los sólidos totales, con un contenido de agua que oscila entre el 80 % y el 90 %. Su pH se sitúa en un rango de 3 a 4. Además, los residuos de naranja contienen diversos componentes, entre ellos pectina, azúcares solubles, hemicelulosa, celulosa, proteínas, lignina, almidón, cenizas y flavonoides.

2.2.2 Mora

2.2.2.1. Generalidades.

Según Yamashita, Chung, dos Santos, Mayer, Moraes y Branco (2017) mencionan que la mora (*Rubus glaucus Benth*), gracias a sus características fisiológicas por su adaptabilidad a las zonas geográficas y condiciones ambientales, se destaca como uno de los principales frutos con mayor producción en países latinoamericanos tales como Colombia, Ecuador, México y Panamá. Aunque esta fruta no tiene un gran consumo en fresco, se utiliza en su mayoría para la

elaboración de productos procesados como jugos, pulpas, postres, mermeladas, o como producto congelado (pulpa y fruta). Además, un atributo distintivo de la mora es su elevado contenido de flavonoides, lo que contribuye a su característico color que puede variar desde una tonalidad rojiza hasta una violeta oscura.

La mora (*Rubus glaucus Benth.*) es ampliamente cultivada por pequeños agricultores en muchas regiones de los Andes ecuatorianos como Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura, Carchi y Bolívar. La recolección de la fruta se realiza cuando está completamente madura con el fin de alcanzar una calidad comercial deseable, por ser una fruta no climatérica. Las moras frescas contienen muchos nutrientes como proteínas, carbohidratos, grasas, fibras y varias vitaminas como B₁, D y C. Además, son ricos en β -carotenos y minerales (Vilaplana et al., 2020)

2.2.3 Eucalipto

2.2.3.1. Generalidades.

El género *Eucalyptus* abarca una diversidad, compuesto por más de 900 especies y subespecies en donde la especie *globulus* destaca a nivel mundial como la especie de mayor uso tanto de formas casera como en el uso industrial. Este tipo de planta se encuentra comúnmente en áreas bajas y costeras, con una altitud máxima de 300 metros. Suele crecer de manera natural en suelos margosos y arenoso-arcillosos. Se cultiva principalmente como recurso forestal y puede adaptarse para crecer silvestre en climas cálidos y húmedos. Sus hojas tienen glándulas que producen aceites esenciales, lo que les da un olor distintivo característico de la planta misma. Además, contienen componentes químicos con aplicaciones industriales específicas (Amaya y Sandoval, 2020).

2.2.3.2. Taxonomía.

En su investigación titulada “Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) como fungicida” realizada en 2020, Amaya y Sandoval, presentan una tabla que clasifica taxonómicamente al eucalipto, que es la siguiente:

Tabla 2.**Taxonomía de eucalipto (*Eucalyptus*)**

Categoría	Nombre
Nombre científico	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill
Nombre común	Eucalipto
Familia	Myrtaceae
Género	<i>Eucalyptus</i>
Especie	<i>Globulus</i>

Nota: Elaboración de clasificación taxonómica de eucalipto en base a NCBI.

Fuente: Amaya y Sandoval, 2020.

2.2.4. Aceite esencial de eucalipto.

El aceite esencial de eucalipto (AEE) se define como una amalgama de elementos volátiles que se genera como resultado del proceso de metabolismo secundario de las plantas. Este proceso se manifiesta a medida que la planta crece, transformándose en diversos tejidos, como los brotes de flores. Su versatilidad lo convierte en uno de los ingredientes fundamentales en la industria alimentaria, medicinal y de perfumería. Los aceites esenciales, en general, constituyen mezclas complejas que pueden contener más de 100 componentes distintos. Entre estos, se encuentran los monoterpenos, fenilpropanos, sesquiterpenos y compuestos alifáticos de bajo peso molecular, tales como ácidos, aldehídos, ésteres, alcanos, cetonas y alcoholes. La riqueza y diversidad de estos componentes confieren al AEE propiedades únicas, no solo en términos de aroma, sino también en sus aplicaciones en la mejora de la salud, la gastronomía y la creación de fragancias cautivadoras (Quispe y Palomino, 2022).

2.2.4.1 Características del aceite esencial de eucalipto.

En base al estudio de Quispe y Palomino (2021), detalla los puntos a resaltar sobre las características organolépticas, físicas y químicas que presenta el AEE, las cuales son las siguientes:

- Características organolépticas: Presentan una tonalidad amarillo claro o incoloro y tiene un olor penetrante.
- Características físicas: La densidad relativa del AEE a 20°C es entre 0,906 y 0,925 g/mL, su solubilidad el alcohol etílico es a 70 % y 20°C, punto de ebullición de 177°C, su punto de fusión de 1,5°C, punto de

inflamación de 48°C y, por último, el índice de refracción a 20°C sería de 1458 a 1470.

- Características químicas: 1,82 % de Piperitona, 8,48 % de α -terpinol, 8,54% de α -fenaldreno, 77,53 % de 1,8-cineol, 0,42 % de Canfeno, 1,91 % de α -pineno y 1,30 % de 1-valeraldehído (Ticona, Rodríguez y Quispe, 2024).

2.2.4.2. Actividad fúngica.

Según la investigación de Amaya y Sandoval (2020). el aceite esencial de eucalipto presenta varios factores que contribuyen a la inhibición de hongos, entre los cuales destacan la composición —con el eucaliptol como el componente predominante en las hojas— y la concentración del aceite. Asimismo, indican que la acción antimicrobiana de los extractos etanólicos de las hojas de *Eucalyptus* se debe a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides. Esta actividad se relaciona con su interacción con los componentes de la membrana celular, lo que provoca perforaciones y/o disminuye la fluidez de dicha membrana. Por lo tanto, el extracto de hojas podría ser empleado como un agente bioactivo "natural" en diversas aplicaciones industriales. También mencionaron que el aceite esencial de eucalipto (AEE) fue efectivo en inhibir el crecimiento y eliminar tres bacterias grampositivas (*S. aureus*, *L. innocua* y *B. cereus*) así como tres gramnegativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* y *Salmonella sp.*), destacando que las bacterias grampositivas mostraron una mayor sensibilidad a los extractos utilizados.

2.2.5. Fusarium spp

2.2.5.1. Generalidades.

Fusarium es un hongo saprófito que se distribuye ampliamente en todo el mundo y habita naturalmente en el suelo y en material orgánico en descomposición. Este género, reconocido por su capacidad fitopatógena, afecta una amplia variedad de cultivos, siendo *Fusarium oxysporum* la especie causal de la enfermedad del marchitamiento vascular, que resulta en considerables pérdidas económicas a nivel productivo en diversos países. Además de su impacto en la agricultura, *Fusarium* se cataloga como un patógeno oportunista con la capacidad de generar enfermedades en humanos y otros animales. En individuos inmunocompetentes, puede causar infecciones superficiales o localizadas, mientras que, en pacientes inmunocomprometidos, las infecciones tienden a diseminarse. *Fusarium solani* y *F.*

oxysporum destacan como las principales especies asociadas con altas tasas de morbimortalidad. Investigaciones llevadas a cabo por varios científicos han evidenciado que diversas especies de *Fusarium*, provenientes de distintas fuentes, pueden ocasionar infecciones diseminadas tanto en ratones inmunocompetentes como en inmunosuprimidos. Esta capacidad de causar enfermedad tanto en plantas como en animales sugiere la versatilidad de este patógeno para colonizar diferentes hospederos. Su amplio espectro de impacto, desde la agricultura hasta la salud humana y animal, subraya la importancia de comprender y controlar la presencia de *Fusarium* en los alimentos (Forero et al., 2018).

2.2.6. *Penicillium spp.*

2.2.6.1. Generalidades.

Los hongos que pertenecen al género *Penicillium* se caracterizan por ser filamentosos y de rápido crecimiento. En el inicio de la infección, exhiben una coloración blanca debido al desarrollo de las hifas, las cuales, mediante la esporulación, adoptan tonalidades azules, azul verdosas, verdes o grises, dependiendo de la especie. Dentro de la diversidad de *Penicillium spp.*, las podredumbres verdes y azules emergen como las enfermedades más relevantes en la fase postcosecha de cítricos. El moho azul y verde, ocasionados por *Penicillium spp.*, constituyen las patologías más frecuentes y perjudiciales en la postcosecha, afectando una amplia gama de especies y variedades de cítricos y generando pérdidas económicas notables en la producción, especialmente en la industria de almacenamiento y procesamiento. Estas afecciones, provocadas por las especies de hongos *P. italicum* y *P. digitatum*, respectivamente, se originan en el campo durante las fases productivas, pero se manifiestan de manera predominante en el almacenamiento o durante la comercialización de la fruta (Otero et al., 2020).

2.2.7. *Biopelículas alimentarias*

2.2.7.1. Generalidades.

Las biopelículas o cubiertas comestibles son una alternativa promisoriosa para solventar los problemas de pérdidas de alimentos debido al deterioro y la infestación. Las mismas han sido evaluadas probando su efectividad para así prolongar el tiempo de vida útil en ciertas frutas. Estas biocubiertas de empaque

significan una ventaja al uso de materiales biodegradables, en relación con macromoléculas sintéticas (plásticos) (Peralta et al., 2021).

A través de diversos estudios que se han realizado en la actualidad se conoce que las biopelículas pueden emitir hasta un 70 % menos de carbono que los plásticos que se derivan del petróleo; donde la producción de películas biodegradables contribuiría a reducir la dependencia del petróleo, mostrándose como un avance tangible hacía una economía basada en la sostenibilidad. Además, se conoce que su biodegradación es considerablemente más rápida; propiedad que de ser necesario se podría regular (Fernández et al., 2020).

2.2.7.2. Aplicaciones.

La biodegradabilidad de las biopelículas ha permitido que se utilicen en la manufactura eco-amigable, haciéndolos competente como una alternativa de productos no sustentables. Actualmente las biopelículas se utilizan como recubrimiento en alimentos frescos y vegetales; carnes, aves, pescados (congelados y ahumados); lácteos (helados y queso), granos (panificación y botanas), frutos y hortalizas, confitería y frutos secos (nueces). El potencial de las biopelículas dependerá de la aplicación específica, el tipo de alimento que se desee recubrir y sus principales mecanismos de deterioro (Palma et al., 2020).

2.3 Marco legal

2.3.1 Instituto Ecuatoriano de Normalización 1529-10 (2013)

3.1 Para efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

3.1.1 Mohos. microorganismos aerobios mesó filis filamentosos que, crecen en la superficie del agar micológico, se desarrollan generalmente en forma plana o esponjosa.

3.1.2 Levaduras. microorganismos aerobios mesó filis que se desarrollan a 25°C usando un medio de agar micológico; desarrolla colonias redondas mate o brillante que crecen en la superficie del medio, que usualmente tienen un contorno regular y una superficie más o menos convexa. Poseen una morfología muy variable: esférica, ovoidea, piriforme, cilíndrica, triangular o, incluso, alargada en forma de micelio verdadero falso. Su tamaño supera al de las bacterias; al igual que los hongos, causan alteraciones de los productos alimenticios, especialmente los ácidos y presión osmótica elevada.

3.1.3 Recuento de mohos y levaduras viables. Es la determinación del número de colonias típicas de levaduras y mohos que se desarrollan a partir de un gramo o centímetro cúbico de muestra, en un medio adecuado e incubado entre 22°C y 25°C.

3.1.4 Colonia: acumulación localizada visible de la masa microbiana desarrollada sobre o en un medio nutriente sólido a partir de una viable partícula (p.1) (INEN, 2013).

2.3.2. Instituto Ecuatoriano de Normalización 2427 (2015)

5.1 Independiente del calibre el fruto se clasifica en tres grados que se definen a continuación:

5.1.1 Grado extra. Su forma y color deben ser característicos de la variedad y no deben tener defectos. Debe cumplir los requisitos generales establecidos en el numeral 6.1.

5.1.2 Grado 1. La mora de este grado debe cumplir los requisitos generales establecidos en el numeral 6.1

Su forma y color deben ser característicos de la variedad y pueden tener los siguientes defectos leves:

a) Deformación en el ápice.

5.1.3 Grado 2. Este grado comprende a la mora que no puede clasificarse en los grados anteriores, pero satisface los requisitos generales establecidos en el numeral 6.1. Se admiten lo siguientes defectos:

a) deformación del fruto.

b) Estar sin cáliz (INEN, 2015).

Requisitos

6.1 Requisitos generales

Físicos. En todos los grados, las moras deben tener las siguientes características físicas:

a) Estar enteras;

b) Tener la forma característica de la variedad;

c) Estar sanas (libre de ataque de insectos y/o enfermedades, que demeriten la calidad interna del fruto);

d) Estar libres de humedad excesiva;

e) Estar exentas de cualquier olor y sabor extraño (provenientes de otros productos, empaques o recipientes y/o agroquímicos, con los cuales hayan estado en contacto);

f) Presentar aspecto fresco;

g) Estar exentas de materia extraña visibles en el producto o en su empaque;

h) Tener drupas bien formadas, llenas y bien adheridas;

i) Los frutos deben tener cáliz;

j) La coloración del fruto debe ser homogénea y acorde con el estado de madurez, que se aprecia visualmente por su color externo definido en las figuras (Figura 1 y 2).

Figura 1.

Color de la Mora de Castilla (*Rubus glauucus*) según su estado de madurez



Nota: Color 0: fruto de color amarillo verdoso con sus drupas bien formadas; Color 1: fruto de color amarillo verdoso con algunas drupas de color rosado; Color 2: fruto de color rosado; Color 3: fruto de color rojo claro; Color 4: fruto de color rojo oscuro; Color 5: fruto de color rojo intenso, con algunas drupas de color morado; Color 6: fruto de color morado oscuro.

Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2015

Figura 2.

Color de la Mora Brazos (*Rubus lanciniatus*) según su estado de madurez



Nota: Color 0: fruto de color amarillo verdoso con sus drupas bien formadas; Color 1: fruto de color amarillo verdoso con algunas drupas de color rosado; Color 2: fruto de color rosado; Color 3: fruto de color rojo claro; Color 4: fruto de color rojo oscuro; Color 5: fruto de color rojo intenso, con algunas drupas de color morado; Color 6: fruto de color morado oscuro.

Fuente: Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2015

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1. Tipo y alcance de la investigación

El tipo de investigación efectuada en el proyecto fue documental-experimental con un nivel de conocimiento exploratorio debido al planteamiento de formular y desarrollar una biopelícula a base de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto que permita inhibir presencia microbiana (hongos como *Fusarium spp* y *Penicillium spp.*) en frutos como la mora. Además, se implementó un método experimental para la obtención de la biopelícula con efecto antifúngico.

3.1.2 Diseño de investigación

El diseño de la investigación efectuado fue experimental en donde se planteó 3 tratamientos, siendo variable las concentraciones de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto para determinar cuál tratamiento presenta mayor efecto antifúngico ante cepas de hongos como *Fusarium spp* y *Penicillium spp.*

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1. Variables independientes.

- Combinación de distintas concentraciones de pectina de cáscara de naranja y de aceite esencial de eucalipto.

3.2.1.2. Variable dependiente.

- pH de biopelícula.
- pH de materia prima (mora).
- Rendimiento de extracción de pectina y aceite esencial.
- Efecto antifúngico ante el crecimiento de hongos como *Fusarium spp* y *Penicillium spp* en moras.

3.2.2 Matriz de operacionalización de variables

A continuación, se presenta la matriz de operacionalización de variable depende y variables independientes dentro del estudio, siendo las siguientes:

Tabla correspondiente a variable independiente

Variable independiente			
Variables	Tipo	Nivel de medida	Descripción
Concentración de pectina y aceite esencial de eucalipto	Cuantitativa	Continua	Formulación de biopelícula (pectina – aceite esencia eucalipto)

Elaborado por: La Autora, 2024

Tabla correspondiente a variable dependiente

Variable dependiente			
Variables	Tipo	Nivel de medida	Descripción
pH de biopelícula	Cuantitativa	Continua	Visualización en equipo pH-metro (número real)
pH de materia prima (mora)	Cuantitativa	Continua	Visualización en equipo pH-metro (número real)
Rendimiento de extracción de pectina	Cuantitativa	Continua	% de pectina obtenida del proceso de extracción (materia prima inicial y obtención final)
Rendimiento de extracción de aceite esencial de eucalipto	Cuantitativa	Continua	% de aceite esencial obtenida del proceso de extracción (materia prima inicial y obtención final)
Efecto antifúngico ante hongos como <i>Fusarium spp</i> y <i>Penicillium spp</i>	Cualitativa	Ordinal	Leve Moderado Fuerte

Elaborado por: La Autora, 2024

3.2.3 Tratamientos

Tabla 3.
Tratamientos experimentales de materias primas

Formulación	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3	
	g (mL)	%	g (mL)	%	g (mL)	%
Pectina de cáscara de naranja (P)	1,5 g	0,8 %	3,5 g	2,4 %	5,5 g	4 %
Aceite esencial de eucalipto (AEE)	5,5 mL	4,4 %	3,5 mL	2 %	1,5 mL	0,4 %
Almidón de maíz (AM)	3 g	1,6 %	3 g	1,6 %	3 g	1,6 %
Agua destilada (AD)	115 mL	93,2 %	115 mL	93,2 %	115 mL	93,2 %
Total	125	100	125	100	125	100

Nota: Propuesta de variación de tratamientos para elaboración de biopelícula

Elaborado por: La Autora, 2024

3.2.4 Diseño experimental

El diseño experimental aplicado en el estudio fue Diseño Completamente al Azar (DCA) estuvo compuesto por 3 tratamientos junto un blanco o testigo y 5 repeticiones, en donde se evaluaron tres tratamientos con base a diferentes concentraciones de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto en una biopelícula para inhibir presencia o crecimiento de mohos.

3.2.5 Recolección de datos

3.2.5.1. Recursos.

3.2.5.1.1. Recursos bibliográficos.

- Artículos científicos
- Revistas científicas
- Centro de Información Agraria

3.2.5.1.2. Principales insumos.

- Pectina de cáscara de naranja
- Aceite esencial de eucalipto
- Almidón de maíz

- Mora (*Rubus glaucus* madurez 4)

3.2.5.1.3. Reactivos.

- Agua desmineralizada
- Hipoclorito de sodio 1,5 %
- Ácido cítrico 0,1 %
- Alcohol 80°
- Alcohol 90°
- Agua destilada

3.2.5.1.4. Materiales.

- Embudo
- Espátula
- Fiola de 1000 mL
- Probeta de 100 mL
- Varilla agitadora
- Recipientes de material antioxidante
- Frascos ámbar de 30 mL
- Fundas con cierre hermético
- Vaso de precipitación de 250 mL y 500 mL
- Cuchillo marca "Tramontina"
- Mortero
- Caja Petri
- Compact Dry
- Asa desechable
- Asa Drigalsky
- Matraz
- Mechero
- Pinzas de laboratorio
- Papel filtro
- Vaso de precipitación de 500 mL y 250 mL
- Agar PDA
- Anfotericina
- Cepas de *Fusarium spp* y *Penicillium spp*.

- Petrifilm™ Placas Rápidas Hongos y Levaduras 6417

3.2.5.1.5. Equipos.

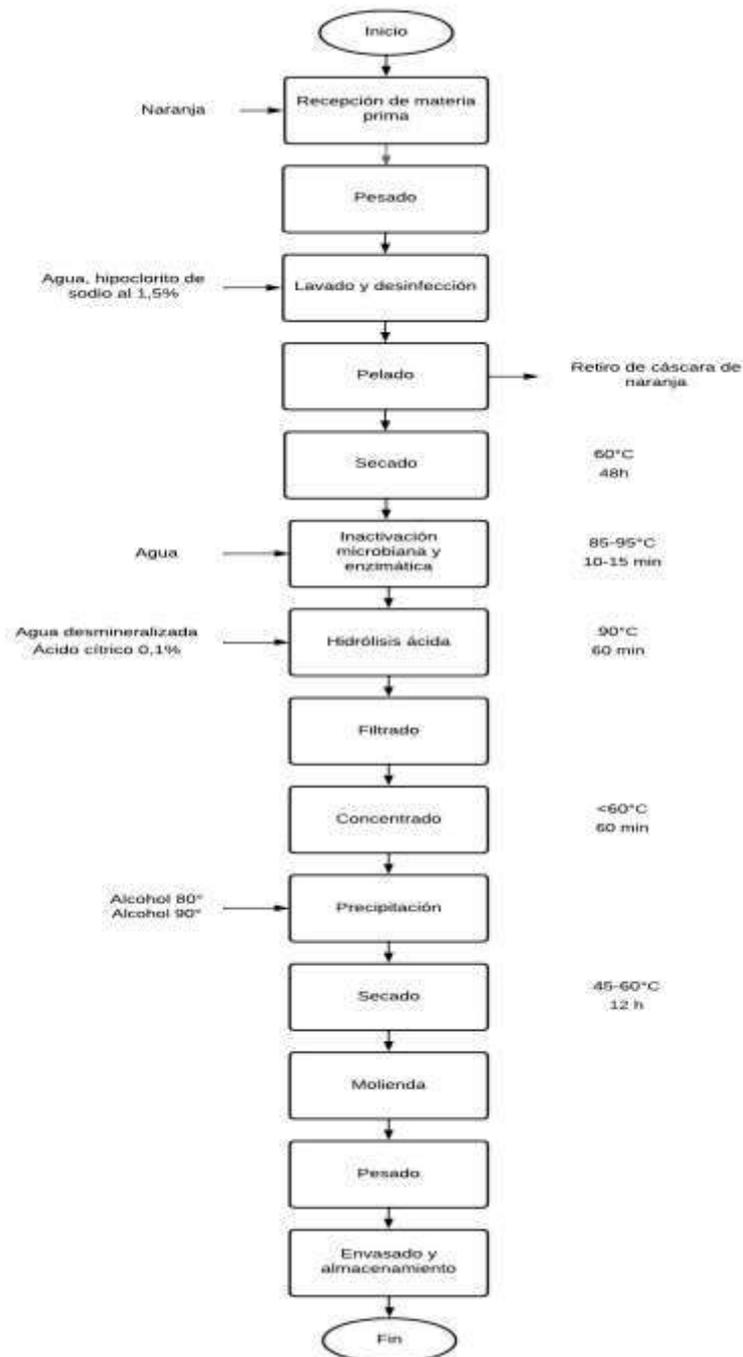
- Balanza analítica
- Plato calentador
- Manta calefactora
- Chiller
- Incubadora de laboratorio
- pH metro
- Termómetro de 100 °C
- Autoclave
- Trampa de Clevenger
- Micropipeta de 100 – 1000 µL (1mL)

3.2.5.2. Métodos y técnicas.

3.2.5.2.1. Diagrama de flujo del proceso de obtención de pectina de cáscara de naranja.

Figura 3.

Flujograma del proceso para obtención de pectina de cáscara de naranja.



Elaborado por: La Autora, 2024

Descripción del proceso

Recepción de materia prima: Paso previo a la obtención de las cáscaras de naranja. Proceso efectuado para identificar posibles golpes y control de la calidad de la materia prima (eliminación de material vegetal en mal estado).

Pesado: Se pesó la materia prima para conocer el valor total de la cantidad requerida para la obtención de cáscara de naranja.

Lavado y desinfección: Las naranjas se sometieron a un lavado y desinfección con agua e hipoclorito de sodio al 1,5 %. Para eliminar restos del desinfectante, se enjuagó con abundante agua.

Pelado: Se separó la cáscara de naranja de la pulpa del fruto (endocarpio).

Secado: Las cáscaras de naranjas se colocaron encima de un paño para eliminar restos de agua del proceso de lavado y desinfección.

Inactivación microbiana y enzimática: Las cáscaras fueron sometidas a altas temperaturas para controlar la proliferación de microorganismos junto a la posible actividad enzimática que puedan degradar y afectar a la integridad de la materia prima. Se llevaron a inmersión a una temperatura de 85-95 °C por un tiempo de entre 10 a 15 minutos.

Hidrólisis ácida: La materia prima se sumergió en agua desmineralizada (eliminación de iones de calcio) a un pH de 1,5-3, empleando ácido cítrico al 0,1 % en un porcentaje proporcional a la cantidad de cáscaras requeridas. Paso por temperaturas de 80 a 90 °C por un tiempo de 60 minutos.

Filtrado: Se realizó para separar el extracto la materia soluble de lo insoluble.

Concentrado: Esta etapa se realizó con el fin de disminuir el empleo de alcohol en la precipitación. Las temperaturas en esta etapa no deben ser mayores a 60 °C por 60 minutos. En caso de usar pectinas claras, no es necesario que pasen por tal proceso, pero en caso de usar pectina amarilla, este proceso de concentrado es de mayor adaptabilidad para concentrar en mayor proporción.

Precipitación: La operación de la precipitación consistió en adicionar alcohol etílico al 96% concentrado mientras se agitaba para decantar el alcohol residual. Luego, se adicionó nuevamente alcohol etílico en mayor concentración para obtener con mayor facilidad un precipitado más puro (eliminación de ácidos e impureza).

Secado: El secado se realizó con una cocina a gas en donde la pectina es colocada en un horno, aplicando temperaturas entre 45-60 °C durante 12h, llevando un control de la humedad del 3%. Después de retirar la pectina de la cocina a gas, se

dejó enfriar por un lapso de 5 minutos para luego efectuar la etapa de molienda y lograr obtener un producto uniforme.

Molienda: Se molió la pectina previamente secada para lograr homogenizar el tamaño de sus partículas (más finas) y mejorar la apariencia del material vegetal. El proceso se llevó a cabo con ayuda de un mortero y pilón.

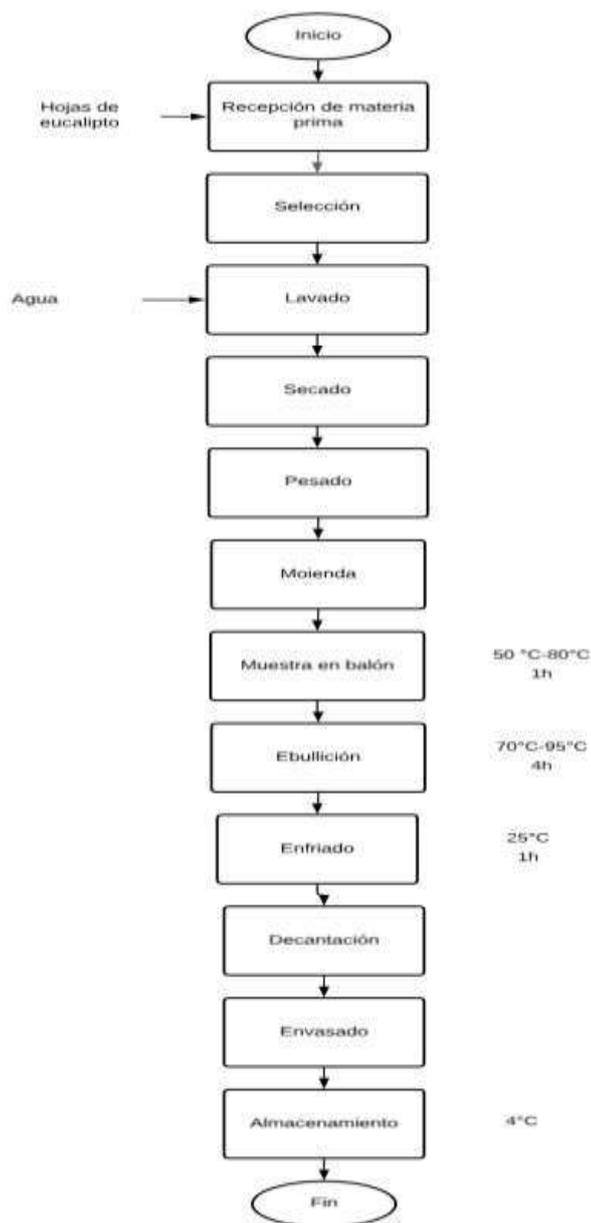
Pesado: Se pesó la pectina para visualizar la cantidad de gramos obtenidos en el proceso.

Envasado y almacenamiento: Posteriormente a la molienda, se almacenó la pectina en fundas plásticas de cierre hermético para evitar presencia de humedad en el producto. El almacenamiento fue a temperatura ambiente en un lugar fresco.

3.2.5.2.2. Proceso de obtención de aceite esencial de eucalipto.

Figura 4.

Flujograma del proceso para obtención aceite esencial de eucalipto.



Elaborado por: La Autora, 2024

Descripción del proceso

Recepción de materia prima: En esta etapa se procedió a identificar la cantidad de materia prima a usar para la obtención de aceite esencial de eucalipto.

Selección: Se procedió a identificar y seleccionar las hojas de eucalipto que no presenten daño físico u presencia de posible crecimiento fúngico.

Lavado: Luego, paso por un lavado superficial con agua por inmersión en un recipiente para eliminar posibles restos de suciedad y basura presentes en la cantidad de hojas de eucalipto obtenidas.

Secado: Pasó por un proceso de secado en donde fue necesario utilizar un paño extendido en una superficie limpia para eliminar el agua contenida del lavado.

Pesado: Se pesó todas las hojas de eucalipto obtenidas después de la selección, lavado y secado.

Molienda: Se molió un poco las hojas para mayor facilidad en el proceso de extracción. Además, se añadió 500 mL para un mayor concentrado de la molienda.

Muestra en balón: Se colocó la muestra en un balón con la muestra previamente molida para luego, encender el equipo y abrir la llave del agua adaptada al refrigerante de laboratorio y se colocó a 50 °C por el tiempo de media hora. Transcurrido este tiempo se subió la temperatura a 80°C hasta que empieza a ebullición.

Ebullición: Esta etapa se manejó entre temperaturas de 70 °C a 95 °C durante 4 horas, manejando el control de temperatura por la cantidad de muestra en disolución.

Enfriado: Se dejó enfriar a temperatura ambiente 25 °C por una hora el balón junto con la extracción de aceite esencial para no causar daños.

Decantación: Proceso fundamental para la separación de la mezcla generada, donde se usó la cantidad en ml de muestra de aceite esencial con agua y se agitó. Luego, se agregó 1 mL de éter etílico a la muestra en el tubo de ensayo y se agitó nuevamente para separar el agua del aceite esencial. Como resultado de esta etapa, se logró obtener el aceite esencial de eucalipto

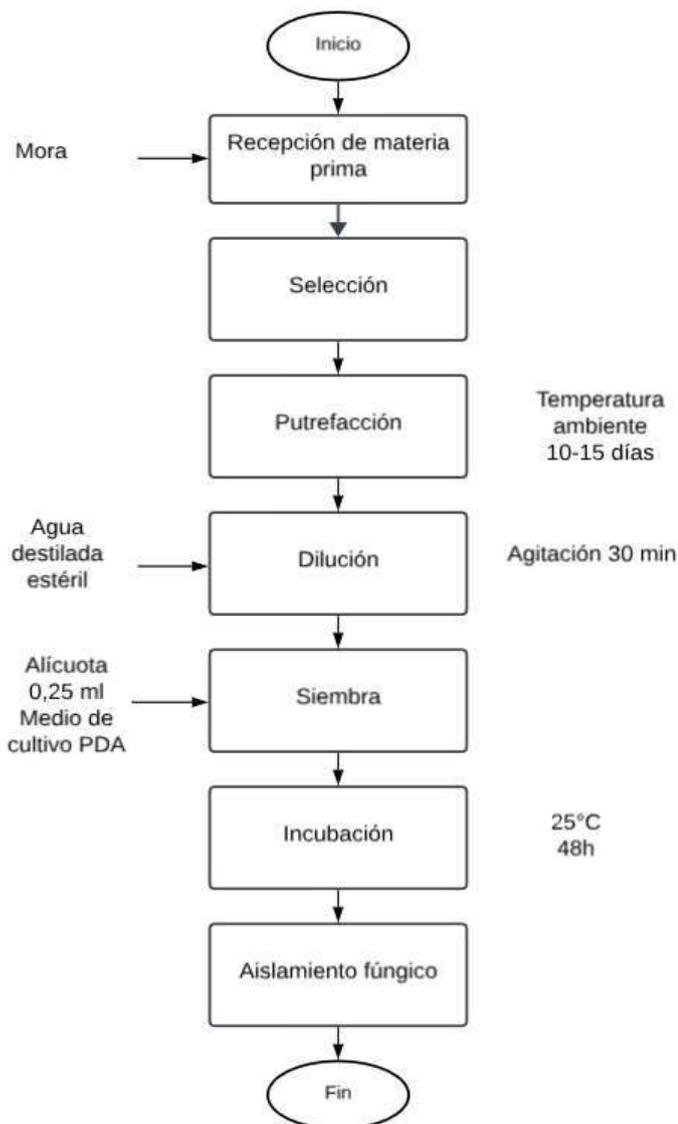
Envasado: Se envasó en frascos ámbar de 30 mL.

Almacenamiento: Luego del envasado, se procedió a almacenar el frasco ámbar con aceite esencial de eucalipto en un sitio donde no haya presencia de luz solar y que este a temperatura ambiente o a refrigeración en 4 °C.

3.2.5.2.3. Proceso de aislamiento de cepas de *Fusarium spp* y *Penicillium spp*.

Figura 5.

Flujograma del proceso para aislamiento de cepas de *Fusarium spp* y *Penicillium spp* en moras.



Elaborado por: La Autora, 2024

Descripción del proceso

Recepción de materia prima: Se procedió al Ingreso de materia prima en estudio (mora) para el proceso de aislamiento de cepas de hongos presentes en el proceso de postcosecha.

Selección: Se seleccionó la cantidad de moras a utilizar para el proceso de putrefacción para observar presencia de hongos tales como *Penicillium spp* y *Fusarium spp*.

Putrefacción: Esta etapa conllevó a un proceso a temperatura ambiente por un lapso de entre 10 a 15 días para presenciar un proceso de putrefacción más rápida.

Diluciones: Según Chavez-Diaz et al. (2019) mencionan que, luego de obtener la muestra del proceso de putrefacción, se colocaron las muestras con presencia de hongos junto con agua destilada estéril en erlenmeyers, los cuales fueron agitados continuamente por 30 minutos.

Siembra: De cada una de las diluciones se tomó una alícuota de 0,25 mL para depositarse en placas Petri con el medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA)+antibiótico (Amfotericina). Cada alícuota se extendió sobre la superficie del medio usando aplicadores estériles con cabeza de algodón. Además, se aplicó antifúngico respectivo a otros hongos menos para inhibir el crecimiento de *Penicillium spp* y *Fusarium spp*.

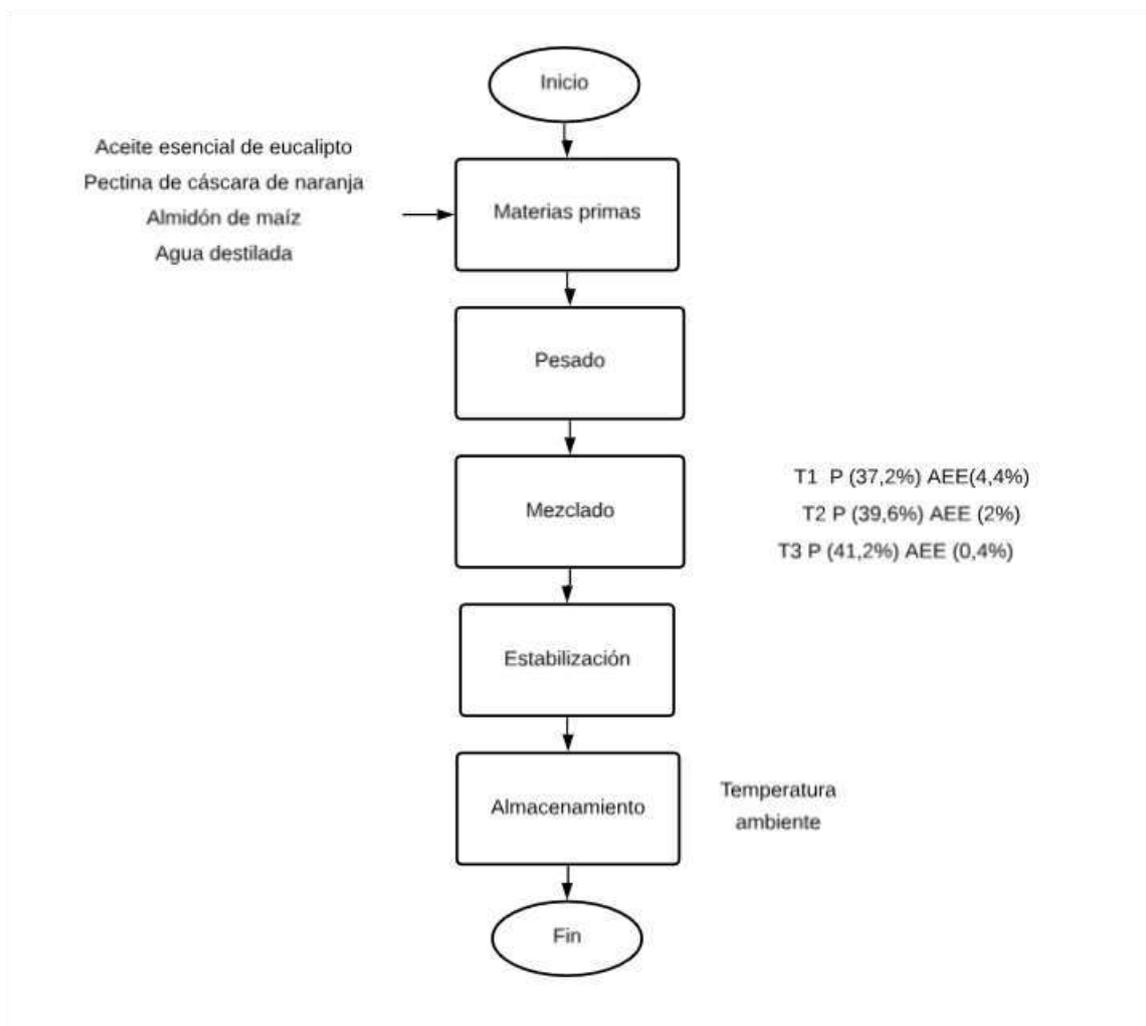
Incubación: En este proceso se centró en aislar las placas Petri con las siembras en una incubadora a 25 °C, en donde, según estudios realizados por Valencia, Guevara, Páez y Vilaplana (2016) después de un lapso de 48 horas se logró observar la presencia de hongos.

Aislamiento fúngico: Luego de presenciar el crecimiento fúngico, se aisló las cepas de los hongos mencionados en el estudio para su previa aplicación en la biopelícula.

3.2.5.2.4. Proceso de obtención de biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto.

Figura 6.

Flujograma del proceso para obtención de biopelícula a base de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto.



Elaborado por: La Autora, 2024

Descripción del proceso

Materias primas: Se realizó el ingreso de materias primas como la pectina de cáscara de naranja, aceite esencial de eucalipto, agua destilada y almidón de maíz.

Pesado: Proceso en donde se pesó cada materia prima para conocer el peso planteado en los tratamientos.

Mezclado: En el mezclado, se integraron los porcentajes referencial de cada tratamiento (T1, T2 y T3) en base a las materias primas como aceite esencial de eucalipto, almidón de maíz, pectina de cáscara de naranja y agua destilada. Con ayuda de un vaso de precipitación de 500 mL se añadió cada insumo. Por cada adición de materias primas se agitó a 500 rpm por 3 minutos

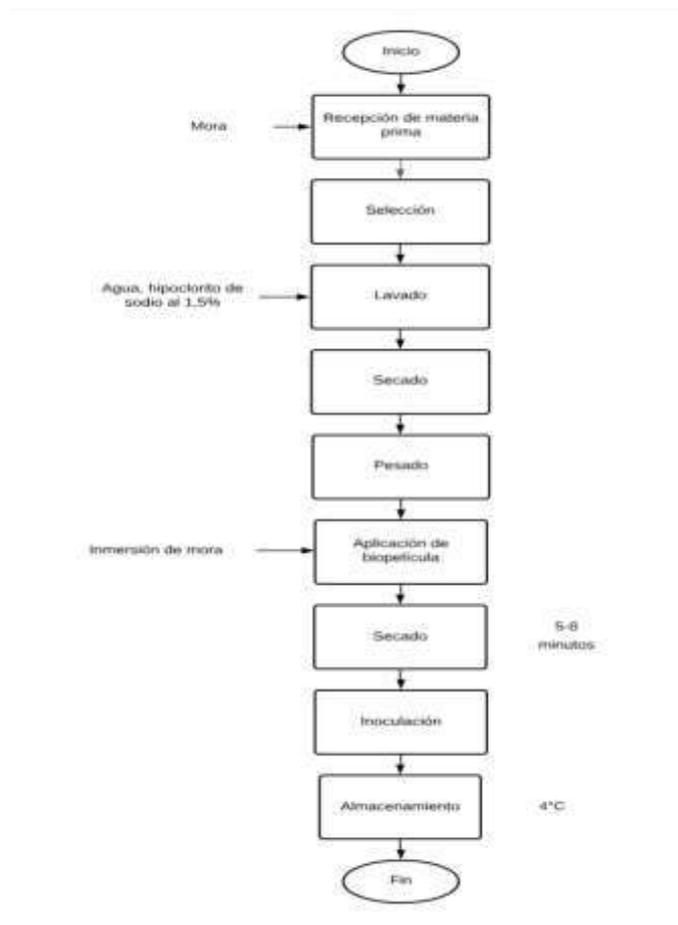
Estabilización: Esta etapa conllevó a una mejor homogenización e integración de los insumos previamente mezclados en el paso anterior.

Almacenamiento: La biopelícula tipo cobertura a base de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto se almacenó a temperatura ambiente en un ambiente cerrado hasta uso previo en las moras.

3.2.5.2.5. Proceso de aplicación de biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto.

Figura 7.

Flujograma del proceso para aplicación de biopelícula a base de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto.



Elaborado por: La Autora, 2024

Descripción del proceso

Recepción de materia prima: En esta etapa se procedió a identificar la cantidad de materia prima a usar como base para el uso de una biopelícula. Como materia prima de uso en el estudio fue la mora (*Rubus glaucus*).

Selección: Se identificó la cantidad de materia prima apta para la aplicación de una biopelícula. Debe cumplir con parámetros que muestren características propias de la mora (color, tamaño, entre otros).

Lavado: Posteriormente pasaron por un lavado agua y desinfección con solución de hipoclorito de sodio al 1,5 % por inmersión en un recipiente. Este proceso es fundamental para eliminar restos de basura u posibles microorganismos.

Secado: Pasaron por un proceso de secado en donde se utilizó un paño extendido en una superficie plana y limpia que absorba toda la cantidad de agua que presenta la mora después del lavado.

Pesado: Se pesaron las moras.

Aplicación de biopelícula: Se aplicó la técnica de inmersión de la materia prima, en este caso las moras, en la mezcla preparada con diferentes formulaciones.

Secado: Las moras previamente cubiertas de la biopelícula se la debe dejar escurrir en rejillas de acero inoxidable y malla plástica que permita un mejor proceso de oreado.

Inoculación: Las esporas de los hongos previamente aislados se esparcieron encima de la biopelícula para realizar el estudio del proceso de actividad antifúngica de la biopelícula en presencia de hongos.

Almacenamiento: Las moras con una biopelícula tipo cobertura a base de pectina de cáscara de naranja y aceite de eucalipto fueron almacenadas a temperatura ambiente en un ambiente cerrado para observación de capacidad fúngica.

3.2.5.2.6. Evaluación de rendimiento

Según los autores Lucero, Sampedro, Guzmán y Ayala (2024) en el artículo científico denominado “Caracterización de pectina obtenida a partir de cáscaras de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*)” mencionan la formulación acorde para la determinación del rendimiento de extracción de pectina proveniente de cáscaras de frutas.

Por lo cual, es la siguiente:

$$\%Rendimiento = \frac{pectina\ seca\ (g)}{peso\ promedio\ de\ cáscara\ de\ naranja} \times 100$$

Por otro lado, para evaluar el rendimiento del proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto, los autores Sigüencia y Saritama (2022) enfocan en su proyecto la fórmula para calcular en base al resultado del proceso y los gramos usados para el proceso de destilación por arrastre de vapor.

$$\%Rendimiento = \frac{M1\ (Resultado\ obtenido)}{M2\ (gramos\ de\ materia\ prima\ a\ utilizar)} \times 100$$

Donde:

M1= Masa o resultado final de aceite esencial expresada en gramos.

M2= Masa inicial de materia prima vegetal expresado en gramos.

100 Factor matemático.

3.2.5.2.7. Determinación de pH

Para el desarrollo de la biopelícula es fundamental llevar un control del pH para inhibir o contrarrestar el crecimiento fúngico de hongos en la materia prima. Los hongos como *Fusarium spp* (2 a 9) y *Penicillium spp* (3,5-10) crecen en alimentos con un pH de valores intermedios entre 2 a 10 (ácido a alcalino), por lo que es necesario verificar el pH de la biopelícula, la cual presentó un valor entre 8 y 9 (alcalino) para un manejo óptimo de esporas de los hongos. Además, dentro de este proceso fungicida la presencia del aceite esencial de eucalipto es el factor fundamental como inhibidor de las cepas mencionadas con anterioridad.

Antes de medir el pH con el potenciómetro, es necesario aplicar soluciones de calibración denominadas buffers, las cuales tendrán valores de 4.0, 7.0 y 10.0. Las soluciones buffer se aplican al pH metro, específicamente al electrodo (mantenido con KCl y enjuagada con agua destilada por cada proceso de calibración).

3.2.5.2.8. Determinación de °Brix

Con respecto a la determinación de grados Brix pertenecientes a la materia prima y a la biopelícula, el proceso se efectuó mediante el uso de un equipo denominado refractómetro. Al evaluar este parámetro, se controló el contenido de sólidos solubles que puede contener la fruta y que puedan provocar una alteración al proceso de aplicación de la biopelícula.

El proceso trató sobre extraer gotas del fruto tanto en el inicio del proceso como en las partes intermedias del proceso de evaluación fúngico.

3.2.5.2.9. Evaluación de crecimiento fúngico

El proceso conllevó a una evaluación por un tiempo enfocado de entre 3 a 10 días desde la aplicación de la biopelícula en la mora, teniendo presente las variables de ph, grados brix, temperatura y el desarrollo de los hongos como *Penicillium spp* y *Fusarium spp* por la técnica de dilución y siembra en placa.

Según los autores Álvarez, Fermín, García, Peña y Martínez (2013) muestran la determinación del tiempo de vida útil microbiológico por medio de la evaluación visual del crecimiento fúngico en base a los días designados para la visualización del efecto del recubrimiento en la fruta. Como una base importante para la determinación de vida útil ante microorganismos, establecieron la siguiente fórmula:

$$T_{vu} = \frac{\ln \frac{M_t}{M_o}}{K}$$

En donde cada abreviatura considera lo siguiente:

Tvu= Tiempo de vida útil (días)

Mo= Recuento inicial de microorganismo

Mt= = recuento de bacterias considerado como un riesgo alimentario

K= constante

3.2.6 Análisis estadístico

El análisis estadístico implementado en el proyecto fue de un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un valor de significancia del 0,05%, conformado por tres tratamientos, de los cuales se midió la diferencia significativa entre los valores obtenidos de la variación de concentración de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto en una biopelícula con efecto antifúngico. Además, dentro del estudio se aplicó la prueba de Tukey al 5%. En caso de no cumplir con los supuestos de la varianza (normalidad: Prueba de Shapiro Wilk, y homocedasticidad: Prueba de Levene) se aplicaron los análogos no paramétricos Kruskall Wallis y para la comparación entre tratamientos Dunn-Bonferroni. Todos los análisis se ejecutaron en el software Rstudio.

Tabla 4.
Análisis de varianza de tratamientos

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos (t-1)	4 -1=3
Repeticiones (N-t)	20-4= 16
Total (N-1)	20-1 = 19

Nota: Prueba estadística para evaluar variación y grados de libertad de tratamientos.

Elaborado por: La Autora, 2024

H0: Ninguna combinación de las biopelículas de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y aceite de eucalipto (*Eucalyptus*) tuvo efecto antifúngico.

H1: Al menos una combinación de las biopelículas de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) y aceite de eucalipto (*Eucalyptus*) tuvo efecto antifúngico.

4. RESULTADOS

4.1 Evaluación del rendimiento del proceso de extracción de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*) por hidrólisis ácida y aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus*) por hidrodestilación

4.1.1 Rendimiento de pectina de cáscara de naranja por método de hidrólisis ácida

Durante el proceso de obtención de pectina a partir de cáscara de naranja, se consideró el nivel de madurez de la fruta como un factor que influye en los resultados finales. Este análisis mostró variaciones en los gramos obtenidos de pectina al finalizar el proceso. En el caso de las cáscaras de naranja verde, se realizaron tres repeticiones del procedimiento con diferentes cantidades de cáscara: en la primera repetición, con 200 gramos, se obtuvo un rendimiento de 3 gramos de pectina; en la segunda, con 250 gramos, se obtuvieron 5,9 gramos; y en la tercera, con 502 gramos, se alcanzaron 17 gramos, dando una sumatoria total de 25,9 gramos de pectina extraída.

Por otro lado, para las cáscaras de naranja madura, también se llevaron a cabo tres repeticiones del procedimiento. En la primera repetición, utilizando 200 gramos de cáscara, se obtuvieron 2 gramos de pectina; en la segunda, con 250 gramos, se obtuvieron 5,7 gramos; y en la tercera, con 300 gramos, se alcanzaron 7,5 gramos. En total, se extrajeron 15,2 gramos de pectina a partir de estas cáscaras.

El rendimiento de extracción de pectina fue calculado utilizando una fórmula específica para este propósito según se indica en los anexos donde se evidenció que, al usar en mayoría la cáscara de naranja verde, existió un mayor rendimiento de obtención de pectina con un 8,16 % mientras que, al ser usado fruta de mayor maduración, el rendimiento fue bajo con un valor de 6,08 %. Los porcentajes fueron evaluados mediante el programa R Studio, donde se calculó la desviación estándar de los valores obtenidos correspondientes al rendimiento (ver Anexos). El programa mostró como resultado que, la desviación estándar que existe entre los dos valores de rendimiento de pectina de cáscara de naranja (6,08 % y 8,16 %) es de $\pm 1,47$ (desviación estándar en porcentaje es de 20,66 %), lo que indica una variación moderada en el rendimiento de extracción de pectina proveniente de

cáscara de naranja verde y madura, reflejando la notable diferencia intrínseca entre la composición y estructura de las cáscaras de naranja según el estado de madurez (verde y amarilla), siendo de influencia en la eficiencia del rendimiento de extracción de pectina.

4.1.2 Rendimiento de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación

Durante el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto mediante hidrodestilación, se llevó a cabo una etapa de licuado para optimizar el rendimiento y obtener un extracto más puro, dadas las características específicas de las hojas de eucalipto (largas, estrechas, lanceoladas, con textura gruesa y ramificaciones rugosas). El extracto licuado (agua y hojas de eucalipto) se transfirió a un balón de cristal de 500 mL con ayuda de un embudo. Este procedimiento se realizó durante varias jornadas de 4 a 5 horas cada día, utilizando cantidades variables de hojas de eucalipto en cada repetición del proceso.

En la primera repetición, se utilizaron 60 gramos de hojas (ver anexos), obteniendo 0,5 mL de aceite esencial, lo que resultó en un rendimiento del 0,83 %. En la segunda repetición, con 100 gramos de hojas, se extrajeron 0,82 mL, alcanzando un rendimiento del 0,82 %. Las repeticiones tres y cuatro emplearon 150 y 100 gramos, respectivamente, con rendimientos idénticos del 0,9 %, a pesar de la diferencia en la cantidad de hojas utilizadas. La quinta repetición, en la que se utilizaron 550 gramos de hojas, generó 5,65 mL de aceite esencial, alcanzando el rendimiento más alto del proceso con un 1,21 %. Finalmente, en la sexta repetición, con 150 gramos de hojas, se obtuvo 1,45 mL de aceite, lo que resultó en un rendimiento del 0,96 %.

Mediante el programa R Studio, se analizaron los datos de rendimiento de extracción de aceite esencial de eucalipto por la técnica de hidrodestilación, obteniendo como valor promedio del rendimiento de 0.944 %. La desviación estándar calculada para los datos de las seis repeticiones es de 0.16, representando una viabilidad porcentual de 16.86% en relación con el promedio. Con los datos recolectados se indica que, aunque el rendimiento es notablemente bajo, existe una variabilidad en los resultados, lo que influye en la eficiencia y consistencia del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto por la técnica de hidrodestilación acoplada con Trampa de Clevenger.

4.2 Evaluación del efecto antifúngico de una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto *in vitro* frente a hongos

Se elaboraron tres formulaciones de tratamientos con diferentes concentraciones de aceite esencial de eucalipto: T1 con la mayor concentración, T2 con concentración intermedia y T3 con la más baja. Cada tratamiento se aplicó en cinco repeticiones en placas de Compact Dry Agar PDA, obteniendo un total de 16 placas, incluyendo un Testigo sin aceite esencial. Luego de aplicar la biopelícula en las placas, se procedió a aplicar las cepas de *Fusarium spp* y *Penicillium spp* (Anexo 8) en un ambiente estéril con aza desechable que permita la dispersión uniforme de la muestra de dilución de las cepas fúngicas (1 mL de dilución proveniente de una dilución seriada de 1×10^8 UFC/mL de la suspensión madre y diluyente, en este caso, agua destilada). Una vez finalizado el proceso de aplicación de hongos en placas con biopelícula, fueron llevadas a incubar a 25 °C durante 48 horas.

El análisis del conteo de colonias de hongos en moras con recubrimiento antifúngico se realizó en cuatro tiempos de evaluación expresados como Día 0, Día 3, Día 7 y Día 10) y tres tratamientos con distintas concentraciones de aceite esencial de eucalipto representados como T1, T2 y T3, además de un testigo sin tratamiento. Los resultados registrados en los anexos muestran que T1, con la mayor concentración de aceite esencial, presentó un crecimiento reducido de colonias, alcanzando un promedio de 7 colonias en el Día 10, evidenciando una fuerte actividad antifúngica. Por otro lado, T2, con una concentración intermedia, limitó también el crecimiento de colonias, con un promedio de 6 colonias en el Día 10. En contraste, T3, con la concentración más baja, mostró un crecimiento mayor, alcanzando un promedio de 9 colonias para el mismo día. Finalmente, el testigo, sin tratamiento antifúngico, registró el mayor crecimiento, con un promedio de 15 colonias al concluir el periodo, confirmando la acción inhibidora del aceite esencial en todos los tratamientos.

En la Tabla 5, se observa el análisis estadístico de las medias globales de colonias por tratamiento, se evidencia una diferencia significativa en la efectividad antifúngica de cada concentración. El Tratamiento 1, con un promedio de 2.2 colonias y la letra "a", se identifica como el tratamiento más efectivo en la reducción de hongos. Por su parte el Tratamiento 2, con un promedio de 3.25 colonias y la etiqueta "ab", tiene una efectividad intermedia, no significativamente diferente de

T1, pero menos efectiva que T3. El tratamiento 3, con un promedio de 4.1 colonias y etiquetado con "b", muestra la menor reducción de hongos entre los tratamientos con aceite. El p-valor de 0.001 señala una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos, indicando que las variaciones en las concentraciones de aceite esencial afectan significativamente la proliferación de hongos en las placas.

Tabla 5

Resultado de las diferencias significativas entre el conteo de colonias (UFC/mL) en moras con biopelícula antifúngica en los días 0, 3, 7 y 10

Tratamientos	Colonias
T1	2.20 a
T2	3.25 ab
T3	4.1 b
p-valor	0.001

Letras desiguales en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos según la prueba de Conover ($p < 0.05$).

Elaborado por: La Autora

Por tanto, el tratamiento T1, con la mayor concentración de aceite esencial de eucalipto, mostró el mejor desempeño antifúngico durante todo el período de evaluación, manteniendo un crecimiento fúngico bajo en comparación con T2, T3 y el Testigo.

4.3 Evaluación del efecto antifúngico y vida útil de moras cubiertas con una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto

Se procedió a realizar las tres formulaciones de biopelícula T1 (P = 0,8 % y AEE= 4,4 %), T2(P = 2,4 % y AEE= 2 %), T3 (P = 4 y AEE= 0,4 %) y Tratamiento Testigo (sin adición de Aceite Esencial de Eucalipto). La vida útil se evaluó de forma cuantitativa mediante recuento en placa para Hongos y Levaduras. Para este estudio se consideró un periodo de evaluación y muestreo para los días 0, 3, 7 y 10 evaluando el conteo que presentaron las moras con grado de madurez 4 en su proceso natural de degradación. Para establecer la vida útil de la biopelícula, se utilizó Petrifilm™ Placas Rápidas Hongos y Levaduras 6417 con resultados en 3 - 5 días. El tiempo de vida evaluado en la metodología es de 0, 3, 7 y 10 días a temperatura ambiente (25 - 28 °C).

El proceso conllevó a tomar 1 gramo de muestra de mora con biopelícula antifúngica + 9 mL de agua destilada para obtener una dilución al 1×10^1 . Al obtener

la dilución, se la agita suavemente para la mezcla de la materia vegetal con el medio diluyendo para luego, con una micropipeta de 1000 uL (1 mL), se extrae 1 mL de dilución para ser aplicado en Petrifilm™ Placas Rápidas Hongos y Levaduras 6417 e incubar a 25 °C. Por otro lado, para obtener los datos de pH y grados Brix, la muestra triturada se le adiciono 9 mL de agua destilada para una mayor facilidad en la toma de resultados de los parámetros mencionados con anterioridad y se utilizaron como instrumentos para medición: Refractómetro para grados Brix y pH-metro de uso alimentario.

Tabla 6.

Resultados obtenidos a partir de conteo de colonias en moras recubiertas con biopelícula antifúngica

Tratamientos	Día 0 UFC/mL	Día 3 UFC/mL	Día 7 UFC/mL	Día 10 UFC/mL
T1	76	58	43	17.5
T2	20	46	32	28
T3	7	34	37	23.5
Testigo	30	59	63	63
Error experimental (EE)	0.35	0.70	0.36	0.03

Diferencias significativas entre tratamientos según prueba de Conover ($p < 0.05$).

Elaborado por: La Autora, 2024

En los resultados de la Tabla 6 de la evaluación del efecto antifúngico de los tratamientos en moras, se observa que, en general, los tratamientos 1, 2 y 3 fueron más efectivos que el tratamiento testigo al final del periodo. En el Día 0, los tratamientos mostraron los siguientes conteos de colonias: tratamiento 1 con 76 colonias, tratamiento 2 con 20 colonias, tratamiento 3 con 7 colonias y el testigo con 30 colonias, sin diferencias significativas entre los tratamientos. Aunque los tratamientos 1 y 2 tenían un conteo de colonias más alto en comparación con el tratamiento 3, no hubo diferencias significativas, indicando que todos los tratamientos estaban comenzando de manera similar.

Para el Día 3, los conteos fueron tratamiento 1 con 58 colonias, tratamiento 2 con 46 colonias, tratamiento 3 con 34 colonias y el testigo con 59 colonias. Aunque no se observaron diferencias significativas, se pudo notar una ligera disminución en los conteos de colonias en los tratamientos 2 y 3, mientras que el tratamiento 1 continuó mostrando una inhibición efectiva, con un conteo

relativamente bajo de colonias, sin cambios significativos con respecto al Día 0. En el Día 7, la tendencia de inhibición continuó, con tratamiento 1 con 43 colonias, tratamiento 2 con 32 colonias, tratamiento 3 con 37 colonias y el testigo con 63 colonias. En este punto, el tratamiento 1 mostró la menor cantidad de colonias, lo que sugiere que su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras era notablemente eficaz, siendo superior a los tratamientos 2 y 3, que aún presentaban un número considerable de colonias.

Finalmente, en el Día 10, el tratamiento 1 mostró 17.5 colonias, el tratamiento 2 presentó 28 colonias, el tratamiento 3 presentó 23.5 colonias, mientras que el tratamiento testigo, con 63 colonias. Estos resultados indican que, a medida que transcurrió el tiempo, el tratamiento 1 demostró una acción inhibidora persistente y efectiva, reduciendo considerablemente el número de colonias en comparación con el testigo.

Tabla 7

Análisis de grados Brix en moras recubiertas con biopelícula antifúngica

Tratamientos	Día 0	Día 3	Día 7	Día 10
T1	1.020	1.015	1.022	1.026
T2	1.010	1.018	1.011	1.018
T3	1.020	1.025	1.015	1.026
Testigo	1.020	1.021	1.017	1.020
Error experimental (EE)	0.29	0.06	0.17	0.05

No existen diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Elaborado por: La Autora, 2024

En el análisis de los grados Brix a lo largo de los días, los resultados muestran que todos los tratamientos mantuvieron niveles relativamente estables de Brix, lo que indica una buena calidad del producto. En el Día 0, los tratamientos 1, 3 y el testigo presentaron valores de 1.020, mientras que el tratamiento 2 mostró un leve descenso a 1.010, sin diferencias significativas. En el Día 3, el tratamiento 1 disminuyó ligeramente a 1.015, el tratamiento 2 subió a 1.018, el tratamiento 3 aumentó a 1.025, y el testigo se mantuvo en 1.021. A partir de este día, el tratamiento 3 mostró un aumento significativo en comparación con los otros tratamientos y el testigo. En el Día 7, el tratamiento 1 volvió a 1.022, el tratamiento 2 bajó a 1.011, el tratamiento 3 presentó una disminución a 1.015, mientras que el testigo se mantuvo en 1.017, sin diferencias significativas entre ellos.

Finalmente, en el Día 10, el tratamiento 1 mostró un ligero aumento a 1.026, el tratamiento 2 se mantuvo en 1.018, el tratamiento 3 subió nuevamente a 1.026, y el testigo se mantuvo en 1.020. En resumen, aunque el tratamiento 3 logró un incremento en los grados Brix en el Día 3, los valores de Brix en todos los tratamientos se mantuvieron dentro de rangos similares y estables a lo largo del tiempo, lo que sugiere que todos los tratamientos lograron preservar la calidad del producto a pesar de las variaciones en el conteo de colonias.

Tabla 8.

Control del pH en moras recubiertas con biopelícula antifúngica

Tratamientos	Día 0	Día 3	Día 7	Día 10
T1	1.7	1.7	1.6	1.7
T2	1.7	1.7	1.8	1.8
T3	1.8	1.6	1.8	1.8
Testigo	1.9	1.8	1.7	1.9
Error experimental (EE)	0.05	0.05	0.08	0.04

No existen diferencias significativas entre los tratamientos según prueba de Tukey ($p < 0.05$).

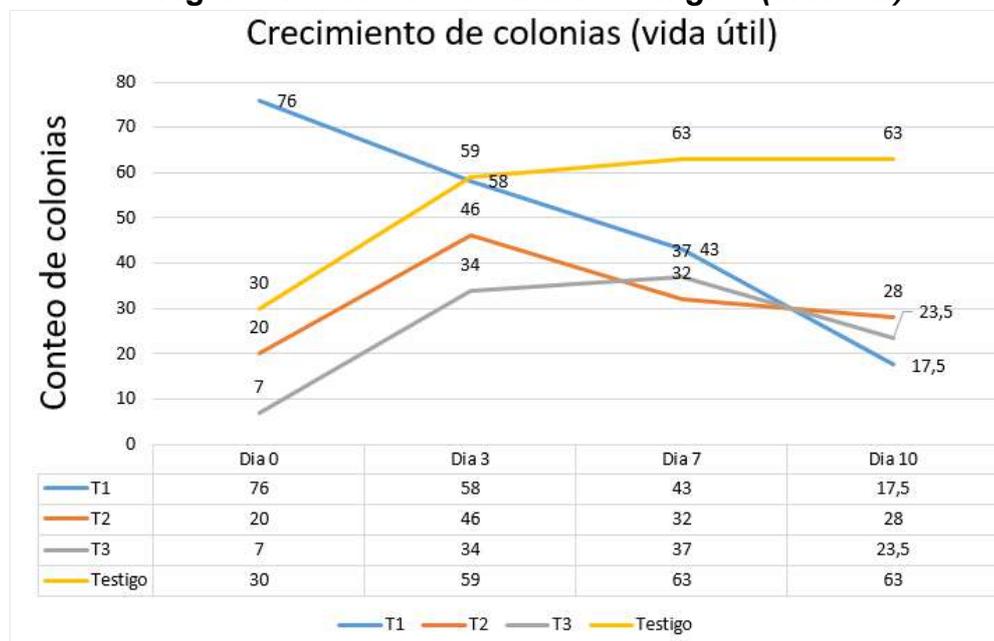
Elaborado por: La Autora, 2024

En el análisis del control de pH a lo largo de los días, los resultados revelan que todos los tratamientos mantuvieron un pH relativamente constante, indicando un entorno estable durante el experimento. En el Día 0, los tratamientos 1 y 2 presentaron un pH de 1.7, el tratamiento 3 mostró un pH de 1.8, y el testigo tuvo un pH de 1.9. sin diferencias significativas. Durante el Día 3, el pH de los tratamientos 1 y 2 se mantuvo en 1.7, mientras que el tratamiento 3 bajó a 1.6, y el testigo se situó en 1.8. En el Día 7, el tratamiento 1 se mantuvo en 1.6, el tratamiento 2 aumentó a 1.8, el tratamiento 3 se mantuvo en 1.8, y el testigo disminuyó a 1.7. Por último, en el Día 10, los tratamientos 1, 2 y 3 tuvieron pH de 1.7, 1.8, y 1.8, respectivamente, mientras que el testigo se mantuvo en 1.9. En conclusión, los tratamientos mostraron una estabilidad notable en el pH a lo largo del tiempo, sin diferencias significativas entre ellos ni en comparación con el testigo, lo que sugiere que todos los tratamientos lograron mantener un entorno ácido constante que puede ser favorable para la inhibición del crecimiento de colonias.

En base a los datos recopilados sobre crecimiento fúngico con respecto a la vida útil, se realizó una sumatoria de las repeticiones con respecto a cada uno de los tratamientos y se obtuvo una curva que muestra que el Tratamiento 2 mostró un

alce en el crecimiento de colonias, específicamente en el día 0, día 3 y día 7 a comparación de los demás tratamientos. En cuanto a los demás tratamientos, existe una diferencia entre los valores obtenidos del conteo.

Figura 8. Curva de crecimiento fúngico (vida útil)



Elaborado por: La Autora, 2024

La Figura 8 muestra el crecimiento de colonias de hongos y levaduras en moras tratadas con los tratamientos T1, T2, T3 y el tratamiento control (testigo), evaluados en los días 0, 3, 7 y 10. En el Día 0, T1 presentó el mayor número de colonias con 76, seguido por T2 con 20, T3 con 7 y el testigo con 30 colonias, sin diferencias significativas entre los tratamientos. En el Día 3, T1 experimentó una ligera disminución con 58 colonias, mientras que T2 y T3 se mantuvieron con 46 y 34 colonias, respectivamente, y el testigo alcanzó 59. Para el Día 7, T1 continuó con su descenso, llegando a 43 colonias, mientras que T2 y T3 mostraron 32 y 37 colonias, y el testigo se mantuvo en 63.

En el Día 10, T1 mostró una significativa reducción en el número de colonias, con solo 17.5, lo que evidenció su efecto inhibitor más efectivo a largo plazo. En comparación, T2 y T3 presentaron 28 y 23.5 colonias, respectivamente, mientras que el testigo mantuvo un alto número con 63 colonias. Estos resultados destacan que, el T1 mostró un control más sostenido del crecimiento fúngico, posicionándose como el tratamiento más efectivo para prolongar la vida útil de las moras en el experimento.

5. DISCUSIÓN

La extracción de pectina de cáscara de naranja mediante hidrólisis ácida mostró mayor eficiencia, con un rendimiento de 8.16 % en cáscaras verdes y 6.08 % en cáscaras maduras, comparado con la extracción de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación, que tuvo un bajo rendimiento promedio de 0.944 %. Por su parte Ramírez, González, y Guerrero (2020) lograron extraer pectina de residuos de cáscaras de naranja con una concentración de 35,83 %, utilizando hidrólisis ácida con HCl. Además, los autores Toyo-Díaz, Toyo-Fernández y Moreno (2023) demostraron la obtención efectiva de pectina mediante hidrólisis ácida, logrando un rendimiento del 13,87 % a partir de cáscara de cambur. Las diferencias en los rendimientos de pectina se deben principalmente a las características de la fruta utilizada como materia prima. En el caso de las cáscaras de naranja, el rendimiento de pectina fue mayor en las cáscaras verdes en comparación con las maduras, lo que sugiere que la madurez de la fruta influye en la cantidad de pectina disponible, ya que los polisacáridos estructurales disminuyen con la maduración (Ramírez-Gavidia et al., 2020). En cambio, las cáscaras de cambur mostraron un rendimiento intermedio, lo que evidencia que las características estructurales y el contenido de pectina de cada fruta varían considerablemente, afectando los resultados del proceso de extracción.

Continuando con la investigación, se aplicaron biopelículas con diferentes concentraciones de aceite esencial de eucalipto en placas con cepas de *Fusarium spp* y *Penicillium spp* donde el tratamiento T1, que contenía la mayor concentración de aceite esencial, mostró un crecimiento fúngico promedio de 0.6 colonias al Día 0, 0.8 colonias al Día 3, 2.6 colonias al Día 7, y 4.8 colonias al Día 10 siendo la formulación más efectiva para inhibir el crecimiento de hongos a lo largo del tiempo. Peralta et al. (2024) evaluaron el efecto inhibitorio del aceite esencial de eucalipto y cáscara de naranja sobre *Fusarium spp*. en tubérculos de papa almacenados, encontrando que la concentración del 50 % de eucalipto fue la más efectiva, y la combinación de eucalipto al 50 % con cáscara de naranja al 0 % logró el mayor control sobre *Fusarium spp*. Rodríguez (2021) aplicó biopelículas con aceite esencial de oliva en manzanas y observó que una concentración del 0.44 % fue la más efectiva para la conservación, reduciendo la presencia de hongos como *Aspergillus* en comparación con otros aceites esenciales.

Al analizar los datos, se observa que las propiedades químicas de los aceites esenciales influyen en su capacidad para inhibir hongos de diversas maneras. El aceite esencial de eucalipto, con su alto contenido de eucaliptol, demuestra una notable actividad antimicrobiana al alterar la permeabilidad de las membranas celulares en hongos como *Fusarium* y *Penicillium*, siendo más eficaz en su control. En contraste, el aceite esencial de oliva, aunque efectivo contra *Aspergillus* en manzanas debido a sus fenoles y ácidos grasos, no alcanza el mismo nivel de eficacia que el eucalipto (Rodríguez, 2021). Estas diferencias en la eficacia se deben a las variaciones en los mecanismos de acción de los compuestos activos de cada aceite, que interactúan de forma distinta con los diversos tipos de hongos.

Por último, se evaluó el efecto antifúngico y la vida útil de moras cubiertas con una biopelícula de pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto. El tratamiento T1, que contenía la mayor concentración de aceite esencial de eucalipto, mostró el mejor resultado en términos de inhibición del crecimiento fúngico empezando con 76 colonias llegando a una disminución de 17,5 a los 10 días con grados Brix de las moras que variaron entre 1.033 y 1.020, y un pH que osciló entre 1.6 y 1.8. Por otro lado, León et al. (2022) elaboraron biopelículas mediante el método de moldeo con concentraciones de 4 % de almidón y aceites esenciales de orégano en 0 %, 1 % y 2.5 %. La actividad antimicrobiana de estas biopelículas mostró que el aceite esencial de orégano demostró un efecto inhibitorio significativo sobre *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* y *Escherichia coli*, mientras que no se observó inhibición sobre *Salmonella spp.* El pH de las frutas protegidas por las biopelículas varió entre 4.2 y 4.5. En el estudio de Jiménez, Cevallos y Taco (2024), sobre recubrimientos a base de almidón de yuca y aceite esencial de clavo de olor en aguacate Hass, se encontró que el tratamiento con un 0,06% de aceite esencial fue el más eficaz, presentando sólidos solubles de 6,13°Brix, pH de 6,50, y una desaceleración en el crecimiento de mohos y levaduras.

La biopelícula constituida por pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto destaca en eficacia debido a la sinergia entre el alto contenido de metabolitos activos en el eucalipto y la capacidad de la pectina para formar una barrera protectora eficaz. Esta combinación resulta más efectiva en la inhibición del crecimiento fúngico en moras en comparación con los aceites esenciales de limón y orégano utilizados en otros estudios (León et al., 2022). La mayor concentración

y diversidad de compuestos antimicrobianos en el eucalipto, junto con la acción formadora de película de la pectina, confiere a esta biopelícula una protección superior frente a hongos y bacterias, lo que la hace más eficaz en prolongar la vida útil del producto.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

El proceso de extracción de pectina de cáscara de naranja mediante hidrólisis ácida mostró una mayor eficiencia mientras que, la extracción de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación mostró una eficiencia menor. La pectina extraída de cáscaras verdes alcanzó un rendimiento de 8.16 %, mientras que las cáscaras maduras solo obtuvieron un 6.08%, evidenciando que la madurez de la fruta influye en la eficiencia del proceso. En contraste, la extracción de aceite esencial de eucalipto tuvo un rendimiento promedio bajo de 0.944 %.

El análisis de la efectividad antifúngica de las biopelículas elaboradas con pectina de cáscara de naranja y aceite esencial de eucalipto reveló que el tratamiento T1, con la mayor concentración de aceite esencial, fue el más eficaz para inhibir el crecimiento fúngico. A los 10 días, T1 mostró el menor crecimiento de colonias fúngicas, con un promedio de 4.8 colonias, en comparación con 6 colonias en T2 y 7.8 en T3. Este desempeño superior de T1 sugiere que la alta concentración de aceite esencial de eucalipto proporciona una protección más robusta contra la proliferación de hongos en moras. Los tratamientos con concentraciones más bajas (T2 y T3) mostraron un incremento progresivo en el crecimiento fúngico, indicando que la efectividad de la biopelícula disminuye con la reducción en la concentración de aceite esencial.

Al realizar la evaluación del efecto antifúngico y la vida útil de moras cubiertas con biopelícula de pectina de cáscara de naranja con diferentes concentraciones de aceite esencial de eucalipto, se encontró que la formulación T1 (4,4% de aceite esencial de eucalipto) resultó ser la más eficaz. T1 mantuvo las propiedades físico-químicas de las moras, como los grados Brix y el pH, de manera más estable a lo largo del tiempo, y mostró una menor proliferación de hongos en comparación con los otros tratamientos y el testigo. Esto indica que la biopelícula con mayor concentración de aceite esencial es la mejor opción para prolongar la vida útil de las moras y preservar su calidad.

6.2 Recomendaciones

El análisis de los datos permitió plantear las siguientes recomendaciones.

Es recomendable explorar un rango más amplio de concentraciones de aceite esencial de eucalipto y combinarlo con otros aditivos naturales. Esta estrategia permitirá identificar posibles sinergias que podrían mejorar la eficacia antifúngica y optimizar la preservación de las propiedades físico-químicas de las frutas. La experimentación con diferentes formulaciones puede ofrecer nuevas perspectivas sobre cómo mejorar la eficacia del recubrimiento, adaptándolo a diversas necesidades y tipos de frutos.

Además, se sugiere investigar cómo diferentes condiciones de almacenamiento, tales como variaciones de temperatura y humedad, afectan la efectividad de la biopelícula. Este enfoque permitirá entender mejor la durabilidad y el desempeño del recubrimiento en contextos prácticos y variados. Evaluar la biopelícula bajo estas condiciones proporcionará información valiosa sobre su capacidad para mantener la calidad y la vida útil de las frutas en condiciones de almacenamiento prolongado.

Finalmente, ampliar la investigación a una variedad más amplia de frutas y vegetales es crucial para validar la versatilidad de la biopelícula. Analizar su impacto en términos de vida útil, propiedades sensoriales y calidad general en diferentes productos permitirá adaptar y aplicar el recubrimiento en diversas cadenas de suministro. Este enfoque integral contribuirá a mejorar la adaptabilidad de la biopelícula y a confirmar su eficacia en un rango mayor de aplicaciones.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Amaya, S., y Sandoval Jaime, J. (2024). Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) como fungicida. [Tesis de grado. Universidad de América].
<https://revistas.upt.edu.pe/ojs/index.php/ingenieria/article/view/983>
- Andrade, G., y Sampedro, L. J. G. (2023). Diseño y evaluación de un recubrimiento comestible funcionalizado con compuestos activos, y pectina obtenida de la cáscara de cacao, para fines tecnológicos en la industria alimentaria. *Publicaciones e Investigación*, 17(4).
<https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/publicaciones-e-investigacion/article/view/7508>
- Álvarez, C., Fermín, N., García, J., Peña, E., y Martínez, A. (2013). Evaluación del efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible en melones (*Cucumis melo L., var. cantaloupe*) cortados y almacenados en refrigeración. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 25(2), 218-226.
<https://www.redalyc.org/pdf/4277/427739462012.pdf>
- Chavez-Diaz, I., Mena-Violante, H., Hernandez-Lauzardo, A., Oyoque-Salcedo, G., Oregel-Zamudio, E., y Angoa-Perez, V. (2019). Postharvest control of *Rhizopus stolonifer* on blackberry (*Rubus fruticosus*) by blackberry native crop bacteria. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, 51(2), 306-317.
<https://revistas.uncu.edu.ar/ojs/index.php/RFCA/article/view/2703/1962>
- Cancino, S. E., Escalante, G. O. C., y Ricketts, D. F. C. (2023). Un modelo Box Jenkins ARIMA para modelar y pronosticar la producción de mora de castilla

- en Colombia. *Económicas CUC*, 44(1), 69-82.
<https://revistascientificas.cuc.edu.co/economicascuc/article/view/4203>
- Fernández, P., Prieto, M., Fernández, P. S., López, M., y Álvarez, A. (2020). Biopelículas y persistencia microbiana en la industria alimentaria. *arbor*, 196(795), a538-a538.
<https://arbor.revistas.csic.es/index.php/arbor/article/view/2352>
- Forero, C., Alvarado, A., Ceballos, A., González, L., Linares, M., Castañeda, R., . . . Rodríguez, M. (2018). Evaluación de la capacidad patogénica de *Fusarium spp.* en modelos vegetal y murino. *Revista argentina de microbiología*, 90-96. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754117300962>
- Fu, Y., y Dudley, E. (2021). Antimicrobial-coated films as food packaging: A review. *Revisiones Exhaustivas en Ciencia de los Alimentos y Seguridad Alimentaria*, 20(4), 3404-34377. doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12769>
- Morales, P., Monteverde, E., y Cermeli, M. (2020). La citricultura venezolana en tiempos del Huanglongbing. Visión actual y retos futuros. *Agronomía Tropical*, 70, 1-31.
<http://publicaciones.inia.gob.ve/index.php/agronomiatropical/article/view/488>
- INEN. (2013). Control Microbiológico de los alimentos. Mohos y Levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad. Quito: Norma Técnica Ecuatoriana.
- INEN. (2015). Frutas Frescas. Mora. Requisitos. Quito: Norma Técnica Ecuatoriana.

- Jiménez, R., Cevallos, K., y Taco, J. (2024). Aplicación de recubrimientos a base de almidones y clavo de olor en aguacate *Hass*, Ecuador. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 31(1), 14-14. <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/article/view/2234>
- Ju, J., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., Qian, H., y Yao, W. (2019). Application of edible coating with essential oil in food preservation. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2467-2480. doi:<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1456402>
- León Moncada, A., Bravo Aranibar, N., Pandia Estrada, S., Aleman Polo, M., y Romero Santivañez, R. (2022). Desarrollo y caracterización de biopelículas a partir de mezclas de almidón de maíz - papa, sorbitol y aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 88(3), 251-264. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v88n3/1810-634X-rsqp-88-03-251.pdf>
- López, R., Martínez, V., López, P., Tejacal, I., Sánchez, D., y Pérez, R. (2021). Evaluación de atrayentes alimenticios y trampas para la captura de moscas de la fruta (*Diptera: Tephritidae*) en naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) en Tepalcingo, Morelos, México. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 4(3), 68-77. <https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/440/460>
- Lucero, G., Sampedro, S., Guzmán, M., y Ayala, D. (2024). Caracterización de pectina obtenida a partir de cáscaras de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). *Revista Recursos Naturales Producción y Sostenibilidad*, 3(1), 1-19. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/19102>

- Montero-Recalde, M., Morocho-Núñez, M., Avilés-Esquivel, D., Carrasco-Cando, Á., y Erazo-Gutierrez, R. (2019). Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus subsp. aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 932-938. doi:10.15381/rivep.v30i2.16099
- Otero, C., Arredondo, C., Echeverría-Vega, A., y Gordillo-Fuenzalida, F. (2020). *Penicillium spp.* mycotoxins found in food and feed and their health effects. *World Mycotoxin Journal*, 13(3), 323-343. <https://www.wageningenacademic.com/doi/abs/10.3920/WMJ2019.2556>
- Palma-Rodríguez, Heidi, Salgado-Delgado, Rene, Páramo-Calderón, Delia, Vargas-Torres, Apolonio, y Meza-Nieto, Martín. (2020). Caracterización parcial de películas biodegradables elaboradas con almidón de plátano y proteínas séricas de la leche. *Acta universitaria*, 27(1), 26-33. <https://doi.org/10.15174/au.2017.1215>
- Palma, R. M. M., Pérez, A. A. F., y Padilla, M. C. (2021). Recubrimientos comestibles para extender la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(4), 4605-4625. <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/644>
- Peralta-Peralta, V. L., Apaza-Apaza, S., Huanca-Quiroz, E. U., y Aguilar-Ancota, R. (2021). Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) y cóscara de naranja (*Citrus sinensis* Linn. Osbeck.) sobre *Fusarium spp.* En Puno. *Dominio De Las Ciencias*, 7(1), 268–284. <https://doi.org/10.23857/dc.v7i1.1704>
- Quispe, B. R. F. E., Huanca, G. M. R., y Ramos, R. S. L. (2024). Aceites esenciales: Una estrategia ecológica para el control de *Aphis craccivora* en un cultivo

agrícola. *Ingeniería Investiga*, 6. <https://revistas.upt.edu.pe/ojs/index.php/ingenieria/article/view/983>

Quispe, G., y Palomino, G. (2022). Efecto insecticida del aceite esencial de eucalipto y altamisa contra el kcona kcona del cultivo de la quinua. *Revista Ciencia Agraria*, 1(2), 17-28. <http://cienciaagraria.com/index.php/rca/article/view/7>

Ramírez-Gavidia, T. C. , González-Colmenares, N. M. ., y Guerrero-Pernía, E. K. . (2020). Pectina de residuos de naranja aplicando el principio de las 3R. *AiBi Revista De Investigación, Administración E Ingeniería*, 8(2), 84–91. <https://doi.org/10.15649/2346030X.819>

Ramos, M., Cadenas, M., Bolio, G., Leo, G., Maciel, A., Castañeda, C., y Ramos, J. (2020). Biopelículas a base de pectina de cáscara de naranja (*Citrus sinensis*): Caracterización física, química y estructural. *Agroindustrial Science*, 10(3), 273-278. <http://ciateq.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1020/437>

Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Ramos de Melo, N., y Sanches-Silva, A. (2017). Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 132-140. doi:10.1016/j.tifs.2016.11.021.

Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., Ramos de Melo, N., Regiane dos Santos, F., Neves, I. d., y Geraldo de Carvalho, M. (2017). Biological activities and major components determination in essential oils intended for a biodegradable food packaging. *Industrial Crops and Products*, 97, 201-210. doi:10.1016/j.indcrop.2016.12.006

- Rodríguez Mora, D. A. Ramírez Garcés, A. F., y Altamar, A. del C. (2023). Extracción de pectina a partir de la hidrólisis ácida del cacao (*Theobroma Cacao L.*) y su aplicación en la obtención de biopelículas. *Mutis*, 13(1). 1-20 . <https://doi.org/10.21789/22561498>. 1885
- Saberia, H., Hamidi-Esfahani, Z., Gavlighi, H. A., y Barzegar, M. (2017). Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 117, 154-161. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0255270116304172>
- Siguencia Sojos, E. T., Saritama Valle, R. A. (2022). Evaluación del rendimiento del aceite esencial de ajonjolí (*Sesamum indicum L.*) a partir de dos pretratamientos para su aplicación en la industria. [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/23422>
- Téllez, I. S. (2024). Botánica monstruosa. Plantas fantásticas y horror vegetal en El día de los trífidos de John Wyndham. *Brumal. Revista de investigación sobre lo Fantástico*, 12(1), 239-261. <https://revistes.uab.cat/brumal/article/view/961>
- Ticona, J., Rodríguez, A. y Quispe, J. (2024). Efecto antimicrobiano *in vitro* de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*) y muña (*Minthostachys mollis*). *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 26(1), 36-45. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S231329572024000100036&script=sci_arttext&tlng=en
- Toyo-Díaz, M., Toyo-Fernández, B. y Moreno-Quintero, M. (2023). Extracción de pectina a partir de cáscara de cambur para la producción de una

- mermelada. *Agroecología Global. Revista Electrónica de Ciencias del Agro y Mar*, 5(9), 21-42. Epub 25 de enero de 2024. <https://doi.org/10.35381/a.g.v5i9.2572>
- Valencia, S., Guevara, J., Páez, D., y Vilaplana, R. (2016). Hongos causantes de podredumbres en la poscosecha de mora (*Rubus glaucus*): Aislamiento, identificación, y evaluación del género más agresivo. *Vitae*, 769-773. <https://www.proquest.com/openview/40c73997e17cece0a4f599fbe2506669/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1806352>
- Vilaplana, R., Guerrero, K., Guevara, J., y Valencia, S. (2020). Chitosan coatings to control soft mold on fresh blackberries (*Rubus glaucus* Benth.) during postharvest period. *Scientia Horticulturae*, 262. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423819309355>
- Villar, K., Ruiz, G., y Fuertes, C. (2021). Biopelículas a base de quitosano y aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) con propiedades antioxidante y antimicrobiana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(4), 309-320. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2021000400309&script=sci_arttext&tlng=pt
- Yamashita, C., Chung, M., dos Santos, C., Mayer, C., Moraes, I., & Branco, I. (2017). Microencapsulation of an anthocyanin-rich blackberry (*Rubus spp.*) by-product extract by freeze-drying. *LWT*, 84, 256-262.

Análisis estadístico de rendimiento de aceite esencial de eucalipto

Datos	No de repeticiones	Cantidad en gramos de hoja de eucalipto	Resultado de extracción
Aceite esencial de eucalipto	01	60 gramos	0,5 mL
	02	100 gramos	0,82 mL
	03	150 gramos	1,35 mL
	04	100 gramos	0,9 mL
	05	550 gramos	5,65 mL
	06	150 gramos	1,45 mL

Elaborado por: La Autora, 2024

$$\text{Repetición 01} = \% \text{Rendimiento} = \frac{0,5}{60} \times 100 = 0,83 \%$$

$$\text{Repetición 02} = \% \text{Rendimiento} = \frac{0,82}{100} \times 100 = 0,82 \%$$

$$\text{Repetición 03} = \% \text{Rendimiento} = \frac{1,35}{150} \times 100 = 0,9 \%$$

$$\text{Repetición 04} = \% \text{Rendimiento} = \frac{0,9}{100} \times 100 = 0,9 \%$$

$$\text{Repetición 05} = \% \text{Rendimiento} = \frac{6,65}{550} \times 100 = 1,21 \%$$

$$\text{Repetición 06} = \% \text{Rendimiento} = \frac{1,45}{150} \times 100 = 0,96 \%$$

The screenshot shows the R Studio interface. The console window displays the following R code and its output:

```

# Rendimiento = (C/0.001 * 0.001) / 0.001 * 100
# desviacion_estandar = sqrt(var(resultado))
# promedio = mean(resultado)

# desviacion_estandar_porcentaje = (desviacion_estandar / promedio) * 100
# print(paste("La desviación estándar de los rendimientos es:", round(desviacion_estandar, 2),
#           " y la desviación estándar en porcentaje es:", round(desviacion_estandar_porcentaje, 2),
#           "%"))
# [1] "La desviación estándar de los rendimientos es: 0.14 y la desviación estándar en porcentaje es: 16.28 %"

```

The Environment pane shows the following variables:

```

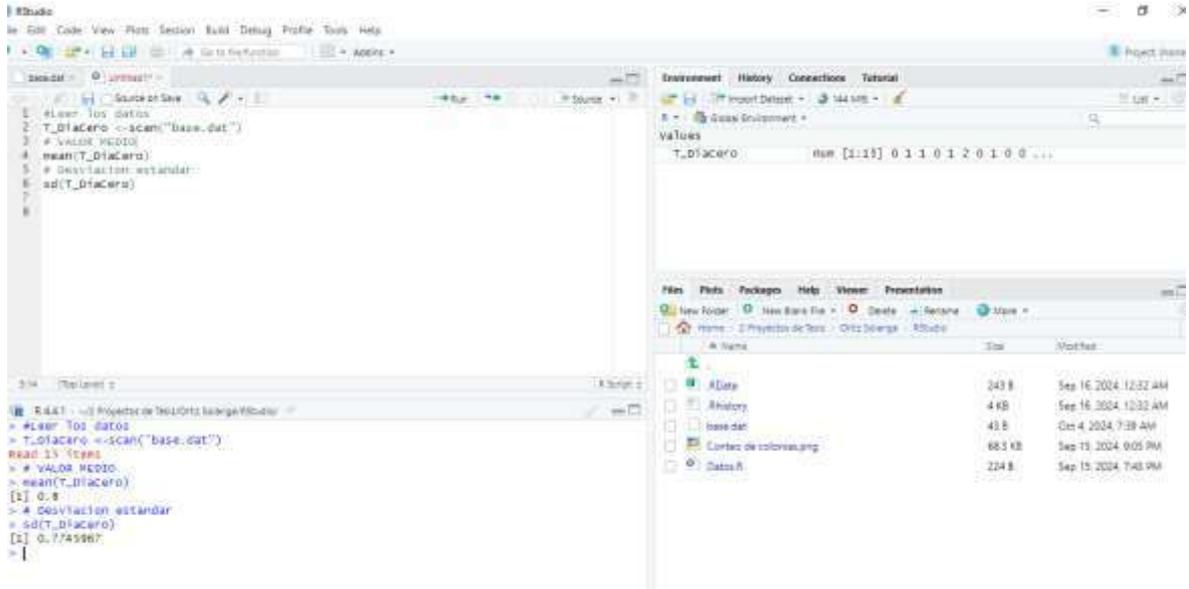
values
desviacion_estandar: 0.25054615438662
desviacion_estandar_p: 16.284532240109
promedio: 0.984
resultado: num [1:6] 0.83 0.82 0.9 1.21 0.96

```

Datos aplicados en programa estadístico R Studio para obtención de resultados.

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis estadístico del conteo de colonias del día cero



```

#Leer los datos
T_diaCero <- scan("base.dat")
# VALOR MEDIO
mean(T_diaCero)
# Desviación estándar
sd(T_diaCero)

```

```

R 4.4.1 ~> | Proyecto de Teoría de Solange | RStudio
> #Leer los datos
> T_diaCero <- scan("base.dat")
Read 15 items
> # VALOR MEDIO
> mean(T_diaCero)
[1] 0.8
> # Desviación estándar
> sd(T_diaCero)
[1] 0.7745967
>

```

Environment: History Connections Tutorial

Values

T_diaCero num [1:15] 0 1 1 0 1 2 0 1 0 0 ...

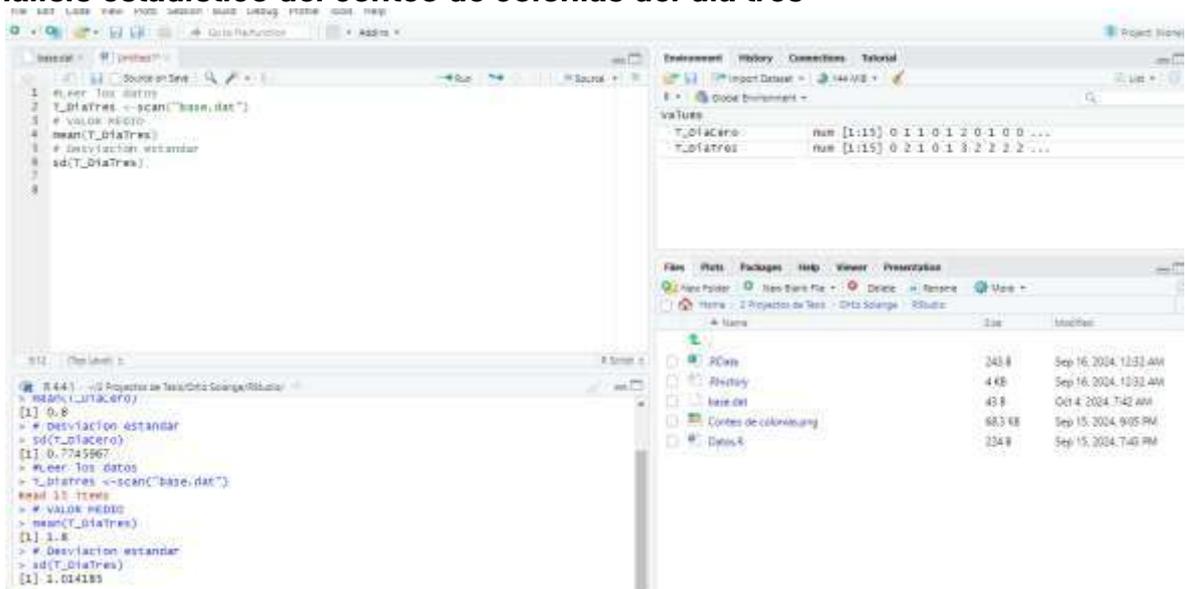
Files: Files Packages Help Viewer Presentations

Name	Size	Modified
AData	243 B	Sep 16, 2024, 12:32 AM
History	4 KB	Sep 16, 2024, 12:32 AM
base.dat	43 B	Oct 4, 2024, 7:28 AM
Conteos de colonias.rung	68.3 KB	Sep 15, 2024, 9:05 PM
Datos.R	234 B	Sep 15, 2024, 7:40 PM

Datos aplicados en programa estadístico R Studio para obtención de resultados.

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis estadístico del conteo de colonias del día tres



```

#Leer los datos
T_diaTres <- scan("base.dat")
# VALOR MEDIO
mean(T_diaTres)
# Desviación estándar
sd(T_diaTres)

```

```

R 4.4.1 ~> | Proyecto de Teoría de Solange | RStudio
> #Leer los datos
> T_diaTres <- scan("base.dat")
Read 15 items
> # VALOR MEDIO
> mean(T_diaTres)
[1] 1.8
> # Desviación estándar
> sd(T_diaTres)
[1] 1.014185

```

Environment: History Connections Tutorial

Values

T_diaCero num [1:15] 0 1 1 0 1 2 0 1 0 0 ...

T_diaTres num [1:15] 0 2 1 0 1 3 2 2 2 2 ...

Files: Files Packages Help Viewer Presentations

Name	Size	Modified
AData	243 B	Sep 16, 2024, 12:32 AM
History	4 KB	Sep 16, 2024, 12:32 AM
base.dat	43 B	Oct 4, 2024, 7:42 AM
Conteos de colonias.rung	68.3 KB	Sep 15, 2024, 9:05 PM
Datos.R	234 B	Sep 15, 2024, 7:40 PM

Datos aplicados en programa estadístico R Studio para obtención de resultados.

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis estadístico del conteo de colonias del día siete

The screenshot shows the R Studio interface with the following code in the script editor:

```

1 # Leer los datos
2 T_Diaseiete <- scan("base.dat")
3 # VALOR MEDIO
4 mean(T_Diaseiete)
5 # desviación estándar
6 sd(T_Diaseiete)
7
8

```

The console output shows the results of the calculations:

```

R 4.4.1 -- [2] Proyecto de Tesis Orto Soja y RStudio
> mean(T_Diaseiete)
[1] 1.8
> # desviación estándar
> sd(T_Diaseiete)
[1] 1.02485
> # Leer los datos
> T_Diaseiete <- scan("base.dat")
read 16 items
> # VALOR MEDIO
> mean(T_Diaseiete)
[1] 4.2125
> # desviación estándar
> sd(T_Diaseiete)
[1] 7.08866

```

The Environment pane on the right shows the following variables:

Variable	Clase	Longitud	Contenido
T_Diaseiete	num	[1:15]	0 1 1 0 1 1 0 1 0 0 ...
T_Diaseiete	num	[1:16]	2 4 2 2 1 1 1 4 1 8 ...
T_Diaseiete	num	[1:13]	0 2 1 0 1 3 2 2 2 ...

The Files pane shows the project structure:

Nombre	Tamaño	Modificado
RData	243 B	Sep 16, 2024, 12:52 AM
.Rhistory	4 KB	Sep 16, 2024, 12:52 AM
base.dat	48 B	Oct 4, 2024, 7:53 AM
Conteo de colonias.d	683 KB	Sep 15, 2024, 9:05 PM
Data.R	234 B	Sep 15, 2024, 7:43 PM

Datos aplicados en programa estadístico R Studio para obtención de resultados.

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis estadístico del conteo de colonias del día diez

The screenshot shows the R Studio interface with the following code in the script editor:

```

1 # Leer los datos
2 T3_Diadiiez <- scan("base.dat")
3 # VALOR MEDIO
4 mean(T3_Diadiiez)
5 # desviación estándar
6 sd(T3_Diadiiez)
7

```

The console output shows the results of the calculations:

```

R 4.4.1 -- [2] Proyecto de Tesis Orto Soja y RStudio
> sd(T3_Diadiiez)
[1] 0.83866
> # Leer los datos
> T3_Diadiiez <- scan("base.dat")
read 5 items
> # VALOR MEDIO
> mean(T3_Diadiiez)
[1] 0.8
> # desviación estándar
> sd(T3_Diadiiez)
[1] 0.83866
> # Leer los datos
> T3_Diadiiez <- scan("base.dat")
read 5 items
> # VALOR MEDIO

```

The Environment pane on the right shows the following variables:

Variable	Clase	Longitud	Contenido
T1_Diadiiez	num	[1:15]	2 4 2 2 3
T1_Diadiiez	num	[1:5]	0 2 1 0 1
T2_Diadiiez	num	[1:5]	2 0 1 0 0
T2_Diadiiez	num	[1:5]	8 5 5 4 8
T2_Diadiiez	num	[1:5]	1 3 4 5 6
T2_Diadiiez	num	[1:5]	1 2 2 2 2
T3_Diadiiez	num	[1:5]	1 0 2 2 1
T3_Diadiiez	num	[1:5]	0 8 10 7 5

The Files pane shows the project structure:

Nombre	Tamaño	Modificado
Data.R	234 B	Sep 15, 2024, 7:43 PM
base.dat	16 B	Sep 15, 2024, 9:30 PM

Datos aplicados en programa estadístico R Studio para obtención de resultados.

Elaborado por: La Autora, 2024

Anexo 2

Resultados obtenidos en conteo de colonias en moras con recubrimiento antifúngico

Tratamientos (5 repeticiones)	Día 0	Día 3	Día 7	Día 10
T1	0	0	2	5
	1	2	4	7
	1	1	2	3
	0	0	2	5
	1	1	3	4
T2	2	3	5	8
	0	2	3	5
	1	2	4	5
	0	2	3	4
	0	2	6	8
T3	1	2	6	9
	0	1	3	8
	2	3	5	10
	2	3	6	7
	1	3	5	5

Elaborado por: La Autora, 2024

The screenshot shows the JASP software interface for ANOVA of repeated measures. The main window displays the following results:

Casos	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	F	p
Factor de MR 1	259.859 ^a	3 ^a	86.283 ^a	95.282 ^a	< .001 ^a
Factor de MR 1 * Tratamiento	10.399 ^a	6 ^a	1.717 ^a	1.899 ^a	0.108 ^a
Residual	32.800	36	0.911		

Note: Suma de Cuadrados Tipo III
^a El contraste de Esfericidad de Mauchly indica que no se cumple el supuesto de esfericidad ($p < .05$)

Efectos Entre Sujetos

Casos	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	F	p
Tratamiento	38.233	2	18.117	9.211	0.014
Residual	35.000	12	2.917		

Note: Suma de Cuadrados Tipo III

Descriptivos

Factor de MR 1	Tratamiento	N	Media	DT	ET	Coefficiente de variación
Día cero	1	5	0.600	0.548	0.245	0.913
	2	5	0.600	0.884	0.400	1.461
	3	5	1.200	0.837	0.374	0.697
Día Tres	1	5	0.800	0.837	0.374	1.046
	2	5	2.200	0.447	0.200	0.200
	3	5	2.400	0.664	0.400	0.373
Día Siete	1	5	2.600	0.694	0.400	0.344
	2	5	4.200	1.364	0.583	0.310
	3	5	5.600	1.225	0.548	0.245
Día Diez	1	5	4.800	1.463	0.663	0.309
	2	5	6.000	1.671	0.837	0.312
	3	5	7.800	1.924	0.860	0.247

Procesamiento de datos mediante el software estadístico JASP

Elaborado por: La Autora, 2024

Letter-Based Grouping - Tratamiento

Tratamiento	Letter
1	a
2	ab
3	b

Nota. If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different, but we also did not show them to be the same.

Medias Marginales

Medias Marginales - Tratamiento

Tratamiento	Media Marginal	IC del 95% para la Diferencia de Medias		ET
		Inferior	Superior	
1	2.200	1.368	3.032	0.382
2	3.250	2.418	4.082	0.382
3	4.100	3.268	4.932	0.382

Análisis de medias y diferencias significativas Elaborado por: La Autora, 2024

Anexo 3

Datos objetivo 3 conteo por equipo contador de colonias

Análisis de Día 0

Tratamientos (replicado)	# de colonias	Grados Brix	pH
T1 R1	19	1,017	1,8-1,9
T1 R2	133	1,020	1,8-2,0
T2 R1	24	1,015	1,7-1,8
T2 R2	16	1,025	2,0-2,1
T3 R1	4	1,025	1,0-2,0
T3 R2	10	1,025	1,6-1,8

Nota: Aplicación de biopelícula en moras con estado de madurez 3-4 según Norma INEN 2427 (2015)

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis de Día 3

Tratamientos (replicado)	# de colonias	Grados Brix	pH
T1 R1	21	1,020	1,4-1,6
T1 R2	95	1,015	1,8-2,0
T2 R1	34	1,015	1,7-1,9
T2 R2	58	1,015	1,4-1,8
T3 R1	28	1,025	1,5-1,7
T3 R2	40	1,025	1,4-1,7

Nota: Ablandamiento de mora, no muestra presencia de moho superficial (moho blanco con tonalidad oscura)

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis de Día 7

Tratamientos (replicado)		# de colonias	Grados Brix	pH
T1	R1	56	1,008	1,9-2,3
	R2	30	1,014	1,4-1,5
T2	R1	37	1,020	1,3-1,4
	R2	27	1,025	1,7-1,9
T3	R1	64	1,021	1,5-1,9
	R2	11	1,010	1,7-2,0

Nota: Presencia de moho (moho blanco con tonalidad oscura) en Tratamiento 2

Elaborado por: La Autora, 2024

Análisis de Día 10

Tratamientos (replicado)		# de colonias	Grados Brix	pH
T1	R1	12	1,017	1,4-1,6
	R2	23	1,020	1,9-2,0
T2	R1	44	1,033	1,6-1,8
	R2	12	1,020	1,7-1,9
T3	R1	40	1,035	1,8-2,0
	R2	7	1,018	1,6-1,9

Nota: Presencia de putrefacción en Tratamiento 2 (moho blanco oscuro) y Tratamiento 3

Elaborado por: La Autora, 2024

Conteo de colonias en Dia Cero

ANOVA - Colonias (UFC) día 0

Casos	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	F	p
Tratamiento	5414.889	3	1804.963	1.378	0.351
Residuals	6548.000	5	1309.600		

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III

Letter-Based Grouping - Tratamiento

Tratamiento	Letter
1	a
2	a
3	a
Testigo	a

Nota. If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different, but we also did not show them to be the same.

Medias Marginales

Medias Marginales - Tratamiento

Tratamiento	Media Marginal	IC del 95% para la Diferencia de Medias		ET
		inferior	Superior	
1	76.000	10.221	141.779	25.589
2	20.000	-45.779	85.779	25.589
3	7.000	-58.779	72.779	25.589
Testigo	30.000	-23.708	83.708	20.893

Elaborado por: La Autora, 2024

Conteo de colonias en Dia Tres

Letter-Based Grouping - Tratamiento

Tratamiento	Letter
1	a
2	a
3	a
Testigo	a

Nota. If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different, but we also did not show them to be the same.

Medias Marginales

Medias Marginales - Tratamiento

Tratamiento	Media Marginal	IC del 95% para la Diferencia de Medias		ET
		Inferior	Superior	
1	58.000	12.755	103.245	17.601
2	46.000	0.755	91.245	17.601
3	34.000	-11.245	79.245	17.601
Testigo	59.000	22.057	95.943	14.371

Elaborado por: La Autora, 2024

Conteo de colonias en Dia Siete

ANOVA - Colonias (UFC) dia 7

Casos	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	F	p
Tratamiento	1421.500	3	473.833	1.322	0.365
Residuals	1792.500	5	358.500		

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III

Letter-Based Grouping - Tratamiento

Tratamiento	Letter
1	a
2	a
3	a
Testigo	a

Nota. If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different, but we also did not show them to be the same.

Medias Marginales

Medias Marginales - Tratamiento

Tratamiento	Media Marginal	IC del 95% para la Diferencia de Medias		ET
		Inferior	Superior	
1	43.000	8.584	77.416	13.388
2	32.000	-2.416	66.416	13.388
3	37.500	3.084	71.916	13.388
Testigo	63.000	34.899	91.101	10.932

Elaborado por: La Autora, 2024

Conteo de colonias en Día Diez

ANOVA - Colonias (UFC) día 10

Casos	Suma de Cuadrados	gl	Cuadrado Medio	F	p
Tratamiento	4343.000	3	1447.667	6.480	0.036
Residuals	1117.000	5	223.400		

Nota. Suma de Cuadrados Tipo III

Contrastes Post-hoc

Estándar (LSD)

Comparaciones Post-hoc - Tratamiento

		Diferencia de Medias	ET	t	P _{Tukey}
1	2	-10.500	14.947	-0.703	0.892
	3	-6.000	14.947	-0.401	0.976
	Testigo	-51.500	13.644	-3.774	0.046
2	3	4.500	14.947	0.301	0.989
	Testigo	-41.000	13.644	-3.005	0.101
3	Testigo	-45.500	13.644	-3.335	0.072

Nota. Valor p ajustado para comparar una familia de 4

Letter-Based Grouping - Tratamiento

Tratamiento	Letter
1	a
2	ab
3	ab
Testigo	b

Nota. If two or more means share the same grouping symbol, then we cannot show them to be different, but we also did not show them to be the same.

Medias Marginales

Medias Marginales - Tratamiento

Tratamiento	Media Marginal	IC del 95% para la Diferencia de Medias		ET
		Inferior	Superior	
1	17.500	-9.668	44.668	10.569
2	28.000	0.832	55.168	10.569
3	23.500	-3.668	50.668	10.569
Testigo	69.000	46.817	91.183	8.629

Elaborado por: La Autora, 2024

Anexo 4

Proceso de obtención de pectina de cáscara de naranja

Pesaje de naranjas verdes



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de cáscara de naranjas verdes



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Cantidad en mL de agua destilada



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Toma de temperatura en etapa de inactivación microbiana



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Etapa de hidrólisis ácida



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Etapa de concentrado y filtrado de pectina



Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024

Filtrado de pectina húmeda del alcohol residual



**Proceso para obtención de pectina
Elaborado por: La Autora, 2024**

Anexo 5***Proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto******Pesaje de hojas de eucalipto***

Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de agua en mL

Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Mezcla triturada de agua y hojas de eucalipto



**Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024**

Ensamblaje de equipo de hidrodestilación



**Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024**

Ensamblaje de Trampa de Clevenger en equipo de hidrodestilación



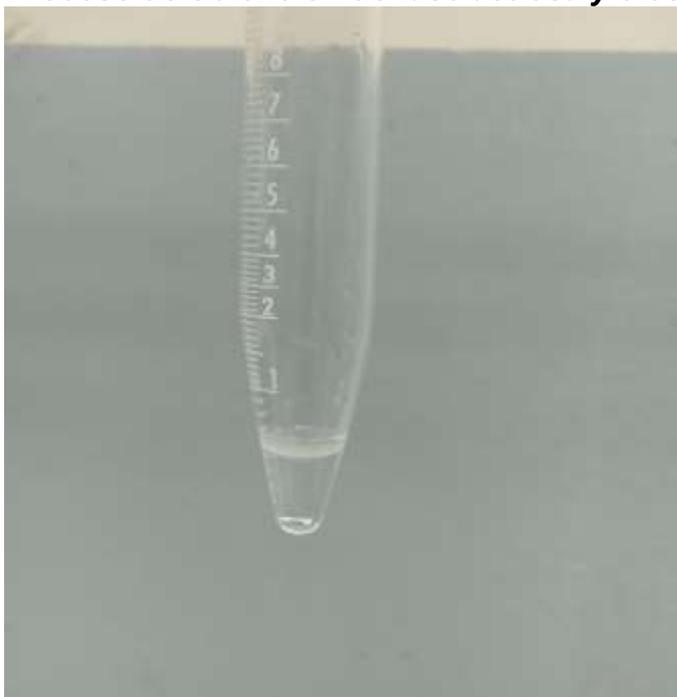
Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Calentamiento de balón con muestra vegetal



Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Proceso de obtención de fase acuosa y oleosa



Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Obtención final de aceite esencial de eucalipto



Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024

Extracción de fase oleosa de la fase acuosa



**Proceso para obtención de aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación
Elaborado por: La Autora, 2024**

Anexo 6.**Proceso de aislamiento de hongos****Información de Agar PDA**

Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesado en gramos de Agar PDA

Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024

Medición en mL de Agua Destilada



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Mezcla de Agar PDA y Agua Destilada



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Taponamiento de Matraz Erlenmeyer para proceso de esterilización del medio de cultivo en autoclave



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Adición de antibiótico (Amfotericina) al medio de cultivo



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Gelificación de medio de cultivo en Placas Petri desechables



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Siembra de cepas de hongos



**Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024**

Crecimiento fúngico en Placas Petri



Elaboración de Agar PDA y aislamiento fúngico
Elaborado por: La Autora, 2024

Anexo 7***Proceso de elaboración de biopelícula******Pesaje de pectina para cada tratamiento (0,8 %)***

Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de almidón de maíz (1,6 %)

Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de pectina para cada tratamiento (2,4 %)



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de almidón de maíz (1,6 %)



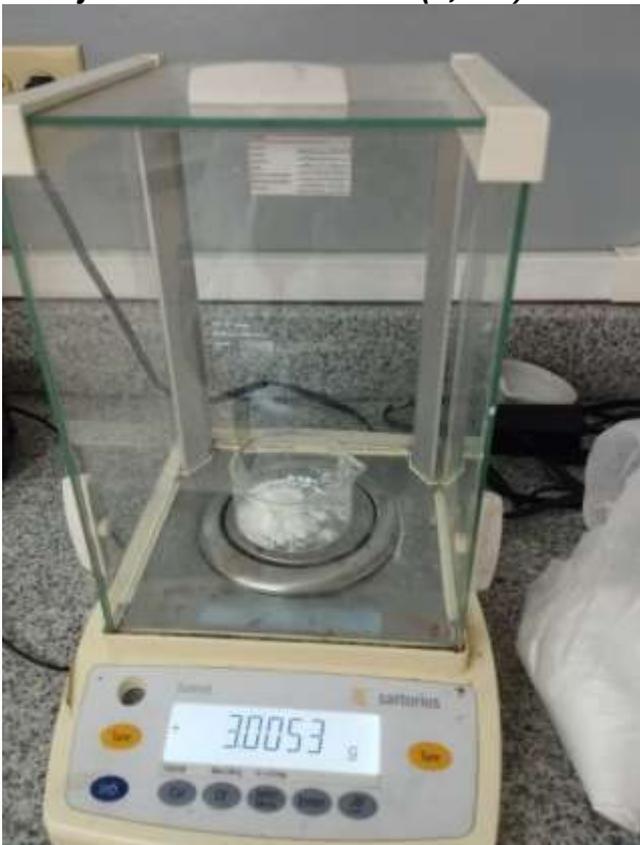
Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de pectina para cada tratamiento (4 %)



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Pesaje de almidón de maíz (1,6 %)



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Mezcla y calentamiento de formulaciones para biopelícula



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Elaboración de tratamientos de biopelícula antifúngica



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Adición de Aceite Esencial de Eucalipto a cada formulación (4,4 %, 2 % y 0,4 %)



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Obtención final de T1, T2 y T3 (biopelícula antifúngica)



Pesaje de insumos y elaboración de biopelícula antifúngica
Elaborado por: La Autora, 2024

Anexo 8***Proceso in vitro e in vivo de biopelícula con actividad fúngica ante hongos******Insumos para proceso in vitro de biopelícula antifúngica***

Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Inoculación de hongos para dilución y adición en placas Compact Dry

Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Incubación de placas Compact Dry



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Aplicación de recubrimiento T1 en moras



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Aplicación de recubrimiento T2 en moras



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Moras con biopelícula correspondiente al tratamiento 2



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Aplicación de recubrimiento correspondiente al tratamiento 3



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Moras con biopelícula antifúngica



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Tratamientos aplicados en moras



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Moras trituradas para dilución



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Adición de gramo de muestra en tubos de ensayo



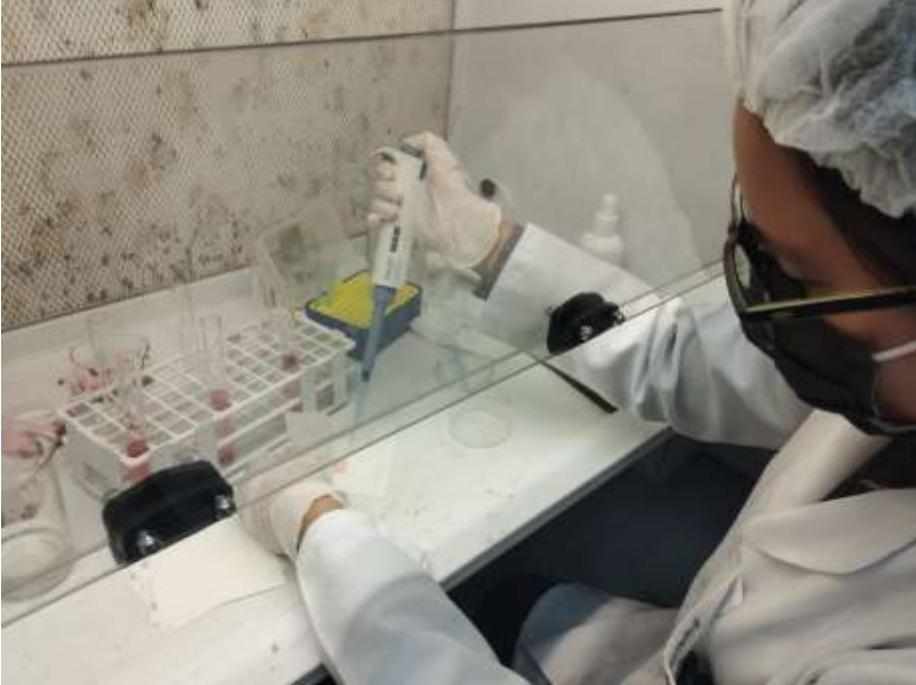
Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Adición de Agua Destilada en tubos de ensayo



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Siembra en Petrifilm™ Placas Rápidas Hongos y Levaduras 6417



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Dilución correspondiente al Día 3



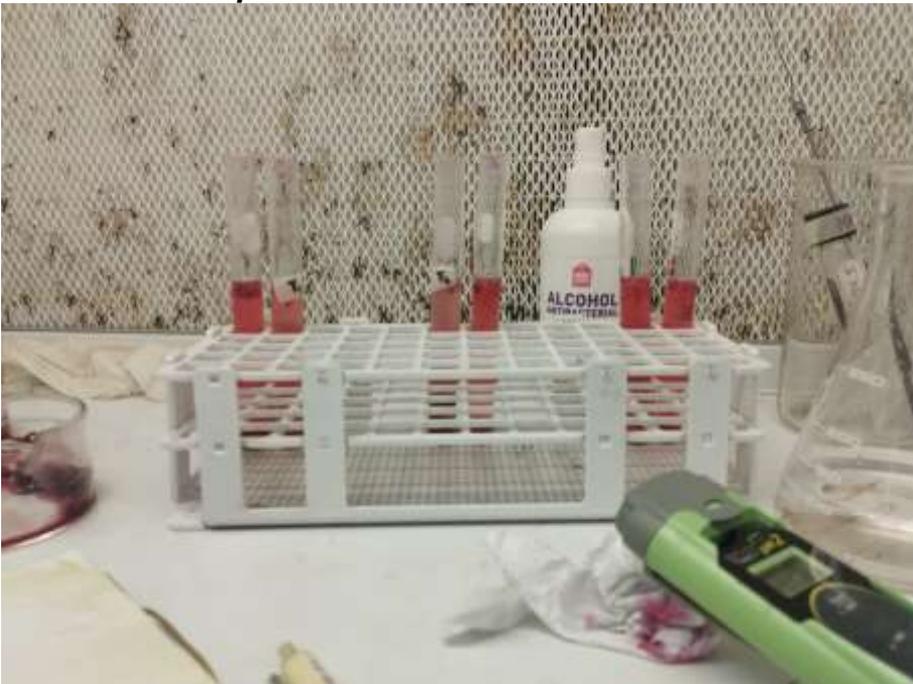
Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Dilución correspondiente al Día 7



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Dilución correspondiente al Día 10



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Incubación de tratamientos por días (0, 3, 7 y 10)



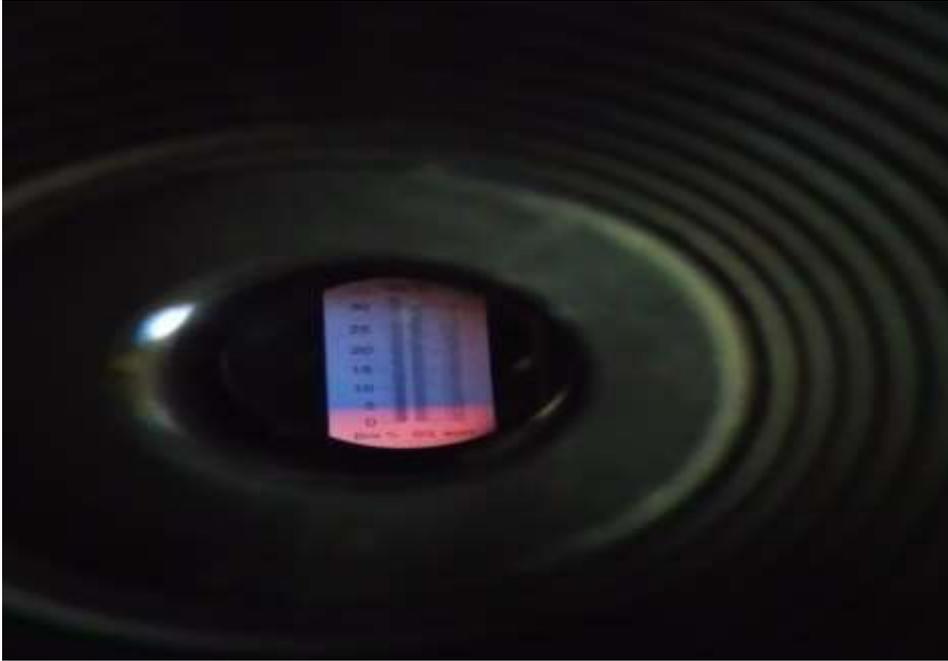
Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Toma de datos correspondientes a Grados Brix



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Representación de la escala de Grados Brix



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Toma de datos correspondientes a pH



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024

Referencia de resultados obtenidos en día 0, 3, 7 y 10



Proceso *in vitro* e *in vivo* de actividad fúngica de cepas en biopelícula
Elaborado por: La Autora, 2024