

**REPÚBLICA DE CHILE  
UNIVERSIDAD DEL BÍO - BÍO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD Y LOS ALIMENTOS  
MAGÍSTER EN CIENCIAS E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**



**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS E INGENIERÍA EN  
ALIMENTOS**

**“DESARROLLO DE EMULSIONES QUITOSANO-CARVACROL MEDIANTE  
HOMOGENIZACIÓN POR ALTAS PRESIONES Y APLICACIÓN MEDIANTE  
ASPERSIÓN ELECTROSTÁTICA SOBRE TOMATE CHERRY (*Lycopersicon  
esculentum* L.) PARA MANTENER SU CALIDAD EN POSTCOSECHA”**

**Alumna : Zoila Esperanza Flores Hernández**

**Profesor Guía : Dr. Ricardo Villalobos Carvajal**

**Chillán, Abril 2016**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a JEHOVA DIOS TODOPODEROSO, que todos los días me acompaña regalándome su amor infinito, escucha mis oraciones y me ha dado esta gran oportunidad.

A mis padres: Joaquín Flores y Esperanza Hernández, muchas gracias por toda la confianza y el apoyo brindado durante toda mi vida, sin ustedes nada de esto sería posible.

A mis hermanas: Ledis Flores y Mercy Flores, mis tíos, abuelos, primos, mi madrina Ángela Núñez, gracias por todo el apoyo brindado y estar siempre pendientes de mí.

A mi profesor de tesis, Dr. Ricardo Villalobos Carbajal, por darme la oportunidad de trabajar con él, y estar siempre dispuesto a aclarar mis dudas y compartir toda su experiencia y conocimiento.

A los profesores de mi comisión de tesis: Dra. Silvia Matiacevich, Dr. José Miguel Bastias Montes y Dr. Fernando Osorio Lira, por todos sus aportes y disponibilidad.

A la Agencia Chilena de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AGCID), por el otorgamiento de la Beca para estudios de Magister en Chile.

A la Universidad del Bio-Bio, por el otorgamiento de la Beca de investigación para el desarrollo de esta tesis.

A mis compañeros y amigos, especialmente: Mario Gonzales, Diego San Martín Pérez, Carla Vidal, Pamela Balladares, Yamira Cepero, muchas gracias por el apoyo brindado en todo momento y compartir gratos momentos.

*Esila Flores C.*

## DEDICATORIA

*“Todo tiene su tiempo,  
y todo lo que se quiere debajo del cielo tiene su hora:  
Tiempo de nacer y tiempo de morir;  
tiempo de plantar y tiempo de arrancar lo plantado.”  
Eclesiastés 3, 1-2*

*El tiempo de Dios siempre es perfecto.*

*A JEHOVA  
A mis padres,  
A mis hermanas,  
A mis tíos,  
A mi abuelo,  
A mi madrina,  
A mis amigos,  
Infinitas gracias por todo su cariño*

*Érika Flores C.*

## RESUMEN

Recubrimientos comestibles emulsionados, se usan para explorar las ventajas complementarias de cada componente, así como para reducir al mínimo sus desventajas. Pero las propiedades funcionales de estos dependen básicamente del método de preparación, concentración de los componentes (hidrocoloides y lípidos) y técnica de aplicación de la emulsión. La finalidad de este trabajo fue estudiar dos métodos de homogenización (rotor estator y rotor estator seguido de altas presiones) para el desarrollo de emulsiones de quitosano (1,5% p/v) con diferentes concentraciones de carvacrol (0,25; 0,5 y 1,0% v/v) y evaluar el efecto de tres técnicas de aplicación (inmersión, aspersion y aspersion electrostática) de las emulsiones en tomates cherry (*Lycopersicon esculentum* L.) para mantener sus parámetros de calidad en postcosecha. Para ello se desarrollaron emulsiones y se analizaron sus propiedades de estabilidad y humectabilidad, a su vez, se elaboraron películas y se analizó su microestructura, propiedades mecánicas, opacidad, solubilidad y permeabilidad al vapor de agua. Se seleccionó la emulsión que presentó la mayor estabilidad, mejor humectabilidad y mejores propiedades funcionales de formación de película, para ser aplicada por las diferentes técnicas sobre tomate cherry y evaluar sus parámetros de calidad e índices de madurez. Los resultados mostraron que las emulsiones obtenidas por el método de altas presiones, al 0,5% v/v de carvacrol presentaron mayor estabilidad, mejor humectabilidad y mejores propiedades funcionales de formación de película. Lográndose la mayor reducción tamaño de gota, menor tensión superficial y ángulo de contacto, además las películas formadas presentaron mejores propiedades microestructurales, mayor porcentaje de elongación y menor permeabilidad al vapor agua. La técnica de aplicación de recubrimiento, en tomate cherry dio lugar a cambios en los parámetros de calidad e índices de madurez. Las muestras recubiertas por inmersión y aspersion electrostática presentaron una mayor resistencia a la transferencia al vapor de agua y menor tasa respiratoria. Lo cual impidió la pérdida de peso, aumentó la firmeza de las muestras y disminuyó los índices de madurez a lo largo de los 14 días de almacenamiento a 12°C. De acuerdo a los resultados obtenidos el uso de la técnica de homogenización por altas presiones y la concentración intermedia de carvacrol, mejoró las propiedades físico-químicas de las emulsiones. La aplicación de la emulsión mediante inmersión y aspersion electrostática disminuyó la tasa respiratoria logrando mayor estabilidad en los parámetros de calidad de tomate cherry almacenados en refrigeración.

## ABSTRACT

Emulsified edible coatings are used to explore the complementary advantages of each component as well as to minimize its disadvantages. But the functional properties of these depend basically on the method of preparation, concentration of components (hydrocolloids and lipids) and technical application of the emulsion. The purpose of this study was to evaluate two methods of homogenization (rotor stator and rotor stator followed by high pressure) for the development of emulsions of chitosan (1.5% w / v) with different concentrations of carvacrol (0.25, 0, 5 to 1.0% v / v) and evaluate the effect of three technical applications (immersion, spray and electrostatic spray) emulsions in cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum L.*) to keep their postharvest quality parameters. For that, they were developed emulsions and were analyzed, its stability properties and wettability, at the same time, films were prepared and their microstructure, mechanical properties, opacity, solubility and water vapor permeability was analyzed. The emulsion which present greater stability, better wettability and improved functional properties of film formation was selected, to be applied by different techniques on cherry tomato and evaluate their quality parameters and indices of maturity. The results showed that the emulsions obtained by the method of high pressure, 0.5% v / v of carvacrol showed higher stability, better wettability and improved functional properties of film formation. Achieving the greatest reduction droplet size, lower surface tension and contact angle, also the films formed had better microstructural properties, greater elongation and lower percentage of water vapor permeability. The coating application technique in cherry tomato resulted in changes in the quality parameters and indices of maturity. The coated samples and electrostatic spray had a higher resistance to water vapor transfer and lower respiratory rate. Which prevented weight loss, increased firmness of the samples and maturity indices decreased over the 14 days of storage at 12 ° C. According to the results obtained, the using of the homogenization technique by high pressure and intermediate concentration of carvacrol, improved physicochemical properties of emulsions. The application of the emulsion by dipping and electrostatic spray decreased respiratory rate achieving greater stability in the parameters quality of cherry tomato stored under refrigeration.

## CONTENIDO

	Pag.
1.0 INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Antecedentes generales.....	1
1.2 Justificación.....	3
2.0 OBJETIVOS.....	5
2.1 <i>Objetivo General</i> .....	5
2.2 <i>Objetivos Específicos</i> .....	5
3.0 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	6
3.1 Recubrimientos y películas comestibles: Definición y aplicación.....	6
3.2 Materiales empleados en la elaboración de recubrimientos y películas comestibles.....	6
3.2.1 Solvente.....	7
3.2.2 Plastificante .....	7
3.2.3 Polímero .....	7
3.2.3.1 Proteínas .....	8
3.2.3.2 Polisacáridos.....	8
3.2.3.3 Lípidos.....	8
3.3 Recubrimientos o películas emulsificadas .....	9
3.4 Agentes emulsificantes.....	9
3.5 Emulsión.....	9
3.5.1 Estabilidad de emulsiones .....	10
3.5.2 Mecanismos de inestabilidad en emulsiones.....	10
3.5.3 Factores principales que afectan la estabilidad de emulsiones aceite-agua .....	11
3.6 Aplicación de recubrimientos comestibles.....	13
3.6.1 Inmersión.....	13
3.6.2 Aspersión.....	13

3.6.3 Aspersión electrostática.....	14
3.7 Quitina y quitosano .....	14
3.8 Carvacrol .....	16
3.9 Tomate cherry ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	17
3.10 Índices de calidad del tomate cherry .....	18
3.10.1 Firmeza.....	18
3.10.2 Color.....	19
3.10.3 Sabor.....	19
3.11 Procesos metabólicos que influyen sobre la calidad del tomate cherry .....	20
3.11.1 Respiración.....	20
3.11.2 Transpiración.....	20
3.11.3 Producción de etileno .....	21
3.11.4 Conservación .....	22
4.0 MATERIALES Y METODOLOGÍA .....	24
ETAPA I. Desarrollo de emulsiones, elaboración de películas y análisis de las propiedades físico-químicas de emulsiones y películas. ....	24
4.1 Reactivos utilizados en la preparación de los recubrimientos comestibles y de las películas preformadas en placa.....	24
4.2 Preparación de las emulsiones formadoras de recubrimiento .....	24
4.3 Propiedades fisicoquímicas de las emulsiones formadoras de recubrimiento .....	25
4.3.1 Distribución del tamaño de gota e índice de polidispersidad de las emulsiones.....	25
4.3.2 Potencial- $\zeta$ de las emulsiones.....	26
4.3.3 Energía libre de superficie del epicarpio de tomate cherry .....	26
4.3.4 Tensión superficial de las emulsiones .....	27
4.3.5 Medidas de ángulo de contacto de las emulsiones sobre epicarpio de tomate cherry ..	27
4.3.6 Caracterización reológica de las emulsiones.....	27

4.4 Formación de las películas emulsionadas .....	28
4.5 Propiedades funcionales de las películas .....	28
4.5.1 Espesor de las películas.....	28
4.5.2 Microscopia electrónica de las películas.....	28
4.5.3 Propiedades mecánicas de las películas .....	29
4.5.4 Solubilidad en agua de las películas.....	29
4.5.5 Opacidad de las películas .....	30
4.5.6 Permeabilidad al vapor de agua de las películas .....	30
ETAPA II. Aplicación de la emulsión sobre tomate cherry y análisis de parámetros de calidad..	32
4.6 Material vegetal.....	32
4.7 Acondicionamiento del tomate cherry .....	32
4.8 Aplicación de la emulsión sobre los tomates utilizando diferentes técnicas.....	32
5.9 Tiempo de secado y densidad superficial de sólidos.....	33
5.10 Resistencia a la transferencia al vapor de agua. ....	34
5.11 Actividad respiratoria.....	35
5.12 Pérdida de peso.....	36
5.13 Concentración de sólidos solubles, acidez titulable y pH .....	36
5.14 Determinación de color .....	36
5.15 Determinación de carotenoides totales.....	38
5.16 Firmeza.....	39
5.17 Evaluación sensorial.....	39
5.18 Diseño experimental.....	39
5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
ETAPA I. Desarrollo de emulsiones, elaboración de películas y análisis de las propiedades físico-químicas de emulsiones y películas. ....	41



5.1 propiedades fisicoquímicas de las emulsiones .....	41
5.1.1 Tamaño de gota de carvacrol promedio e índice de polidispersidad de las emulsiones	41
5.1.2 Potencial- $\zeta$ .....	48
5.1.3 Tensión superficial crítica del epicarpio de tomate cherry .....	49
5.1.4 Tensión superficial .....	50
5.1.5 Angulo de contacto de las emulsiones sobre el epicarpio de tomate .....	52
5.1.6 Caracterización reológica .....	55
5.2 Propiedades físicas y mecánicas de las películas. ....	57
5.2.1 Espesor de las películas .....	57
5.2.2 Microestructura de las películas .....	58
5.2.3 Propiedades mecánicas de las películas de quitosano emulsionadas .....	63
5.2.4. Opacidad.....	65
5.2.5 Solubilidad en agua de las películas emulsionadas .....	68
5.2.6 Permeabilidad al vapor de agua .....	70
5.3 CONCLUSION .....	73
ETAPA II. Aplicación de la emulsión sobre tomate cherry y análisis de parámetros de calidad..	74
5.4 Densidad superficial de sólidos y resistencia a la transferencia al vapor de agua .....	74
5.5 Actividad respiratoria .....	77
5.6 Pérdida de peso.....	79
5.7 Concentración de solidos solubles, acidez titulable y pH .....	81
5.8 Color.....	83
5.9 Carotenoides.....	86
5.10 Firmeza.....	88
5.11 Evaluación sensorial.....	89
6.0 CONCLUSIONES .....	91

7.0 BIBLIOGRAFÍA.....	92
8.0 ANEXOS.....	107

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mecanismos físicos de inestabilidad de una emulsión .....	11
<b>Figura 2.</b> Representación esquemática de emulsiones monodispersas y polidispersas. En una monodispersa todas las gotas tienen el mismo tamaño, pero en una polidispersa tienen un rango de tamaño diferente (McClements, 2005). .....	12
<b>Figura 3.</b> Estructura molecular quitosano .....	15
<b>Figura 4.</b> Estructura molecular carvacrol .....	17
<b>Figura 5.</b> Tomate cherry ( <i>Solanum lycopersicum</i> L) .....	18
<b>Figura 6.</b> Coordenadas colorimétricas del espacio del color CIE L*, a*, b* .....	38
<b>Figura 7.</b> Efecto de la concentración de carvacrol, relación aceite:tensoactivo y método de homogenización sobre el tamaño de gota promedio de las emulsiones. Promedio ± intervalo tukey. ....	43
<b>Figura 8.</b> Efecto de la concentración de carvacrol, relación aceite:tensoactivo y método de homogenización sobre el índice de polidispersidad de las emulsiones. Promedio ± intervalo tukey. ....	44
<b>Figura 9.</b> Análisis de la estabilidad en el tiempo para emulsiones homogenizadas mediante rotor estator. ....	46
<b>Figura 10.</b> Análisis de la estabilidad en el tiempo para emulsiones homogenizadas mediante altas presiones. ....	47
<b>Figura 11.</b> Efecto de la concentración de carvacrol y método de homogenización sobre el potencial zeta de las emulsiones. ....	49
<b>Figura 13.</b> Efecto de la incorporación de Tween80 (0,5% v/v), carvacrol y método de homogenización sobre la tensión superficial de las emulsiones. ....	52
<b>Figura 14.</b> Fotografías de las gotas durante el análisis de ángulo de contacto en el software ImageJ Plugin (DropSnake). ....	54
<b>Figura 15.</b> Curvas de flujo para las emulsiones con diferentes concentraciones de carvacrol, líneas continuas (rotor estator) y líneas con discontinuas (altas presiones). ....	56
<b>Figura 16.</b> Micrografías obtenidas mediante SEM de la superficie de películas de quitosano con diferentes concentraciones de carvacrol y homogenizadas por distintos métodos. ....	61

<b>Figura 17.</b> Micrografías obtenidas mediante SEM de la sección transversal de películas de quitosano con diferentes concentraciones de carvacrol y homogenizadas por distintos métodos .	62
<b>Figura 18.</b> Efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre las propiedades mecánicas de películas de quitosano emulsionadas. ....	64
<b>Figura 20.</b> Películas emulsionadas quitosano-carvacrol .....	67
<b>Figura 21.</b> Efecto del contenido de carvacrol y del método de homogenización sobre la solubilidad al agua de las películas de quitosano emulsionadas. ....	69
<b>Figura 22.</b> Efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas de quitosano emulsionadas. ....	72
<b>Figura 23.</b> Resistencia a la transferencia al vapor de agua y densidad superficial de sólidos de tomates cherry recubiertos y no recubiertos por las diferentes técnicas de aplicación. ....	77
<b>Figura 24.</b> Evolución de la tasa de respiración (O <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> ) de tomates cherry recubiertos y no recubiertos a través de diferentes técnicas, durante su almacenamiento en refrigeración. ....	79
<b>Figura 26.</b> Evolución de carotenoides totales (g/L) en frutos de tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación. ....	87
<b>Figura 27.</b> Evolución del parámetro firmeza en tomates cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación. ....	89
<b>Figura 28.</b> Atributos sensoriales evaluados a las muestras de tomate cherry recubierto por las diferentes técnicas de aplicación. ....	90

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diseño experimental 1 .....	40
<b>Tabla 2.</b> Diseño experimental 2.....	40
<b>Tabla 3.</b> Composición de las emulsiones (100 ml) .....	41
<b>Tabla 4.</b> Angulo de contacto de las emulsiones obtenidas por rotor estator y altas presiones. ....	54
<b>Tabla 5.</b> Índice de comportamiento al flujo (n), índice de consistencia (k), viscosidad aparente a ( $\eta_{ap}$ ) $500\text{ s}^{-1}$ y $R^2$ .....	57
<b>Tabla 6.</b> Espesor de las películas elaboradas.....	58
<b>Tabla 7.</b> Composición de la emulsión formadora de recubrimiento (100 ml) .....	74
<b>Tabla 8.</b> Evolución de sólidos solubles, acidez titulable y pH en tomates cherry recubiertos y no recubiertos mediante diferentes técnicas de aplicación, durante su almacenamiento en refrigeración. ....	83
<b>Tabla 9.</b> Evolución de la coordenada colorimétrica $a^*$ en tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.....	84
<b>Tabla 10.</b> Evolución del parámetro de Croma $C^*$ en muestras de tomate cherry recubierto por diferentes técnicas de aplicación. ....	85
<b>Tabla 11.</b> Evolución del parámetro de Ángulo de tono $h^*$ en tomate recubiertos y no recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.....	85
<b>Tabla 12.</b> Evolución diferencia de color en tomates cherry recubiertos y no recubiertos por diferentes técnicas de aplicación. ....	86

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Valores promedio tamaño de gota promedio de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	107
<b>Anexo 2.</b> Valores promedios para índice de polidispersidad de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	107
<b>Anexo 3.</b> Valores promedios de potencial Z para las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	107
<b>Anexo 4.</b> Valores promedios de tensión superficial de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	108
<b>Anexo 5.</b> Datos para análisis de energía libre de superficie del epicarpio de tomate cherry.....	108
<b>Anexo 6.</b> Datos experimentales para las curvas de flujo de las emulsiones homogenizadas mediante rotor estator.....	109
<b>Anexo 7.</b> Datos experimentales para las curvas de flujo de las emulsiones homogenizadas mediante altas presiones (100 MPa).....	110
<b>Anexo 8.</b> Valores promedios para los valores de esfuerzo de tensión (mN/m) de las películas homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	111
<b>Anexo 9.</b> Valores promedios para los valores de porcentaje de elongación de las películas homogenizadas por rotor estator y altas presiones. ....	111
<b>Anexo 10.</b> Valores promedios para los valores de opacidad de las películas homogenizadas por rotor-estator y altas presiones. ....	111
<b>Anexo 11.</b> Valores promedio de solubilidad en agua de las películas obtenidas por homogenización por rotor estator y altas presiones. ....	112
<b>Anexo 12.</b> Valores promedios de permeabilidad al vapor de agua (g/m s Pa) para las películas obtenidas por homogenización por rotor estator y altas presiones. ....	112
<b>Anexo 13.</b> Densidad superficial de sólidos de las muestras recubiertas por las diferentes técnicas. ....	112
<b>Anexo 15.</b> Actividad respiratoria de los tomates cherry recubiertos y no recubiertos por las diferentes técnicas. ....	113
<b>Anexo 16.</b> Porcentaje pérdida de peso de las muestras recubiertas por las diferentes técnicas...	113
<b>Anexo 17.</b> Evolución de la luminosidad (L*) en muestras de tomate cherry sometidos a diferentes tratamientos. ....	114

<b>Anexo 18.</b> Evolución de la coordenada colorimétrica $b^*$ en muestras de tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.....	114
<b>Anexo 19.</b> Evolución de la concentración de carotenoides totales, en tomate cherry recubierto por diferentes técnicas. ....	114
<b>Anexo 20.</b> Evolución del parámetro firmeza en muestras de tomate cherry sometidos a diferentes tratamientos durante el tiempo. ....	115
<b>Anexo 21.</b> Test utilizado para evaluar muestras de tomates sometidos a los tratamientos en estudio. ....	115
<b>Anexo 22.</b> Datos análisis sensorial de tomates cherry recubiertos por diferentes técnicas. ....	116

## 1.0 INTRODUCCIÓN

### 1.1 Antecedentes generales

Actualmente los consumidores han demostrado un interés en frutas y vegetales frescos. El tomate cherry (*Lycopersicon esculentum* L.) es una hortaliza ampliamente consumida, es una rica fuente de fibra, vitaminas A, C y carotenoides, con potencial antioxidante y reconocidos beneficios para la salud (Dantas Guerra *et al.*, 2015; Pinheiro *et al.*, 2013; Beckles, 2012). Por ser un fruto climatérico, tiene una corta vida de postcosecha, generalmente limitada por la transpiración, enfermedades de postcosecha, incremento de la madurez y senescencia (Fagundes *et al.*, 2014). La calidad de las hortalizas depende de sus propiedades organolépticas, nutricionales y microbiológicas, las cuales están sujetas a cambios dinámicos durante el almacenamiento y comercialización. Estos cambios se deben principalmente a las interacciones entre los alimentos y su entorno o a la migración de los distintos componentes dentro de un alimento, lo que puede conducir a pérdida de humedad y/o algunos gases (Debeaufort & Voilley, 2009). La vida útil de las frutas puede ser incrementada controlando la tasa de transferencia de gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y etileno), permeabilidad al vapor de agua, temperatura, humedad relativa y luz (Andrade, 2014). Una estrategia para controlar algunos de estos factores es el uso de recubrimientos comestibles. Una película o recubrimiento comestible se define como una capa fina y continua de material comestible formado o colocado sobre o entre los alimentos. La diferencia entre película y recubrimiento radica en la forma de aplicación. Un recubrimiento comestible se forma como un revestimiento sobre el alimento, mientras una película comestible es una capa preformada, la cual se coloca sobre la superficie del alimento o entre los componentes del mismo (Bravin *et al.*, 2006; Krochta & De-Mulder, 1997). Los recubrimientos y películas comestibles se han utilizado durante siglos para evitar la migración de la humedad (por ejemplo, recubrimientos de ceras en naranjas y limones se aplicaban en China en los siglos XII y XIII). Sin embargo en los últimos tiempos existe un considerable interés y aumento en investigaciones sobre estos productos, impulsados por el interés de minimizar el impacto ambiental que producen los materiales no biodegradables (plásticos derivados del petróleo) y la creciente demanda de consumo de alimentos seguros, de alta calidad y mínimamente procesados (Lin & Zao, 2007). El potencial de los recubrimientos comestibles de prolongar la vida útil de los alimentos, se debe a que puede



actuar como una barrera selectiva al oxígeno, dióxido de carbono y humedad, lo que limita por lo tanto la pérdida de agua, y protegen a la fruta fresca de daños mecánicos y microbiológicos. También pueden retardar la pérdida de compuestos volátiles, reducir la tasa de respiración, y retrasar los cambios en las propiedades físicas de la fruta (Peretto *et al.*, 2014). Para la elaboración de recubrimientos comestibles se utilizan proteínas polisacáridos o lípidos. Generalmente se usan combinados para contrarrestar las deficiencias que individualmente presentan estos constituyentes (Andrade, 2014; Han, 2014). El quitosano, el derivado n-desacetilado de la quitina que forma parte del exoesqueleto de conchas de crustáceos, es uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza, a veces llamado celulosa animal, el quitosano ha sido ampliamente investigado como un biomaterial natural para muchas aplicaciones biomédicas y puesto que es generalmente reconocido como seguro, (GRAS) también se usa en la industria alimentaria debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, propiedades antimicrobianas y funcionalidad (Baouche *et al.*, 2014; Peretto *et al.*, 2014). La capacidad de los recubrimientos comestibles para extender la vida útil de los productos alimenticios frescos se puede mejorar mediante la inclusión de aceites esenciales de plantas con propiedades antimicrobianas, para controlar microorganismos patógenos y mejorar sus propiedades de barrera al vapor de agua. En este estudio se utilizará el quitosano en combinación con carvacrol (el componente principal de los aceites esenciales del orégano y tomillo) debido a su naturaleza hidrófoba y su conocida propiedad antimicrobiana (Peretto *et al.*, 2014). Un factor importante a tomar en cuenta en una emulsión es la estabilidad, la cual depende de muchos parámetros, entre ellos: la eficacia de los agentes emulsionantes y estabilizadores, y el grado de emulsificación alcanzado al momento de formar la dispersión, debido a que si se tiene una buena homogenización del sistema es posible garantizar la uniformidad en el tamaño de las gotas de la fase dispersa lo que repercutirá en la funcionalidad de barrera contra la transferencia de masa del recubrimiento formado (Bosques-Molina, 2004). La funcionalidad del recubrimiento está dada además, por la técnica utilizada para su aplicación sobre el alimento. Las técnicas que se utilizan habitualmente para recubrir la superficie de los alimentos son: inmersión y aspersion, pero estos tienen ciertas limitantes, la inmersión por ejemplo conduce a la dilución de la disolución de recubrimiento y se generan alta cantidad de materiales residuales, y a menudo resulta en el crecimiento de microorganismos en el depósito de la inmersión, la aspersion es otra forma ampliamente utilizada para la aplicación de recubrimientos, sin embargo recientemente ha habido

un creciente esfuerzo para adaptar la tecnología de aspersión electrostática en la industria alimentaria, ya que ésta presenta mayores ventajas que la técnica de aspersión tradicional. Con esta técnica se puede controlar el tamaño de las gotas, aumentar la cobertura y deposición de las gotas sobre el producto, producir una distribución homogénea, controlar el espesor del recubrimiento y reducir las pérdidas de la solución asperjada (Zhong *et al.*, 2014). A raíz de lo señalado anteriormente, esta investigación propone estudiar diferentes métodos de homogenización (rotor estator y rotor estator combinado con altas presiones) para el desarrollo de emulsiones de quitosano-carvacrol y evaluar el efecto de distintas técnicas de aplicación de las emulsiones (inmersión, aspersión y aspersión electrostática) en tomates cherry (*Lycopersicon esculentum* L.) para mantener sus parámetros de calidad en postcosecha.

## 1.2 Justificación

Debido a la corta vida útil del tomate, la aplicación de recubrimientos comestibles, es una alternativa prometedora para conservar por mayor tiempo su calidad en postcosecha. En la actualidad la demanda de alimentos con alto estándar de calidad, libre de sustancias químicas, estables y seguros son apreciados por los consumidores. Debido a esto, existe cada vez más interés en la utilización de sustancias naturales como biopolímeros para la formación de recubrimientos comestibles. El quitosano se ha convertido en una alternativa de tratamiento prometedor para las frutas y hortalizas debido a su carácter natural, actividad antimicrobiana y propiedades de formación de película entre otras (Mohamed y Rabea, 2009). Razón por la cual en el presente estudio se utilizó quitosano como matriz formadora de recubrimiento ya que este polisacárido además tiene una permeabilidad selectiva a los gases (CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>) y buenas propiedades mecánicas. Sin embargo debido a su naturaleza hidrofílica, crea una pobre barrera a la humedad. Debido a este inconveniente se incorporó carvacrol, que es un componente de aceite esencial de orégano. Este aceite esencial es bien conocido por sus propiedades de barrera a la humedad lo cual es una propiedad deseable para la estabilidad de los alimentos, además de su conocida capacidad antimicrobiana. Carvacrol ha sido utilizado recientemente como aditivo en diferentes formulaciones para envases activos con resultados prometedores (Gutiérrez *et al.*, 2010, Persico *et al.*, 2009 y Ramos *et al.*, 2012). Sin embargo, de acuerdo a nuestras revisiones en la literatura no se ha informado de la adición de carvacrol en recubrimientos comestibles a

base de quitosano para ser aplicados en tomate cherry. La reducción del tamaño de gotas de carvacrol en la emulsión es un factor importante para una distribución homogénea en las emulsiones formadora de recubrimiento. En esta investigación se estudiara el método de homogenización por altas presiones (HAP) y se comparará con el método tradicional de homogenización rotor estator. Se estudiará la eficacia de reducción del tamaño de gota de las emulsiones formadas, ya que esta puede favorecer la formación de recubrimientos más uniformes y con mejores propiedades funcionales. La técnica de recubrimiento es otro factor importante a tomar en cuenta, debido a que existen diversas técnicas que poseen sus propias ventajas y desventajas, entre estas se tienen: inmersión, aspersion, y más recientemente aspersion electrostática. La técnica de aspersion electrostática ha sido muy utilizada en otros campos entre ellos: la industria de la pintura y la aplicación de fungicidas en campo, entre otros, pero sus aplicaciones en la industria alimentaria son muy poco conocidas, razón por la cual hemos tenido el interés de estudiar el efecto de la aplicación de emulsiones quitosano-carvacrol en tomate cherry utilizando la técnica de aspersion electrostática y compararla con las técnicas tradicionales. La aspersion electrostática presenta una serie de ventajas en comparación con la técnica de aspersion tradicional, ya que se puede controlar el tamaño de las gotas, mejorar la deposición de la solución asperjada y así reducir las pérdidas; también es posible lograr una distribución homogénea de la solución que asegure la formación de un recubrimiento con mejores propiedades funcionales. En base a los antecedentes señalados, en esta investigación se propone estudiar dos métodos de homogenización para el desarrollo de emulsiones quitosano-carvacrol, comparar diferentes técnicas de aplicación de las emulsiones para la formación de los recubrimientos y estudiar los efectos de los recubrimientos emulsionados sobre los parámetros de calidad en postcosecha de tomates cherry (*Lycopersicon esculentum* L.)

## 2.0 OBJETIVOS

### ***2.1 Objetivo General***

Estudiar dos métodos de homogenización para el desarrollo de emulsiones de quitosano con diferentes concentraciones de carvacrol y evaluar el efecto de distintas técnicas de aplicación de las emulsiones en tomates cherry (*Lycopersicon esculentum* L.) para mantener sus parámetros de calidad en postcosecha.

### ***2.2 Objetivos Específicos***

Analizar el efecto de la concentración de carvacrol (0,25; 0,5 y 1,0 % v/v) sobre las propiedades fisicoquímicas de emulsiones y películas a base de quitosano.

Evaluar el efecto del método de homogenización (rotor estator y rotor estator seguido de altas presiones) sobre las propiedades funcionales de las emulsiones y películas quitosano:carvacrol.

Estudiar el efecto de la aplicación de las emulsiones de quitosano-carvacrol mediante las técnicas de inmersión, aspersión y aspersión electrostática, sobre los parámetros de calidad de tomates cherry almacenados en refrigeración.

### 3.0 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Recubrimientos y películas comestibles: Definición y aplicación

Las películas o recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, alta calidad, estabilidad y economía (Ruiz, 2004), debido a sus propiedades son: biodegradables, no tóxicos, respetuosos del medio ambiente y en muchas ocasiones, elaborados con subproductos de la industria alimentaria (Turienzo *et al.*, 2013).

Un recubrimiento o película comestible podrían definirse como un envase primario a partir de componentes comestibles (Galus & Kadzinska, 2015), la diferencia entre estos radica en que un recubrimiento comestible (RC) es una capa delgada continua, que se forma directamente en la superficie alrededor del alimento (Ramos-García *et al.*, 2010). Mientras que una película comestible (PC) es una matriz de forma independiente, delgada, formada sobre (como cubierta) o colocada entre los componentes de los alimentos (Falguera *et al.*, 2011).

Ambos sistemas ofrecen una barrera selectiva a la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, entre otros; además pueden servir como agentes acarreadores de otros ingredientes o aditivos (antioxidantes, saborizantes, antimicrobianos y colorantes) para mejorar el potencial de conservación y las características de manejo del alimento. En algunos casos las películas comestibles con buenas propiedades mecánicas pueden llegar a sustituir las películas de empaque sintéticas (Fagundes *et al.*, 2014; Elsabee, Abdou, 2013).

Las cubiertas comestibles pueden ser aplicadas directamente a la superficie del alimento como una barrera adicional de protección para mantener la calidad y estabilidad de un alimento. Para el caso de frutas y vegetales, los recubrimientos con polímeros comestibles y biodegradables ofrecen una alternativa de empaque sin causar daño al medio ambiente (Ruiz, 2004).

#### 3.2 Materiales empleados en la elaboración de recubrimientos y películas comestibles

Para la elaboración de los recubrimientos o películas comestibles se utilizan tres componentes principales: solvente, plastificante y polímero.

### **3.2.1 Solvente**

El solvente generalmente utilizado es el agua, y en algunas ocasiones se trabaja a diferentes valores de pH para lograr la solubilización del polímero (Andrade, 2014).

### **3.2.2 Plastificante**

Los plastificantes son requeridos en la formulación de recubrimientos basados en proteínas y polisacáridos, para modificar las propiedades mecánicas (Ruiz, 2004).

Un plastificante puede definirse como una sustancia estable, de baja volatilidad y elevado punto de ebullición, que cuando se adiciona a un material polimérico, modifica sus propiedades físicas y/o mecánicas. La adición de plastificantes tiene como objetivo mejorar la flexibilidad de los recubrimientos, haciéndolos menos quebradizos. La rigidez de los recubrimientos se debe a las fuerzas de cohesión que estabilizan la matriz polimérica. Los plastificantes se introducen entre las cadenas poliméricas, disminuyendo sus fuerzas intermoleculares (reduciendo las fuerzas de cohesión) y por tanto, imparten movilidad molecular a la matriz, lo que mejora la flexibilidad y elasticidad de la matriz polimérica (McHugh y Krochta, 1994; Sothornvit y Krochta, 2000).

Entre los plastificantes más usados se encuentran mono-di- y oligosacáridos (jarabes de glucosa y fructosa, miel) y polioles (sorbitol, glicerol, y polietilenglicol) en concentraciones del orden del 10 al 60% de base seca (b.s), dependiendo de la rigidez del recubrimiento y del polímero (Sothornvit y Krochta, 2005). El contenido y tipo de plastificante de la formulación de recubrimiento afecta a las propiedades de barrera y mecánicas de la película. En general, un aumento del contenido en plastificante aumenta las propiedades mecánicas y de barrera al vapor de agua y al O<sub>2</sub>, aumentando la flexibilidad y elongación y la permeabilidad de la película (Andrade, 2014; Vieira *et al.*, 2011).

### **3.2.3 Polímero**

El polímero es el componente mayoritario de los recubrimientos o películas comestibles, pueden utilizarse proteínas, polisacáridos, lípidos o combinados (Lin y Zhao, 2007; Sothornvit y Krochta,

2000). La selección de estos materiales estará en función de las características del alimento al cual se desee aplicar.

### **3.2.3.1 Proteínas**

Las proteínas usadas en los recubrimientos comestibles pueden ser de origen animal (caseínas, proteínas del suero lácteo, gelatinas y otras) o de origen vegetal (zeína, gluten de trigo, soja y otras) y dependiendo del origen muestran una amplia variedad de características moleculares. Su habilidad para formar recubrimientos así como las características de los recubrimientos formados va a ser determinado por las características de la proteína (pH, estabilidad térmica, peso molecular entre otras) (Park, *et al.*, 2004; Krochta *et al.*, 1994).

### **3.2.3.2 Polisacáridos**

Los polisacáridos son los hidrocoloides que más se utilizan como recubrimientos en frutas y hortalizas, debido a que forman parte de la mayoría de las formulaciones que actualmente existen en el mercado. Los polisacáridos presentan buenas propiedades de barrera a los gases, pero son hidrofílicos y debido a esto proporcionan una pobre barrera a la pérdida de humedad. Los polisacáridos más comunes utilizados para la producción de recubrimientos comestibles son la celulosa y sus derivados, el quitosano el almidón, las pectinas y gomas (Andrade, 2014; Park, *et al.*, 2004; Miramont, 2012).

### **3.2.3.3 Lípidos**

Los lípidos y sus derivados son principalmente usados en películas o recubrimientos para mejorar sus propiedades de barrera a la humedad o como agentes de recubrimiento para añadir brillo a los productos de confitería. Entre estos se encuentran: (ceras, acilgliceroles y ácidos grasos), Su uso en forma pura como películas es limitada, porque la mayoría carece de suficiente integridad estructural y durabilidad (Han, 2014; Galus & Kadzinska, 2015; Miramont, 2012).

### 3.3 Recubrimientos o películas emulsificadas

Los recubrimientos o películas comestibles elaboradas de materiales compuestos, son mezclas de lípidos e hidrocoloides, se pueden formular para combinar las ventajas de los componentes lipídicos e hidrocoloides y disminuir las desventajas de cada uno. Cuando se desea una barrera al vapor de agua, el componente lípido puede servir a esta función, mientras que el componente hidrocoloide proporciona la durabilidad necesaria (Falguera *et al.*, 2011).

Los compuestos pueden ser de capas separadas, llamadas multilaminados o bicapas, o formados por una única capa. Los bicapa se forman en dos etapas: en la primera se forma la base de polisacáridos o proteína y en la segunda, se aplica el lípido sobre la base previamente formada. En los monocapa, se desarrolla una emulsión del lípido en la fase hidrofílica que contiene la disolución del componente hidrocoloide (Galus & Kaszinska, 2015).

### 3.4 Agentes emulsificantes

Un emulsificante es una molécula anfifílica o anfipática que tiene una “cabeza” hidrófila, la cual tiene una alta afinidad por el agua, y una “cola” lipófila, la cual tiene afinidad por el aceite. Se clasifican como lipófilos e hidrófilos, según su mayor afinidad por compuestos no polares o polares respectivamente, conservando en ambos casos, su capacidad de disolverse en ambos tipos de compuestos (Conde & Munguia, 2012).

### 3.5 Emulsión

Una emulsión se puede definir como un sistema, por el cual una fase líquida inmiscible se dispersa como glóbulos (fase dispersa) en la segunda fase de líquida inmiscible (fase continua). Hay tres tipos de emulsiones: son, emulsión agua-en-aceite, aceite-en-agua y emulsión múltiple. La emulsión agua en aceite se forma cuando los glóbulos de agua se dispersan en toda la fase continua de aceite, la emulsión aceite en agua cuando los glóbulos de aceite se dispersan a lo largo de la fase continua de agua y la emulsión múltiple es un sistema complejo de emulsión, con en la cual; agua en aceite o aceite en agua, están dispersos en otra fase inmiscible. La emulsión múltiple incluye agua-en-aceite-en-agua o aceite en agua en aceite (Lim *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2011).



Las emulsiones también pueden clasificarse de acuerdo con su tamaño de las gotas. Los investigadores clasifican tamaño de gota en microemulsión (10-100 nm), mini emulsión (nano emulsión) (100 a 1,000 nm) y macro-emulsión (0,5 a 100 micras) (Windhab *et al.*, 2005).

### 3.5.1 Estabilidad de emulsiones

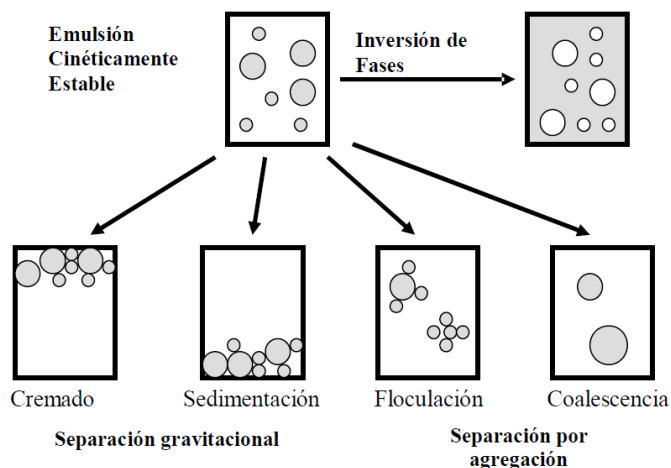
El término “estabilidad de la emulsión” se usa ampliamente para describir la capacidad de una emulsión de resistir los cambios en sus propiedades con el tiempo (McClements, 2005). Las emulsiones aceite-agua son coloides en donde el mecanismo principal de estabilidad puede ocurrir en el seno de la fase acuosa o en la superficie de las gotas, dependiendo de la naturaleza química de los ingredientes particulares involucrados. Los hidrocoloides alimenticios actúan confiriendo estabilidad a las dispersiones y emulsiones a través de su acción interfacial. Los hidrocoloides son biopolímeros de alto peso molecular y se emplean para controlar la microestructura, textura, sabor y vida de anaquel de alimentos (Conde & Munguia, 2012).

### 3.5.2 Mecanismos de inestabilidad en emulsiones

Según McClements, (2005), hay una variedad de mecanismos fisicoquímicos que pueden ser responsables de alteraciones en las propiedades de una emulsión, algunos de estos mecanismos se muestra en la fig. 1.

- La sedimentación y el cremado son dos formas de separación gravitacional. El cremado describe el movimiento hacia arriba de las gotas debido al hecho de que tienen una densidad menos que el líquido circundante, mientras que la sedimentación se describe el movimiento de las gotas hacia abajo debido al hecho que tienen una densidad mayor que el líquido circundante.
- La floculación y la coalescencia son dos tipos de agregación de las gotas. La floculación se produce cuando dos o más gotas se unen para formar un agregado en el que las gotas conservan su integridad individual, mientras que la coalescencia es el proceso por el que dos o más gotas se unen entre sí para formar una sola gota de mayor tamaño.

- Inversión de fases es el proceso mediante el cual una emulsión agua en aceite se convierte en una emulsión aceite en agua, o viceversa.

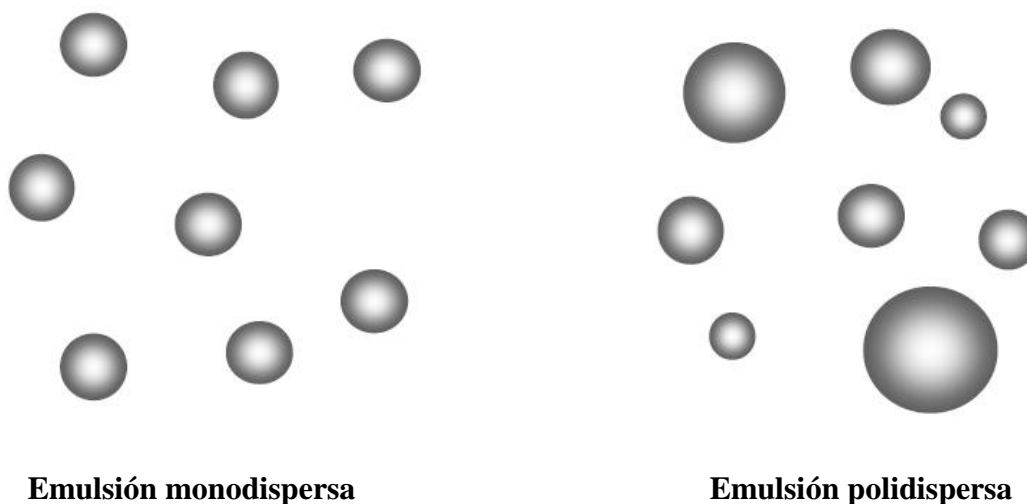


**Figura 1.** Mecanismos físicos de inestabilidad de una emulsión

### 3.5.3 Factores principales que afectan la estabilidad de emulsiones aceite-agua

- Distribución de tamaño de gota en las emulsiones: El tamaño de gota es un factor determinante en la estabilidad de la emulsión y afecta a otras propiedades importantes, incluyendo su viscosidad entre otras (Bonilla *et al* 2012).

Si todas las partículas en un sistema tienen el mismo tamaño presentando valores de índice de polidispersidad por debajo de 0,2 indicaría uniformidad en el tamaño de las gotas de aceite, en este caso el sistema se conoce como monodisperso y por lo tanto es más estable. Por el contrario, si la emulsión presenta una amplia gama de tamaños de gotas, se conoce como sistema polidisperso, presentando valores de IP cercanos a 1 (Fig. 2) (Wu & McClements, 2015; Guerra *et al.*, 2016). En la Fig. 2 se muestra un ejemplo de una emulsión monodispersa y una polidispersa.



**Figura 2.** Representación esquemática de emulsiones monodispersas y polidispersas. En una monodispersa todas las gotas tienen el mismo tamaño, pero en una polidispersa tienen un rango de tamaño diferente (McClements, 2005).

Si se tiene una buena homogenización del sistema es posible garantizar la uniformidad en el tamaño y distribución de las gotas de la fase dispersa lo que repercutirá en la funcionalidad de barrera contra la transferencia de masa de la película formada (Bosquez-Molina, 2004).

Homogeneizadores de rotor estator se utilizan a menudo en la industria alimentaria, y son capaces de llegar a tamaños de partícula en el intervalo de 1  $\mu\text{m}$ . Esto se puede reducir aún más mediante la aplicación de homogeneizadores de alta presión al sistema, este proceso obliga a un fluido a pasar través de una válvula de separación estrecha, dando como resultado la cavitación, turbulencia y alta tensión de cizallamiento. Como consecuencia, la microestructura de la matriz se interrumpe, generando partículas más pequeñas y uniformes, lo que conduce a mejores características de textura y una mejor estabilidad física (Palmero *et al.*, 2016; Bayod *et al.*, 2007).

- Naturaleza de la capa interfacial adsorbida: Determinada por: concentración y tipo de emulsificante, interacción entre especies adsorbidas y competencia entre especies adsorbidas.
- Naturaleza de la fase continua: Determinada por sus propiedades reológicas, calidad del solvente, polímeros y compuestos anfifílicos no adsorbidos.

- Naturaleza de la fase oleosa dispersa. Depende del contenido de sólidos/líquido y solubilidad en la fase continua (Conde & Munguia, 2012; McClements, 2005).

### **3.6 Aplicación de recubrimientos comestibles**

Los recubrimientos comestibles se pueden aplicar sobre o incluso dentro de los alimentos por diferentes métodos, de los cuales cada método posee sus propias ventajas y desventajas (Zhong *et al.*, 2014), entre estos métodos se encuentran: inmersión, aspersión y más recientemente aspersión electrostática entre otros.

#### **3.6.1 Inmersión**

Es la forma a escala de laboratorio más común debido a su simplicidad y bajo costo, este método se presta para productos alimenticios que requieren varias aplicaciones de materiales de recubrimiento o que requieran un recubrimiento uniforme sobre una superficie irregular (Zhong *et al.*, 2014). Sin embargo, el método de inmersión tiene desventajas obvias, por ejemplo, conduce a la dilución de la solución de recubrimiento y alta cantidad de materiales residuales de recubrimiento, y a menudo resulta en el crecimiento de microorganismos en el tanque de inmersión (Andrade *et al.*, 2012; Hirlekar *et al.*, 2010). Después de la inmersión, se permite escurrir para eliminar el exceso de material de recubrimiento del producto, y luego se seca o se deja solidificar. Este método se ha utilizado para aplicar películas de mono glicéridos acetilados a carnes, pescados y aves de corral, y para aplicar recubrimientos de cera para frutas y verduras (Krochta *et al.*, 1994).

#### **3.6.2 Aspersión**

La aspersión es otra forma ampliamente utilizado para la aplicación de recubrimientos. Películas aplicadas por aspersión se pueden formar de una manera más fina, uniforme, con control de espesor, y la posibilidad de aplicaciones sucesivas que no contaminen la solución de recubrimiento (Andrade *et al.*, 2012).

Rociar, a diferencia de inmersión, es más adecuado para aplicar una película a un solo lado de un alimento a cubrir. Esto es deseable cuando se necesita la protección en sólo una superficie, por ejemplo, cuando una masa de pizza se expone a una salsa húmeda. La aspersion también se puede utilizar para aplicar una segunda capa fina (Krochta *et al.*, 1994).

### 3.6.3 Aspersion electrostática

Es una técnica eficaz para atomizar líquidos, en el que se aplica una diferencia de potencial eléctrico a través de una gota que emerge de un capilar. El campo eléctrico induce la acumulación de carga de la superficie de la gota naciente, y desestabiliza la superficie de la gota que interrumpe en múltiples gotas diminutas cargadas (Iqbal *et al.*, 2013). Estas gotas recién formadas no se unen en el aire debido a su carga y se mueven a lo largo de las líneas de campo eléctrico a la superficie objetivo conectado a tierra más cercano. La aspersion electrostática exhibe una eficiencia de transferencia más alta (50-80%) en comparación con los métodos convencionales de aspersion que producen gotas no cargadas (Iqbal *et al.*, 2013 y Luo *et al.*, 2012).

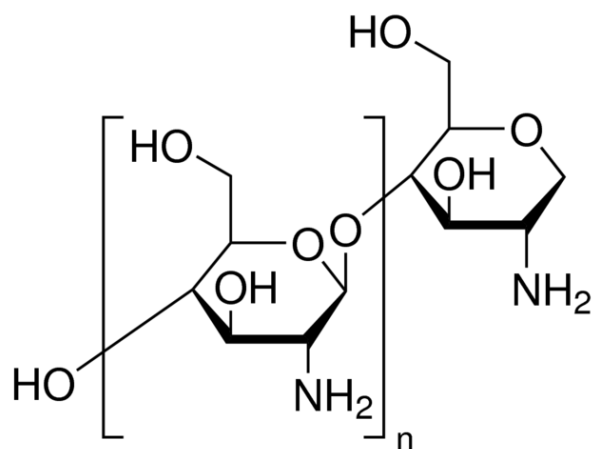
Es una técnica de recubrimiento eficiente que puede reducir los costos de procesamiento para los procesos industriales, produce capa fina y uniforme (Iqbal *et al.*, 2013). (Ganesh *et al.*, 2012), señalaron que la aspersion electrostática fue más eficaz que el método de aspersion convencional, para la aplicación de ácidos de calidad alimentaria y extractos de plantas para la descontaminación de *Escherichia coli* 0157:H7 en espinacas y lechuga. (Zhong *et al.*, 2014), estudiaron diferentes métodos de aplicación de recubrimiento en queso mozzarella y encontraron que con la aspersion electrostática se obtenía una película más delgada.

### 3.7 Quitina y quitosano

La quitina es un biopolímero abundante en la naturaleza, encontrado en el exoesqueleto de crustáceos, en las paredes celulares de hongos y en otros materiales biológicos. Este es principalmente poly ( $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D-glucosa. El quitosano es derivado de la quitina por desacetilación en un medio alcalino, en realidad el quitosano es un copolímero que consiste de  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D-glucosa y  $\beta$ -(1-4)-2-amino-D-glucosa, unidades de este último

generalmente superiores a 60% (Elsabee, Abdou, 2013). Este polisacárido ofrece un amplio potencial que puede ser aplicado a la industria alimentaria debido a sus propiedades fisicoquímicas particulares, tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad con los tejidos humanos, el ser no tóxico y especialmente por sus propiedades antimicrobianas y anti-fúngicas (Bautista *et al.* 2006).

Investigaciones y revisiones en cuanto al uso de quitosano reúnen diversa información referente al efecto de su grado de desacetilación sobre la actividad antimicrobiana, su uso dentro del diseño de nuevas películas basadas en compuestos bioactivos y su interacción frente a otros componentes que hacen parte de los alimentos mínimamente procesados y frescos, tratados con esta tecnología (Aider, 2010; Bautista *et al.*, 2006). Además el quitosano es un excelente componente de película comestible debido a sus propiedades de capacidad de formación de película ya que forma películas transparentes. Las películas de quitosano tienen una permeabilidad selectiva a los gases ( $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ ). Sin embargo es poco permeable al vapor de agua, con el fin de mejorar las propiedades de barrera de agua de películas de quitosano, frecuentemente se incorporan diversos compuestos en la formulación de la solución (Bourbon *et al.*, 2011).



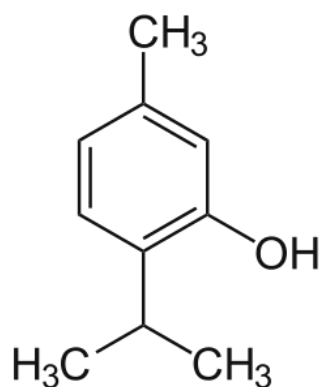
**Figura 3.** Estructura molecular quitosano

La incorporación de compuestos antimicrobianos y/o antioxidantes de origen natural en los recubrimientos de quitosano es una forma interesante para mejorar las propiedades funcionales del recubrimiento de quitosano. Varios aceites esenciales de plantas son agentes antimicrobianos (AM), que tiene un gran potencial como ingredientes conservantes, además de ser generalmente reconocidos como seguros GRAS (US Food and Drug Administration). Los componentes de (AM) se encuentran comúnmente en las fracciones de los aceites esenciales y pueden tener un amplio espectro de actividad (AM). Uno de ellos es el carvacrol.

### 3.8 Carvacrol

Carvacrol (5-isopropil-2-metil-fenol) es un constituyente monoterpeneo fenólico de los aceites esenciales producidos por numerosas plantas aromáticas y especies como el comino negro (*Nigella sativa* L.), la mejorana (*Origanum mejorana* L), el orégano (*Origanum vulgare* L.), y el tomillo (*Thymus Vulgaris* L.) (Silva *et al.*, 2012). El Carvacrol exhibe propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antitumorales y actividad anti-inflamatoria (Beena & Rawat, 2013 y Silva *et al.*, 2012).

El carvacrol fue elegido como agente antimicrobiano en estas formulaciones ya que este compuesto presenta varias características positivas. Es un compuesto natural con actividad antimicrobiana contra una amplia gama de bacterias está generalmente reconocido como seguro (GRAS) para su consumo, ha sido aprobado por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos para el uso en alimentos y ha sido incluido por el consejo de Europa en la lista de los aromas químicos que pueden añadirse a los productos alimenticios (Santos *et al.*, 2015). Arrieta *et al.*, (2012) Reportaron que las películas en las que se adicionaba carvacrol no mostraban diferencias aparentes en la transparencia y el color, sin embargo las muestras que contienen carvacrol mostraron un olor ligeramente característico a orégano, en concentraciones de 10%.



**Figura 4.** Estructura molecular carvacrol

### 3.9 Tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.)

Durante muchos siglos, el tomate ha recorrido grandes distancias convirtiéndose en una de las frutas más populares en todo el continente americano. Es originario de los Andes Perú, donde apareció de forma silvestre, esparciéndose gradualmente por todo el continente americano (Rosales, 2008). Actualmente es ampliamente producido y consumido en todo el mundo, tanto fresco como procesado industrialmente (Zapata *et al.*, 2008).

Es una planta en forma de arbusto que se cultiva anualmente y puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta. Es uno de los frutos que contiene mayor cantidad de vitaminas entre las que destacan C, E, provitamina A y vitaminas de grupo B, en especial B1 y B3 y minerales como potasio y el fósforo, tiene bajo valor calórico 0.2 Kcal g<sup>-1</sup> y se caracteriza por un elevado contenido de agua, de 90 a 94%. Además, se reportan importantes contenidos de azúcares solubles (fructosa, glucosa y sacarosa), menor proporción de proteínas, fibra, ácidos orgánicos (cítrico y málico) (Ruiz *et al.*, 2012). Presenta un alto contenido de carotenos como el licopeno, pigmento natural que aporta al tomate su color rojo característico.

El alto contenido en vitaminas C y E, y la presencia de carotenos en el tomate convierten a este en una importante fuente de antioxidantes, sustancias con función protectora de nuestro organismo. El contenido de antioxidantes del tomate depende principalmente de factores genéticos, ambientales y estado de maduración (Rosales, 2008).





**Figura 5.** Tomate cherry (*Solanum lycopersicum* L)

### **3.10 Índices de calidad del tomate cherry**

La calidad, es uno de los elementos más importantes de los productos de cualquier categoría, en términos del tomate, se refiere al cumplimiento de los atributos sensoriales y fisiológicos del fruto (Ruiz *et al.*, 2012). La calidad debe definirse en función del uso al que va a ser destinado el producto por lo que en el caso del tomate fresco se debe tender al concepto de “calidad total” considerando todas las características valoradas por los consumidores, no solo la forma, el color y la ausencia de daños, sino también el sabor, el aroma, la textura y el contenido nutricional (Jones, 1999).

Apariencia física: color, tamaño, forma, defectos y deterioro. La calidad del tomate estándar se basa principalmente en la uniformidad de la forma (dependiendo del tipo puede ser redondo, forma globosa, globosa aplanada u ovalada) y el color (anaranjado-rojo o rojo intenso o amarillo claro, evitando las manchas), no debe presentar grietas de crecimiento, quemaduras de sol, daños por insectos, ni daño mecánico o magulladuras. El tamaño no es un factor que defina el grado de calidad, pero puede influir de manera importante en las expectativas de su calidad comercial (Ruiz *et al.*, 2012; Rosales, 2008).

#### **3.10.1 Firmeza**

La firmeza es un parámetro indicativo de la calidad de los tomates frescos y procesados y está relacionada con la estructura de la pared celular, la firmeza de las frutas y hortalizas depende de la turgencia, cohesión, forma y tamaño de las células que conforman la pared celular, la presencia

de los tejidos de sostén o soporte y de la composición del fruto. Los componentes de las paredes celulares que contribuyen con la firmeza son la hemicelulosa, la celulosa y la pectina. La firmeza va disminuyendo con el tiempo, el ablandamiento de la pulpa de los vegetales es uno de los mecanismos bioquímicos que plantea más problemas, ya que además de producir una pérdida de calidad (sobre-maduración) aumenta la sensibilidad a los daños mecánicos y al ataque fúngico (Rosales, 2008; Zapata, 2007).

### **3.10.2 Color**

El color del fruto es una característica de calidad que ha recibido una atención intensiva por las industrias de procesamiento de tomate fresco en el mercado y, así como por los consumidores (Kaur *et al.*, 2013). El color rojo en los tomates aparece como resultado de la degradación de clorofilas y el aumento de la biosíntesis de carotenoides, que está relacionado con la conversión de cloroplastos en cromoplastos, por lo que se relaciona con el grado de madurez y vida útil en postcosecha. Por lo tanto, el color es un atributo importante de la calidad de la fruta de tomate y se utiliza en la industria alimentaria para predecir el color de los productos acabados, que depende del grado de madurez de la fruta, los tratamientos tecnológicos y las condiciones de almacenamiento, entre otros factores (Stinco *et al.*, 2013).

### **3.10.3 Sabor**

Son numerosas las causas que determinan la variación del sabor del tomate, entre las que podemos mencionar: el contenido de azúcares, el grado de maduración, la nutrición vegetal, el genotipo y el manejo de postcosecha. La intensidad del sabor del fruto está determinada principalmente por el contenido en azúcares (fundamentalmente fructosa y glucosa), de ácidos orgánicos (cítrico, málico y acidez total) y la composición de compuestos volátiles. El gusto del consumidor determina que una mayor relación azúcares/acidez genera un efecto favorable en el sabor (Baldwin *et al.*, 1998).

### **3.11 Procesos metabólicos que influyen sobre la calidad del tomate cherry**

#### **3.11.1 Respiración**

La respiración es el proceso principal que transforma las reservas acumuladas en energía. Tal actividad se manifiesta por la emisión de calor, de anhídrido carbónico y de vapor de agua, que se obtienen principalmente de la demolición de los azúcares en presencia de oxígeno. El comportamiento de las distintas especies de frutas y hortalizas es muy variable en lo que respecta a la intensidad respiratoria, pero en todas ellas el denominador común es la gran influencia de la temperatura sobre la intensidad respiratoria. Cuanto más baja sea la temperatura más reducido resulta este proceso vital, y en consecuencia, con más lentitud se producen los fenómenos de la maduración y de la senescencia. Por lo tanto, la conservación de frutas y hortalizas se podrá mejorar siempre que se reduzca a los niveles mínimos su intensidad respiratoria, sin provocar daños a los tejidos o provocarles la muerte (Casp y Abril, 1999).

En la respiración se encuentran tres fases: a) la descomposición de polisacáridos en azúcares simples, b) la oxidación de azúcares a ácido pirúvico y c) la transformación aeróbica del piruvato y de otros ácidos orgánicos en CO<sub>2</sub>, agua y energía. Los factores que afectan la respiración son de dos tipos:

- a). Factores internos. Tales como estado de desarrollo, composición química del tejido, tamaño del producto, cubiertas naturales y tipo de tejido.
- b). Factores externos. Tales como temperatura, etileno, oxígeno disponible, dióxido de carbono, reguladores del crecimiento, lesiones a los frutos (Ferreira, 2005; García *et al.*, 2010).

#### **3.11.2 Transpiración**

La permanencia de frutas y hortalizas a temperatura ambiente después de haber sido recolectadas, y haberse así interrumpido la absorción de agua a través de la planta, facilita la transpiración y en consecuencia la pérdida de agua en estado vapor, con la consiguiente pérdida de peso. La pérdida de agua es el resultado de la migración del vapor de agua de los espacios intercelulares, que están saturados, hacia el ambiente en el que se ha depositado el producto, a causa de la diferencia de

presión de vapor entre los dos medios (en el ambiente la humedad relativa difícilmente superará el 50-60%). La salida de este vapor de agua se producirá prioritariamente por las aberturas naturales presentes en la epidermis de las frutas y hortalizas: estomas y lenticelas. También puede producirse por las posibles lesiones o heridas que presente el producto, o incluso a través de la cutícula que nunca es completamente impermeable (Stanghellini, 1992; Santiago *et al.*, 1998).

Si la pérdida de peso supera unos ciertos niveles, específicos para cada producto, puede ser causa de daños irreversibles. La pérdida de peso produce en primer lugar pérdida de turgencia, y si se mantienen las condiciones que la propician se llegará a arrugamientos de la epidermis y hasta la aparición de manchas superficiales. Todo ello lleva a una depreciación de la calidad del producto que se suma a la pérdida directa de peso que se ha producido (Santiago *et al.*, 1998).

La pérdida de agua por transpiración es proporcional a la diferencia entre la presión parcial del vapor de agua en el aire y en la superficie del producto almacenado. Cuanto mayor sea la humedad relativa del ambiente menor será esta diferencia y por lo tanto menor será también la pérdida de peso. Hay que tener presente que la mayoría de frutas y hortalizas alcanzarán el equilibrio en un ambiente con una humedad relativa próxima al 97%, ya que su actividad de agua suele rondar el 0,97. El almacenamiento a humedades relativas tan altas solo es posible cuando tiene lugar a temperaturas bajas, ya que de otro modo la proliferación microbiana arruinaría el proceso de conservación. Por lo tanto, se podrán plantear almacenamientos a elevada humedad relativa cuando esta vaya acompañada de una temperatura suficientemente baja que impida la multiplicación incontrolada de microorganismos (Casp y Abril, 1999).

### **3.11.3 Producción de etileno**

El etileno es una fitohormona que se encuentra en los tejidos de todos los vegetales, en sus raíces, tallos, hojas, frutos y flores. Estimula la maduración de los frutos climatéricos, desencadenando todas las reacciones que este proceso conlleva. Además es responsable de una gran cantidad de daños y problemas de deterioro de la calidad de las frutas, hortalizas y flores, tanto en los productos climatéricos en los que participa directamente en los procesos metabólicos, como en los no climatéricos en los que provoca solamente el cambio de color externo (Ramírez *et al.*, 2004).

Para que el etileno produzca su efecto es necesario que en los tejidos vegetales exista una concentración mínima de este gas. Esta concentración mínima así como la temperatura a la que comienza a actuar es una característica específica de cada producto. Sin embargo, dado que tanto la producción como la actuación del etileno dependen de la temperatura, el enfriamiento siempre será ventajoso para mantener inalterada la calidad, evitando los problemas producidos por este gas, a la vez que se retrasa la aparición de la madurez y de la senescencia (Casp y Abril, 1999).

Los tomates se cosechan en una etapa de color verde madura, sin embargo después de la cosecha y durante el transporte y almacenamiento, los tomates pueden perder su calidad y ser invendibles. En consecuencia, mejorar y preservar la calidad de los tomates en términos de su apariencia, color, textura, sabor y vida útil, es extremadamente importante para los productores, empresas de procesamiento de tomate y la industria alimentaria en general (Gustavsson *et al.*, 2011). Durante el almacenamiento, las frutas y hortalizas se deterioran principalmente a través de la acción de microorganismos causantes de deterioro, que se activa debido al cambiante estado fisiológico de las hortalizas (Cheema *et al.*, 2014).

#### **3.11.4 Conservación**

El almacenamiento en condiciones óptimas de frío ha sido eficaz en la ampliación de la vida útil, ya que reduce la tasa de respiración de la fruta, pero los beneficios procedentes de la refrigeración no son suficientes para preservar la calidad del producto (Wang *et al.*, 2010). Este fruto es susceptible a varias enfermedades causadas por hongos patógenos, *Botrytis cinerea*, se encuentran entre los hongos patógenos más comunes responsables de la descomposición en postcosecha en tomate cherry (Fagundes *et al.*, 2013).

Los tomates destinados para el almacenamiento a largo plazo generalmente son tratados con fungicidas para el control de patógenos en postcosecha, pero recientemente, un número creciente de países han exigido productos frescos que no hayan sido tratados con agroquímicos, en especial los que se aplican en postcosecha. Además, el uso repetido de ciertos fungicidas químicos ha dado lugar a la aparición de poblaciones de patógenos resistentes a los fungicidas (Feng *et al.*, 2008).

Varias tecnologías se han desarrollado para extender la vida útil de frutas y verduras, que incluyen el control de enfermedades causadas por hongos. Una de estas técnicas es el desarrollo de recubrimientos comestibles con propiedades antifúngicas, de barrera y biodegradables (Valencia-Chamorro *et al.*, 2011).

## 4.0 MATERIALES Y METODOLOGÍA

El estudio se desarrolló en dos etapas como se describe a continuación:

1. En la primera etapa se analizó el efecto de la concentración de carvacrol y el método de homogenización sobre las propiedades fisicoquímicas de emulsiones y películas a base de quitosano. A partir de estos resultados se seleccionó la emulsión que presentó las mejores propiedades para ser utilizada en la segunda etapa.
2. En la segunda etapa, se estudió el efecto de la aplicación de la emulsión quitosano-carvacrol, seleccionada previamente, mediante técnica de inmersión, aspersion y aspersion electrostática, sobre los parámetros de calidad de tomates cherry almacenados en refrigeración.

### **ETAPA I. Desarrollo de emulsiones, elaboración de películas y análisis de las propiedades físico-químicas de emulsiones y películas.**

#### **4.1 Reactivos utilizados en la preparación de los recubrimientos comestibles y de las películas preformadas en placa**

Para el desarrollo de las emulsiones y formación de la película se utilizó quitosano (C-3646, Sigma-Aldrich, USA) de grado comercial, calidad alimentaria, con > 75% de desacetilación y un peso molecular de 810 KDa (Yang and Young, 2009) y Carvacrol con pureza >98% Sigma-Aldrich USA). Ácido acético glacial, Glicerol, Tween80 y etanol fueron adquiridos en Merck S.A.

#### **4.2 Preparación de las emulsiones formadoras de recubrimiento**

Las emulsiones formadoras de recubrimiento fueron preparadas de acuerdo a los procedimientos señalados por López-Mata *et al.*, (2013), Kurek *et al.*, (2013) y Rubilar *et al.*, (2013), con algunas modificaciones. Se disolvió quitosano (1,5% p/v) en solución hidroalcohólica de ácido acético al

1% (v/v) y etanol 2,5% (v/v) mediante agitación durante 6 horas a temperatura ambiente. La solución resultante fue filtrada a vacío a través de una tela, para remover las impurezas. Posteriormente se le adicionó glicerol como plastificante (0,15 ml/g quitosano) y se agitó durante 30 minutos. Finalmente se incorporó Tween80 (0,5% v/v) como emulsionante para ayudar a dispersar el carvacrol (0,25; 0,5; y 1,0 % v/v) en la solución hidroalcohólica de quitosano, la mezcla se homogenizó en Ultra-turrax T25 (IKA WERKE, Germany) a 21.500 rpm por 5 minutos.

Estas mismas formulaciones fueron obtenidas mediante el uso de un Homogeneizador de altas presiones (Stansted modelo NG 12500, England). Para ello, luego de incorporar el Tween80 y el carvacrol a la solución hidroalcohólica de quitosano, la mezcla fue sometida a una pre-homogenización en Ultraturax a 21.500 rpm por 5 minutos. Posteriormente la pre-emulsión fue homogenizada a 100 MPa en el homogeneizador de altas presiones. La temperatura del homogeneizador fue controlada, mediante un baño refrigerado (WiseCircus).

### **4.3 Propiedades fisicoquímicas de las emulsiones formadoras de recubrimiento**

Una vez elaboradas las emulsiones correspondientes a las distintas concentraciones y por los diferentes métodos, se hizo un análisis de las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones formadoras de recubrimiento, para ello se analizaron las propiedades de tamaño de gota e índice de polidispersidad, potencial-Z, tensión superficial, ángulo de contacto y caracterización reológica de las mismas.

#### **4.3.1 Distribución del tamaño de gota e índice de polidispersidad de las emulsiones**

La distribución del tamaño de gota e índice de polidispersidad de las emulsiones se determinó mediante un equipo de dispersión dinámica de la luz, con un láser difractor Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, Reino Unido) que trabaja en 633 nm, 25 °C y con un ángulo de dispersión fijo de 90°. Para ello se utilizó una dilución 1:24. Para la medición se utilizó una Cubeta: DTS1070 Folded capillary cell (Polycarbonate), con la cual se puede medir tamaño de gota y potencial- $\zeta$  simultáneamente. La dispersión dinámica de la luz mide el movimiento browniano de las gotas de tamaño manométrico y relaciona este movimiento a un



diámetro hidrodinámico equivalente (nm). El índice de polidispersidad (IP) es un parámetro importante que puede reflejar el estado de la distribución de tamaño de gota en la emulsión; un valor de IP pequeño indica una distribución de tamaño de gota más concentrada, por lo general el tamaño de gota e índice de polidispersidad son necesarios para reflejar el tamaño de partícula promedio de la emulsión (Peng *et al.*, 2015). La distribución de tamaño de gota se expresó como diámetro promedio-Z, que es el valor medio del diámetro basado en la relación volumen-superficie de la gota. Ambos análisis se realizaron en triplicado.

#### **4.3.2 Potencial- $\zeta$ de las emulsiones**

El potencial- $\zeta$  se determinó usando un (Zetasizer NanoZS, Malvern Instruments, Ltd., Worcestershire, Reino Unido) el cual mide la movilidad electroforética de las gotas de aceite, mediante dispersión de luz de fase-análisis con un láser difractor. Las muestras se diluyeron 200 veces utilizando agua ultrapura, posteriormente se inyectaron en una célula capilar plegada (Malvern Instruments, Ltd., Worcestershire, Reino Unido) para el análisis. El cálculo de potencial- $\zeta$  depende de la viscosidad del líquido que rodea a las partículas (Wu y McClements, 2015), en nuestro experimento se utilizó la viscosidad de la formulación base diluida. El software del instrumento se utilizó para calcular los potenciales- $\zeta$  a partir de los datos de movilidad electroforética. El potencial- $\zeta$ , se expresó en mV. Los análisis se realizaron en triplicado.

#### **4.3.3 Energía libre de superficie del epicarpio de tomate cherry**

La energía libre de superficie (*ELS*) del epicarpio de tomate se determinó por el método de Zisman. El cual realiza una estimación de la tensión superficial crítica ( $\gamma_C$ ) de la superficie del alimento, la cual se determina por una extrapolación a partir del gráfico de Zisman. Para determinar los componentes de *ELS* se utilizaron cuatro líquidos con sus componentes conocidos: formamida, glicerol, etanol y agua destilada. Para determinar el ángulo de contacto de estos líquidos sobre la superficie del tomate cherry, se siguió el mismo procedimiento indicado en el inciso 4.3.5.

#### 4.3.4 Tensión superficial de las emulsiones

La tensión superficial de la emulsión formadora de recubrimiento se midió con un tensiómetro (sigma 700/701 ARQUIMED). Para la medición se utilizó 50 ml de la emulsión, la cual fue acondicionada previamente a 20 °C y posteriormente colocada en la base del tensiómetro. Mediante el software One attension se seleccionó la opción; tensión superficial interfacial-con anillo. 10 repeticiones se realizaron para cada muestra.

#### 4.3.5 Medidas de ángulo de contacto de las emulsiones sobre epicarpio de tomate cherry

Para cada solución se midieron los ángulos de contacto utilizando el método de la gota sésil, el cual se realizó sobre la superficie externa de la cutícula de tomate cherry a temperatura ambiente (20°C), para ello se utilizó una cámara de alta velocidad (HotShot CC Series, NAC Image Technology Inc, Estados Unidos) y el software Hot Shot 1.3 (NAC Image Technology INC). Las gotas de un volumen aproximado de 4 µL fueron colocadas manualmente con una micropipeta (Gilson Pipetman U2). El ángulo de contacto (ángulo entre el plano tangente a la superficie del líquido y el plano tangente del epicarpio) se determinó utilizando el programa ImageJ con el plug-in *Drop Snake Análisis* el cual utiliza el reflejo de la caída para obtener una medición más precisa. Las medidas de ángulo de contacto se realizaron dentro de los 10 seg. después de colocar la gota en el epicarpio, para desprestigiar el efecto de la evaporación. Se realizaron medidas de ángulo de contacto en 10 gotas.

#### 4.3.6 Caracterización reológica de las emulsiones

La caracterización reológica de las emulsiones formadoras de recubrimiento se realizó a través de pruebas rotacionales, utilizando un reómetro Physica MCR 300 (Anton Paar, Alemania). Los experimentos fueron desarrollados utilizando una geometría plato plato (PP 50) de dirección radial y un gap de 0,6 mm. Las muestras se sometieron a un gradiente de velocidad constante de 1-1000 (1/s). La temperatura de la muestra se mantuvo constante a 20 °C, por medio de un peltier conectado a un baño termostático. Las curvas de flujo se analizaron utilizando el software del fabricante (US200 Physica versión 2.01, USA). Los análisis se realizaron en triplicado.

#### **4.4 Formación de las películas emulsionadas**

Las películas emulsionadas fueron obtenidas mediante el método de “casting”. Para la obtención de películas con un espesor homogéneo, se utilizó un volumen de emulsión con el mismo contenido de sólidos totales. Este volumen se vertió sobre placas petri controlando el contenido de sólidos y el peso en una balanza analítica (Boeco, Germany). Posteriormente las placas fueron dispuestas en una estufa a 30 °C durante 24 horas para su secado. Una vez terminado este proceso, las placas con las películas formadas fueron almacenadas en un desecador con sílica gel, hasta su uso.

#### **4.5 Propiedades funcionales de las películas**

En el caso de las películas preformadas en placa se hizo un análisis visual para detectar posibles defectos de integridad física y coalescencia de lípido y se les midieron el espesor, propiedades ópticas (transparencia) permeabilidad al vapor de agua, propiedades mecánicas y solubilidad de la película en agua.

##### **4.5.1 Espesor de las películas**

El espesor de las películas se evaluó utilizando un micrómetro (Electronic Outside Micrometer, Fowler), midiendo en cinco puntos de la película obtenida, los cuatro extremos y el centro, estas medidas se realizaron en triplicado para cada formulación.

##### **4.5.2 Microscopia electrónica de las películas**

Un análisis microestructural de la superficie en contacto con el aire y las secciones transversales de las películas se llevó a cabo utilizando la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) en un microscopio electrónico (JEOL JSM LV-6380). Muestras de películas de 5 x 1 mm se cortaron, para realizar el análisis de superficie. Para analizar la sección transversal de las películas estas se criofracturaron por inmersión en nitrógeno líquido y se montaron sobre trozos de cobre perpendicularmente a su superficie. Las muestras se recubrieron de oro y las imágenes fueron capturadas utilizando un voltaje de aceleración de 15kV.

### 4.5.3 Propiedades mecánicas de las películas

Se cortaron trozos de películas de 8 cm de largo por 2,0 cm de ancho, correspondientes a cada emulsión y se acondicionaron durante 72 h a una humedad relativa del 50% en un desecador provisto de una solución saturada de nitrato de magnesio, para evitar fractura y pérdida de integridad física de las mismas durante su manipulación. Las propiedades mecánicas de estas muestras se determinaron mediante un ensayo de tracción hasta la rotura realizado con un analizador de Textura TA.XT2 (TA Instruments, Newcastle, USA) de acuerdo al método ASTM D882-95 (Norma ASTM, 1995). La distancia inicial de separación de las mordazas y velocidad del test fueron fijadas a 80 mm y 1mm/s, respectivamente.

Las propiedades mecánicas determinadas fueron la tensión a la rotura, medida en Newtons y calculada como el cociente entre la fuerza de tracción soportada por la muestra en el momento de la rotura y la sección o espesor inicial de la misma; el porcentaje de elongación máximo (% E), que representa el incremento longitudinal relativo a la longitud inicial de la muestra tras soportar una fuerza de tracción, siendo una medida de la extensibilidad de la película (Navarro, 2007).

La tensión de fractura indica la resistencia a la fractura del recubrimiento, y el porcentaje de elongación, la flexibilidad del recubrimiento.

### 4.5.4 Solubilidad en agua de las películas

La solubilidad en agua de las diferentes películas de quitosano-carvacrol fue evaluada mediante la inmersión de las películas en 50ml de agua destilada a 14°C durante 6 horas. La película después de la inmersión se secó a 110°C hasta peso constante (peso seco final). El peso de sólidos inicial fue determinado previamente en un proceso de calentamiento a 110°C hasta peso constante. Estos mismos datos fueron utilizados para determinar el contenido de humedad de las películas. Finalmente la solubilidad de las películas en agua fue calculada utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Solubilidad en agua (\%)} = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco inicial}} \times 100 \quad (1)$$

#### 4.5.5 Opacidad de las películas

La opacidad de las películas fue determinada usando el método de Han and Floros 1997. Las películas fueron cortadas en trozos rectangulares y colocadas en la celda de un espectrofotómetro UV (ThermoScientific GENESYS 20, Thermo Fisher Scientific, Inc., Rochester, NY, EE.UU.) a 600 nm. La opacidad de las películas fue medida en triplicado. El valor de opacidad fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\text{Valor de opacidad} = \frac{A}{T} \quad (2)$$

Donde A es la absorbancia a 600 nm y T es el espesor de la película (mm).

#### 4.5.6 Permeabilidad al vapor de agua de las películas

La permeabilidad al vapor de agua de las películas se obtuvo a través del método gravimétrico de la ASTM E96-95 modificado por (Gennadios *et al.*, 1994). Para la medición de la permeabilidad al vapor de agua se utilizaron celdas de permeabilidad de acero inoxidable (Fisher Scientific, USA). En cada celda de permeabilidad se depositaron 7 ml de agua destilada y luego en la parte superior de cada celda, se fijó una sección circular de cada película mediante el uso de grasa de silicona de alto vacío y un anillo metálico mediante tornillos para asegurar la hermeticidad de las celdas. Posteriormente estas celdas fueron introducidas en desecadores que contenían una solución saturada de cloruro de sodio y un ventilador para homogeneizar y mantener un gradiente de humedad relativa de 100/75 a través de la película. El desecador junto con las celdas de permeabilidad se colocó en una estufa a 25 °C, registrándose el peso de las celdas cada dos horas, por un período de 24 horas para asegurar que la pérdida de peso se encuentre en estado estacionario.

$$P_{W1} = PT - (P_T - P_{W0}) \exp(N_W h_i / cD) \quad (3)$$

$$N_w = (6.43 \times 10^{-11}) WVTR_m \quad (4)$$

$$WVTR_c = WVTR_m [(P_{w0} - P_{w2}) / (P_{w1} - P_{w2})] \quad (5)$$

Finalmente la permeabilidad al vapor de agua de las películas fue calculada en función de la siguiente ecuación:

$$P_m = (1.157 \times 10^5) WVTR_m \times L / \Delta P_a \quad (6)$$

Dónde:

Pt: Presión total atmosfera (Pa)

D: Difusividad del vapor de agua en el aire a 25 °C (m<sup>2</sup>/s)

R: Constante universal de los gases (8306,600 Pa cm<sup>3</sup>/g mole K)

T: Temperatura absoluta durante el ensayo (K)

P<sub>w1</sub>: Presión parcial del vapor de agua bajo la película (Pa)

P<sub>w2</sub>: Presión parcial de vapor de agua de la película en la superficie externa de la celda (Pa).

## **ETAPA II. Aplicación de la emulsión sobre tomate cherry y análisis de parámetros de calidad**

Se seleccionó la emulsión que presento las mejores propiedades fisicoquímicas estudiadas previamente, para posteriormente ser aplicada sobre la superficie del tomate cherry.

### **4.6 Material vegetal**

Tomate cherry (*Solanum Lycopersicum* L.) se adquirieron en el mercado local, con un grado de madurez inicial homogéneo. Para el experimento se seleccionaron frutos de tamaño uniforme, libre de cualquier daño mecánico y la infección de insectos o patógenos.

### **4.7 Acondicionamiento del tomate cherry**

Las frutas seleccionadas, se lavaron con agua del grifo para liberar la superficie de los restos de tierra y otros materiales ajenos a la fruta. Estos se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio a 25 ppm durante 10 minutos, para descontaminar la superficie seguida de un secado a temperatura ambiente.

### **4.8 Aplicación de la emulsión sobre los tomates utilizando diferentes técnicas**

Se usaron tres técnicas de aplicación: inmersión, aspersion y aspersion electrostática, con el fin de evaluar su eficacia. Con el objetivo de obtener películas homogéneas, se definió un tiempo de aplicación diferente para cada técnica.

#### **– Inmersión**

Las muestras de tomates se colocaron en un tamiz y se sumergieron en la emulsión formadora de recubrimiento dos veces consecutivas durante 7,5 segundos cada una. Entre cada inmersión se drenó el exceso de emulsión y se secó a temperatura ambiente con la ayuda de un ventilador

### – **Aspersión y Aspersión electrostática**

Para la aplicación de la emulsión mediante la técnica de aspersión y aspersión electrostática, se utilizó un equipo aspersor asistido por aire (CS-ET, Electrostatic Spraying System Inc., Watkinsville, GA). La pistola del aspersor se fijó perpendicularmente a las muestras, aproximadamente a 50 cm sobre una bandeja de metal que contenía cuatro filas de cuatro tomates cada una. La emulsión se asperjó dos veces consecutiva sobre las muestras de tomate durante 10 segundos cada una. Entre cada aplicación se drenó el exceso de emulsión y se secó a temperatura ambiente con la ayuda de un ventilador. Durante el proceso de aspersión, se utilizó un caudal de aspersión y presión de alimentación de aire de 3,8 L/h y 1,8 kg/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

Para el caso de la aspersión electrostática, se utilizó las mismas condiciones y el mismo procedimiento descrito anteriormente, pero generando un campo electrostático con un voltaje de 1,2 kV, producido por dos batería de 9 volt.

Un grupo de tomates sometidos a los mismos tratamientos de lavado y sanitización, pero sin aplicación de emulsiones, fueron considerados como control.

Finalmente los tomates recubiertos y no recubiertos fueron envasados en envases plásticos (clamshell) y almacenados en una cámara con temperatura controlada (AMILAB) durante 14 días a 12 °C y 95% humedad relativa, para el estudio de sus parámetros de calidad.

### **5.9 Tiempo de secado y densidad superficial de sólidos.**

El tiempo de secado se determinó mediante controles de peso de la muestra antes y después de la aplicación del recubrimiento y durante el proceso de secado. El tiempo de secado teórico correspondió al tiempo en que las muestras recubiertas alcanzaron un peso igual al de la muestra inicial más el peso de los sólidos totales presentes en el volumen de recubrimiento adherido. A su vez, la densidad superficial de sólidos, como un indicador del espesor medio del recubrimiento, se determinó mediante la ecuación 5.



$$DSS = \frac{M_{FA} X^f_S}{A_S} \quad (7)$$

Donde:

$DSS$ : Densidad superficial de sólidos, g/m<sup>2</sup>

$M_{FA}$ : Masa de la emulsión adherida en la superficie de la muestra, g

$X^f_S$ : Fracción másica de sólidos en la emulsión.

$A_S$ : Área superficial inicial de la muestra, m<sup>2</sup>

### 5.10 Resistencia a la transferencia al vapor de agua.

Los tomates recubiertos y no recubiertos fueron puestos en un desecador con 75,65 % de humedad relativa, generada por una disolución saturada de cloruro de sodio. La atmósfera interior se mantuvo homogeneizada constantemente mediante un ventilador. Los desecadores fueron introducidos en una cámara termostataada (AMILAB) mantenida a  $12 \pm 1$  °C. A intervalos de 2 horas se realizó el control de peso de cada muestra, con una precisión de 0,0001 g. La resistencia al vapor de agua fue estimada mediante la ecuación de la primera ley de Fick modificada (ecuación 8), tal como establecen diferentes autores (Avena-Bustillos y Krochta 1994; Wong *et al.* 1992). Para ello se utilizaran los datos de pérdida de peso en condiciones estacionarias. Se utilizó la superficie del tomate al comienzo del ensayo como superficie promedio. La  $a_w$  de las muestras de tomate fue determinada mediante un higrómetro de punto de rocío (Aqua Lab Decagon Devices Inc.)

$$RVA = \left[ \frac{\left( a_w - \frac{\%HR}{100} \right) P_{WV}}{RT} \right] \left( \frac{A}{J} \right) \quad (8)$$

Donde:

$RVA$ : Resistencia al vapor de agua, s/cm

$a_w$ : Actividad de agua de los tomates

$\% HR$ : Humedad relativa al interior del desecador

$P_{WV}$ : Presión de vapor del agua a la temperatura de la cámara, mm Hg

$R$ : Constante universal de los gases (3464,629 mm Hg cm<sup>3</sup>/g K)

- T*: Temperatura de la cámara de almacenamiento, K  
*A*: Área superficial del tomate, cm<sup>2</sup>  
*J*: Pendiente de la curva de pérdida de peso, en condiciones estacionarias, g/s

### 5.11 Actividad respiratoria

La actividad respiratoria de tomates cherry con y sin recubrimiento se determinó utilizando un sistema cerrado (Castelló *et al.*, 2006). Aproximadamente 150 g de muestra se colocaron en recipientes herméticos de vidrio de aproximadamente 500 ml con un septum en la tapa para efectuar la medida de concentración de gases en el espacio de cabeza a diferentes tiempos. Los recipientes se almacenaron en una cámara de temperatura controlada (AMILAB) a 12 °C. La medida de la concentración de gases se efectuó cada 30 minutos por medio de una aguja conectada a un analizador de gases (CheckMate 3). Este analizador de gases estaba equipado con un sensor de circonio para medir la concentración de O<sub>2</sub> y uno de rayos infrarrojos para la detección de CO<sub>2</sub> (Rocculi *et al.*, 2005). Se efectuaron tres repeticiones para cada tratamiento. Se consideraron los puntos experimentales en el intervalo de tiempo donde se observe una relación lineal entre la concentración de gases y el tiempo, para asegurar que no se produzcan cambios en la pauta respiratoria de las muestras y que los cambios en la composición del espacio de cabeza no producirán alteraciones importantes en su metabolismo (Navarro, 2010).

$$AR_{O_2} = \frac{(Y_{t_0}^{O_2} - Y_{t_t}^{O_2}) * V}{100 * M * t} \quad (9)$$

$$AR_{CO_2} = \frac{(Y_{t_0}^{CO_2} - Y_{t_t}^{CO_2}) * V}{100 * M * t} \quad (10)$$

La actividad respiratoria (AR<sub>i</sub>, ml\*kg<sup>-1</sup>\*h<sup>-1</sup>) de las muestras en términos de generación de CO<sub>2</sub> y consumo de O<sub>2</sub> se determinó a partir de la pendiente de la ecuación lineal del ajuste concentración de gases frente al tiempo, donde y<sub>t</sub><sup>i</sup> es la concentración de gases (%O<sub>2</sub>, %CO<sub>2</sub>) a tiempo t, i siendo O<sub>2</sub> (ecuación 9) o CO<sub>2</sub> (ecuación 10), M es la masa de la muestra (kg) y V el volumen del espacio de cabeza (ml) (Fonseca *et al.*, 2002).

### 5.12 Pérdida de peso.

La pérdida de peso se midió registrando el peso de 10 tomates recubiertos en una balanza analítica (Precisa XB 320M), en cada día de control (0, 7 y 14). Las pérdidas de peso se expresaron como porcentaje del peso inicial, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Pérdida de peso (\%)} = \frac{W_o - W_f}{W_o} \times 100 \quad (11)$$

Dónde:  $W_o$  es el peso inicial y  $W_f$  es el peso al final del periodo de almacenamiento.

### 5.13 Concentración de sólidos solubles, acidez titulable y pH

Los tomates fueron triturados completamente para obtener el jugo y posteriormente filtrarlo. La concentración de sólidos solubles (CSS) se midió utilizando un refractómetro digital (Pocket PAL-1 - Atago). La acidez titulable (AT) se determinó utilizando el método de la (AOAC, 2005), por valoración de 10 ml de muestra de jugo de tomate con 0,1 mol / L de hidróxido de sodio hasta un punto final de pH 8,1 y se expresó como g de ácido cítrico por 1 L. El pH se determinó usando un pH-metro (HI 2221-02, HANNA INSTRUMENTS) (Fagundes *et al.*, 2014). Los análisis se realizaron en triplicado.

### 5.14 Determinación de color

El color de las muestras se evaluó en la superficie del tomate en tres lugares distintos, antes y después de aplicado el recubrimiento por las diferentes técnicas y en los diferentes tiempo de almacenamiento (diez tomates se utilizaron para cada tratamiento).

Para obtener las coordenadas colorimétrica:  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (Tendencia desde el rojo hacia el verde) y  $b^*$  (Tendencia desde el amarillo hacia el azul) del sistema de coordenadas CIELAB (Figura 6), se utilizó un colorímetro CR-300 (Minolta Camera Co., Ltda, Osaka, Japan), con observador  $10^\circ$  e iluminante  $D_{65}$ . La calibración del equipo se realizó utilizando una placa estándar ( $L^*=97,14$ ;  $a^*=0,20$ ;  $b^*=1,84$ ).

A partir de estas coordenadas se determinaron los parámetros de tono ( $h_{ab}^*$ ), croma ( $C_{ab}^*$ ) y la diferencia de color 2000 ( $\Delta E_{00}$ ) en relación a su condición inicial, de las muestras durante su período de almacenamiento,

La fórmula de diferencia de color CIEDE2000 proporciona un mejor ajuste a las diferencias de color calculado, proporcionando de este modo mejores indicadores de perceptibilidad humana y la aceptabilidad de las diferencias de color (Sharma *et al.*, 2004; Luo, y Rigg, 2000; Pecho *et al.*, 2016)

### Croma (pureza del color)

$$C^*_{ab} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (12)$$

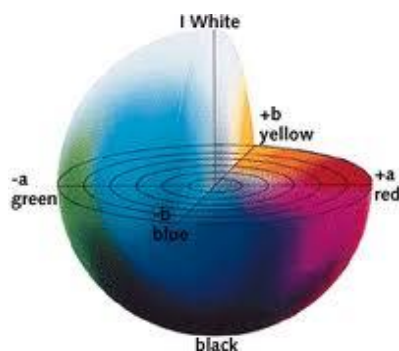
### Ángulo de tono

$$h^*_{ab} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*} \quad (13)$$

### Diferencia de color

$$\Delta E^*_{00} = \sqrt{\left(\frac{\Delta L'}{K_L S_L}\right)^2 + \left(\frac{\Delta C'}{K_C S_C}\right)^2 + \left(\frac{\Delta H'}{K_H S_H}\right)^2} + R_T \frac{\Delta C'}{K_C S_C} \frac{\Delta H'}{K_H S_H} \quad (14)$$

Donde  $\Delta L'$ ,  $\Delta C'$  y  $\Delta H'$  son las diferencias de luminosidad, croma, y el tono de un par de muestras en CIEDE2000,  $R_T$  es una función (función de rotación) que da cuenta de la interacción entre el croma y tonalidad las diferencias en la región azul. Las funciones de ponderación,  $S_L$ ,  $S_C$ ,  $S_H$ , ajustar la diferencia de color total de la variación en la ubicación de la pareja de diferencia de colores  $L'$ ,  $a'$ ,  $b'$  coordenadas y los factores paramétricos  $K_L$ ,  $K_C$ ,  $K_H$ , son términos de corrección para las condiciones experimentales (Sharma *et al.*, 2004).



**Figura 6.** Coordenadas colorimétricas del espacio del color CIE L\*, a\*, b\*.

### 5.15 Determinación de carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales, se realizó de acuerdo al método empleado por Moreno *et al.*, 2010; Britton, 1985; Strickland & Parsons, 1972). Para ello se colocaron 0,5 g de pulpa de tomate en vasos de precipitados de 100 ml, se agregaron 50 ml de acetona y se agitaron durante 4 hrs. Posteriormente se filtró la pulpa de tomate y se le adicionaron otros 50 ml de acetona, agitándose nuevamente (estos pasos podrían repetirse hasta obtener la decoloración total de la muestra). El volumen total de acetona fue de 100 ml. Finalmente al extracto acetónico se le midió la absorbancia a 480 y 750 nm. Tres repeticiones se realizaron para cada muestra.

(15)

$$\text{Carotenoides totales (g/L)} = \frac{(A_{480} - A_{750}) * \text{vol. extracto (en ml)}}{\left( (100 * E_{1\text{cm}}^{1\%}) * (\text{Vol filtrado en L}) \right)}$$

Donde:

$E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$  ( $100\text{ml g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) coeficiente de extinción específico para los carotenoides totales a 480 nm en acetona 90% (Britton 1985).

### **5.16 Firmeza**

La firmeza se determinó como la fuerza máxima, en Newtons (N), para penetrar la cutícula del tomate. Se determinó en lotes de 15 frutos por tratamiento haciéndose dos medidas en la región ecuatorial opuestas del fruto. El análisis se realizó a temperatura ambiente, usando un analizador de textura (TA-XT2) equipado con una aguja de punción de (diámetro, 5 mm). Durante la prueba de firmeza, se utilizaron las siguientes condiciones: velocidad de pre-ensayo 2.0 mm/s, velocidad de ensayo de 1.0 mm/s, y la velocidad de post-ensayo 5.0 mm/s, distancia 6 mm.

Una vez realizados los ensayos, se obtuvo el parámetro de dureza, el cual corresponde al peak de fuerza máximo que se alcanza durante la primera compresión, a través del software del equipo.

### **5.17 Evaluación sensorial.**

Los atributos sensoriales de las muestras de tomate recubiertos y no recubiertos, fueron evaluados por 15 panelistas semientrenados, sobre la base de una escala hedónica de 7 puntos: 1-me disgusta mucho; 2-me disgusta bastante; 3- me disgusta ligeramente; 4-ni me gusta ni me disgusta; 5-me gusta ligeramente; 6-me gusta bastante; 7- me gusta mucho. Los parámetros sensoriales evaluados fueron: apariencia, color, brillo, olor, sabor. (Ver encuesta anexo 21)

### **5.18 Diseño experimental**

Se utilizaron dos diseños experimentales:

1. Diseño experimental para el desarrollo de las emulsiones y elaboración de las películas.

Se utilizó un diseño de bloques completamente aleatorizado como se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 1.** Diseño experimental 1

	<b>Método de homogenización</b>	
	<b>Rotor estator</b>	<b>Altas presiones</b>
	0	0
<b>Concentración de</b>	0,25	0,25
<b>Carvacrol % (v/v)</b>	0,5	0,5
	1,0	1,0

- En la segunda etapa, se realizó una comparación de las técnicas de aplicación de la emulsión seleccionada previamente, para recubrir los tomates (Inmersión, aspersion y aspersion electrostática). Evaluándose su efecto sobre los parámetros de calidad de tomates cherry recubiertos almacenados en refrigeración.

**Tabla 2.** Diseño experimental 2

<b>Técnica de aplicación</b>	<b>Tiempo de almacenamiento (días)</b>		
	<b>1</b>	<b>7</b>	<b>14</b>
<b>Inmersión</b>	X	X	X
<b>Aspersion</b>	X	X	X
<b>Aspersion Electrostática</b>	X	X	X

El efecto de las variables en estudio (Concentración de carvacrol, Método de homogenización, técnicas de aplicación de las emulsiones y tiempo de almacenamiento) sobre las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones y películas y sobre los parámetros de calidad de tomates recubiertos fue analizado mediante análisis de varianza (ANOVA). Las diferencias entre las medias fueron evaluadas mediante el método de comparación múltiple Tukey, con un nivel de confianza de 95%. Los análisis se realizaron usando el software estadístico STATGRAPHICS Centurión XVI.I.

## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### ETAPA I. Desarrollo de emulsiones, elaboración de películas y análisis de las propiedades físico-químicas de emulsiones y películas.

#### 5.1 propiedades fisicoquímicas de las emulsiones

La preparación de las distintas emulsiones, se realizó utilizando una fórmula base de quitosano (1,5 % p/v), manteniendo constante la concentración de Tween80 (0,5%, v/v), Glicerol (0,15 ml/g de quitosano) y variando la concentración de carvacrol 0,25; 0,5 y 1,0% (v/v). A su vez, las emulsiones fueron obtenidas utilizando dos métodos de homogenización (rotor estator y rotor estator seguido de altas presiones). Finalmente las emulsiones se dejaron reposar 24 hrs, para posteriormente realizar los análisis correspondientes. En la Tabla 3 se presenta la composición de las emulsiones y la proporción carvacrol-Tween80 para cada una de ellas.

Formulación	Quitosano (g)	Glicerol (ml)	Tween80 (ml)	Carvacrol (ml)	Carvacrol:Tween80
F1	1,5	0,225	-	0	-
F2	1,5	0,225	0,5	0,25	1:2
F3	1,5	0,225	0,5	0,5	1:1
F4	1,5	0,225	0,5	1,0	2:1

**Tabla 3.** Composición de las emulsiones (100 ml)

#### 5.1.1 Tamaño de gota de carvacrol promedio e índice de polidispersidad de las emulsiones

El tamaño de las gotas en una emulsión tiene un gran impacto en sus propiedades físico-químicas y sensoriales, como la estabilidad, apariencia, sabor, y textura (McClements, 2009). En la Fig. 7 se muestra el tamaño de gota de carvacrol promedio e índice de polidispersidad (IP), según lo determinado mediante la técnica de Dispersión Dinámica de Luz (Zetasizer Nano ZS), la que permite determinar tamaños de partículas desde 1 nm hasta 10  $\mu$ m en sistemas coloidales.

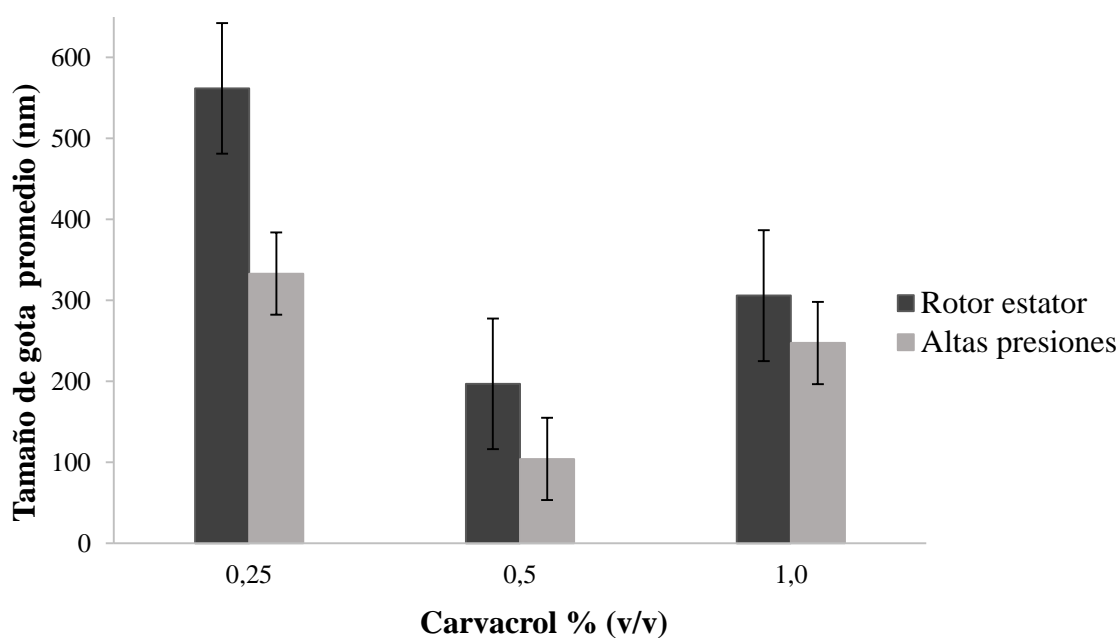
Al utilizar la método rotor estator para obtener las emulsiones, se observó que, el tamaño de las gotas promedio y el IP disminuyeron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) desde 561,87 a 196,80 nm y



desde 0,97 a 0,61 respectivamente, al aumentar la concentración de carvacrol desde 0,25 a 0,5% (v/v). Sin embargo; para el tamaño de gota promedio esta disminución no fue proporcional a la concentración de carvacrol, ya que al 0,5 % se obtuvo el menor tamaño de gotas (196,80). Este comportamiento puede estar relacionado con la proporción aceite:tensoactivo presente en la formulación. Cuando la cantidad de aceite es menor a la del tensoactivo (1:2), el tensoactivo que no es adsorbido en la superficie de las gotas de aceite, tenderá a unirse formando agregados micelares de mayor tamaño, debido a que excede su concentración micelar crítica (Ruiz, 2009; Shi *et al.*, 2011). A su vez, cuando la cantidad de aceite y tensoactivo son iguales (1:1), es decir, cuando se tiene 0,5% carvacrol, la totalidad del tensoactivo estará en la superficie de la gotas de aceite, manteniendo su tamaño original y retrasando los mecanismos de inestabilidad. Finalmente cuando la cantidad de aceite es mayor a la del tensoactivo (2:1), éste no recubrirá completamente las gotas de carvacrol formadas durante el proceso de emulsión, favoreciendo la formación de gotas de mayor tamaño promedio, en comparación con la emulsión al 0,5% de carvacrol. Sin embargo este aumento no fue estadísticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ). Bonilla *et al.*, (2012) estudiaron emulsiones a base de quitosano y dos tipos de aceite (albahaca y tomillo) y Sanchez-González *et al.*, (2010) estudiaron emulsiones de aceite esencial de bergamota en sistemas acuosos de quitosano y observaron un aumento de tamaño de gota con el incremento de la proporción de aceite en la emulsión, esto fue explicado por el aumento de la concentración de la fase dispersa, que promueve la velocidad de floculación de las gotas, así como por la reducción de la proporción entre el material de estabilización interfacial y la fase dispersa. Este último puede inducir a la floculación si no hay material suficiente para cubrir la zona interfacial aceite-agua completa de las gotas más pequeñas (McClements, 2005). Salvia-Trujillo *et al.*, (2015) establecieron que el tamaño final de las gotas en una nanoemulsión de alginato con aceite de hierba de limón dependen de la compleja interacción entre las condiciones de procesamiento y la velocidad de adsorción del surfactante sobre las gotas del aceite.

En cuanto al empleo del método de homogenización por altas presiones para la obtención de las emulsiones, este condujo a una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ) de los tamaños de gota en las emulsiones (333 a 104,12 nm) con el aumento del contenido de carvacrol. Este comportamiento fue similar al observado al utilizar la homogenización mediante rotor estator. Sin embargo, el tamaño promedio de las gotas de carvacrol, disminuyó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) en las tres concentraciones de carvacrol utilizadas, al compararlo con los promedios obtenidos por el

método rotor estator. Aun cuando ambas técnicas se clasifican como de alta energía, el homogenizador de altas presiones fue capaz de producir mayores fuerzas disruptivas que el sistema rotor estator, logrando un tamaño de gotas más pequeño (Maindarkar *et al.*, 2015). McClements, (2009) indicó que las emulsiones que han sido sometidas a una homogenización secundaria obtienen por lo general una reducción de tamaño de gota que las que se han sometido solamente a una homogenización primaria. Otros autores como: Vargas *et al.*, (2011); Bonilla *et al.*, (2012) y Ma *et al.*, (2012) estudiaron el efecto de las condiciones de homogenización rotor estator y rotor estator combinado con microfluidización y encontraron que la microfluidización promovió una reducción significativa en el tamaño de gota de las emulsiones.

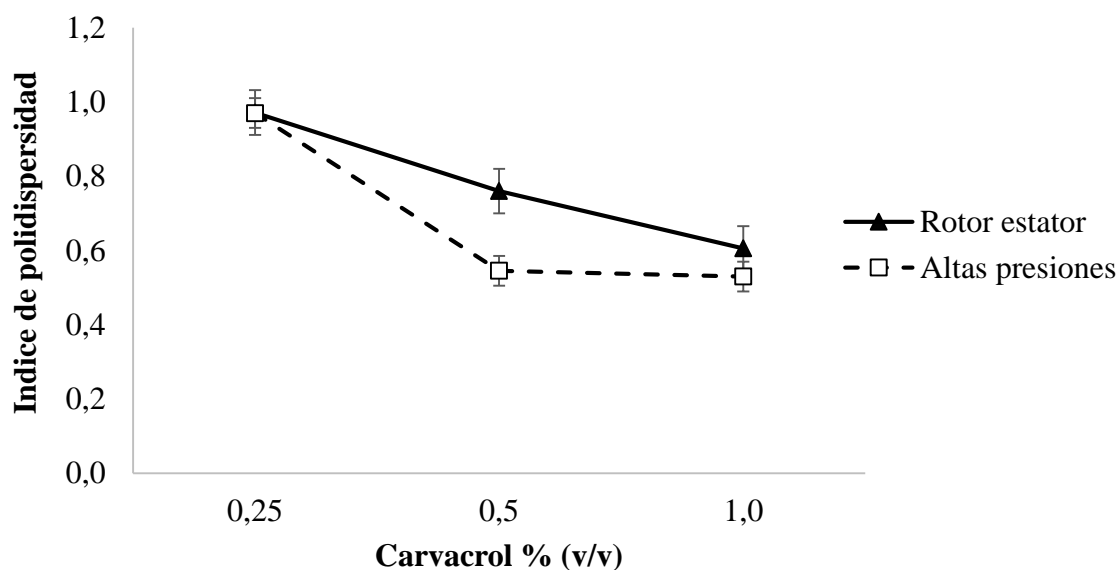


**Figura 7.** Efecto de la concentración de carvacrol, relación aceite:tensoactivo y método de homogenización sobre el tamaño de gota promedio de las emulsiones. Promedio  $\pm$  intervalo tukey.

El índice de polidispersidad (IP), de acuerdo a su valor caracteriza la emulsión en monodispersa o polidispersa. Cuando la emulsión presenta valores de IP por debajo de 0,2 indicaría uniformidad en el tamaño de gota de aceite, en este caso el sistema se conoce como monodisperso y por lo tanto es más estable. Por el contrario, si la emulsión presenta una amplia gama de tamaños de

gotas, se conoce como sistema polidisperso, presentando valores de IP cercanos a 1 (Wu & McClements, 2015; Guerra *et al*, 2016).

La Fig. 8 muestra el índice de polidispersidad de las distintas emulsiones obtenidas por diferentes métodos de homogenización. En las emulsiones obtenidas mediante el método de homogenización por rotor estator, se observó una disminución gradual en el índice de polidispersidad (0,97; 0,76; 0,61) a medida que aumentó la concentración de carvacrol, desde 0,25; a 1,0% (v/v). Una tendencia similar fue observada para las emulsiones obtenidas por el método de homogenización por altas presiones, produciéndose una reducción significativa del índice de polidispersidad entre 0,25 y 0,5% de carvacrol, no observándose un efecto significativo a concentraciones mayores.



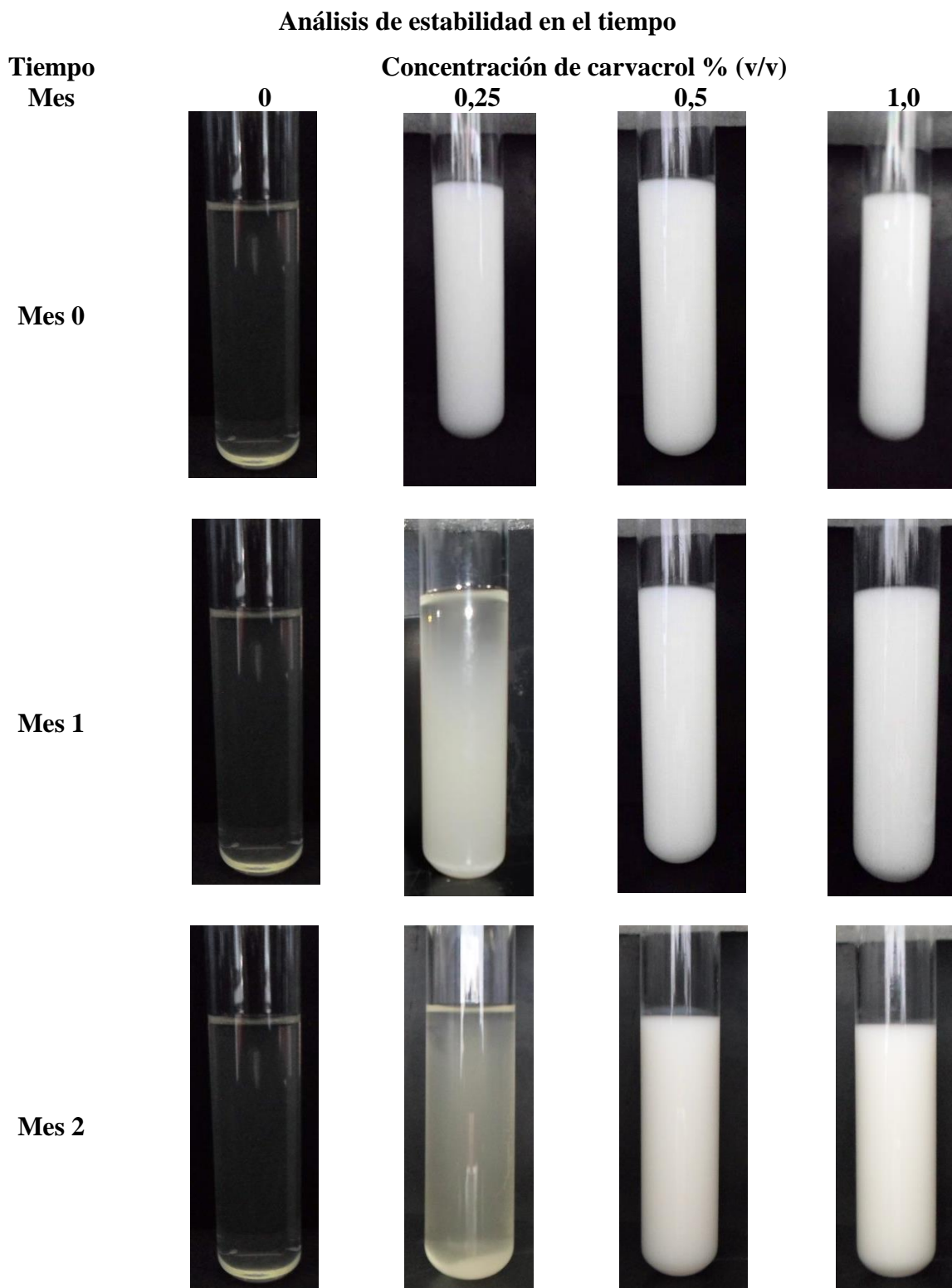
**Figura 8.** Efecto de la concentración de carvacrol, relación aceite:tensoactivo y método de homogenización sobre el índice de polidispersidad de las emulsiones. Promedio  $\pm$  intervalo tukey.

La reducción más eficiente en el índice de polidispersidad fue lograda mediante el uso del método de homogenización por altas presiones, en aquellas emulsiones con una concentración de carvacrol intermedia (0,5%). Este resultado estaría vinculado con la proporción aceite:tensoactivo

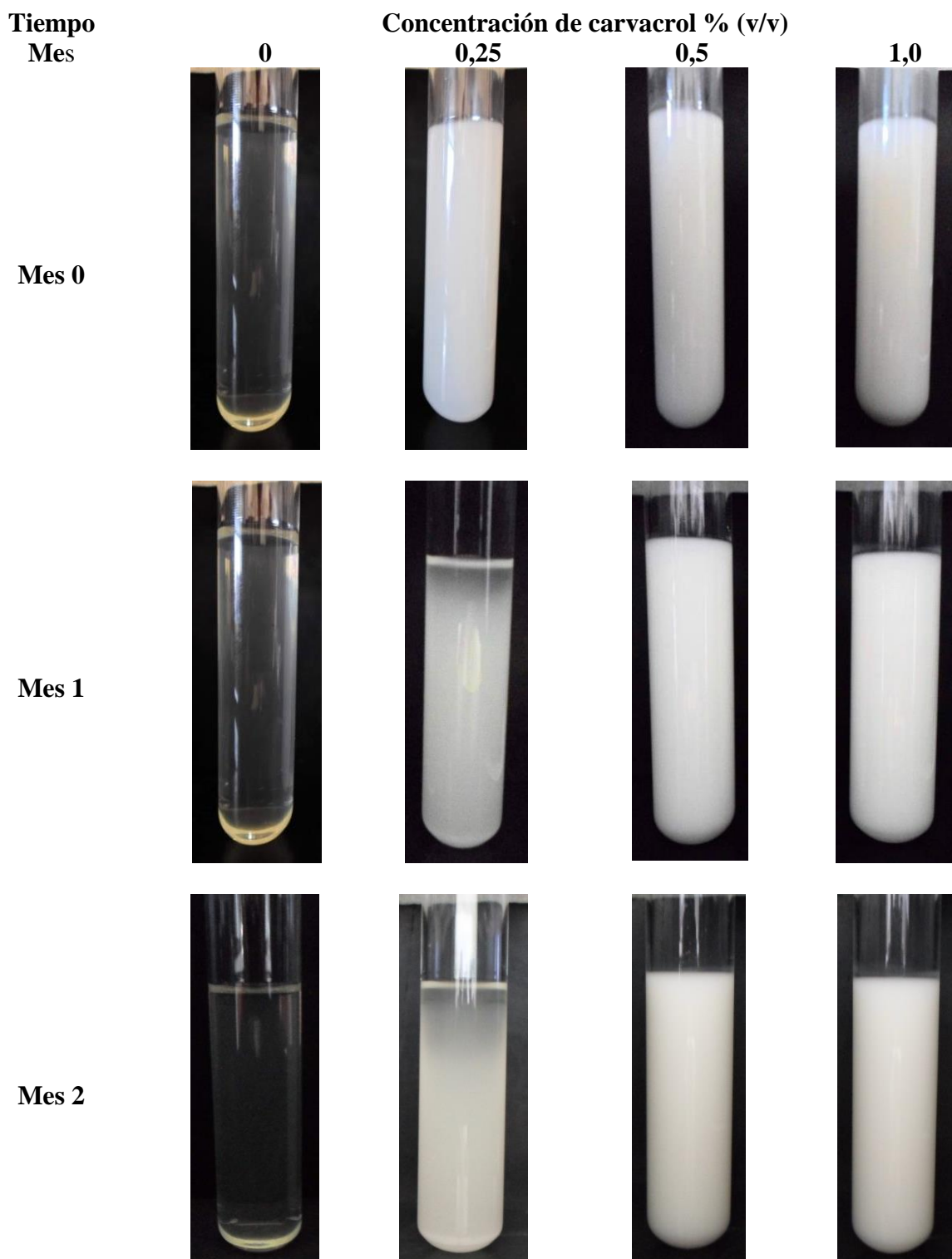
(1:1) presente en estas emulsiones, lo cual indicaría que la cantidad de tensoactivo fue capaz de mantener un tamaño de gotas de carvacrol más uniforme.

Un valor de IP y tamaño de gota promedio alto, es un claro indicador de la presencia de gotas grandes y posiblemente, una emulsión con baja estabilidad (Ruttarattamongkol *et al.*, 2015). Este fenómeno se logra apreciar claramente en el análisis de la estabilidad en el tiempo presentado en la Fig. 9 y 10. En estas se puede ver que la emulsión con menor estabilidad correspondió a aquella con una concentración de carvacrol de 0,25%, con el mayor índice de polidispersidad y mayor tamaño de gota promedio, utilizando ambas técnicas de emulsificación. Este resultado puede deberse a que hay una mayor concentración de tensoactivo que de aceite en la emulsión, lo cual genera un exceso que no es adsorbido en la superficie de las gotas de carvacrol favoreciendo la formación de micelas o agregados micelares de tensoactivos de distintos tamaños (Ruiz, 2009), las cuales con el tiempo producen una reducción en la estabilidad de las emulsiones.

De acuerdo a los resultados señalados anteriormente, se puede concluir que el uso de la homogenización por altas presiones condujo a la obtención de una emulsión con menor tamaño de gota e índice de polidispersidad. A su vez, estos parámetros fueron dependientes de la proporción aceite:tensoactivo utilizados en las emulsiones, siendo la proporción carvacrol:Tween80 (1:1) la que generó el tamaño de gota promedio e índice de polidispersidad más bajo. En general, se puede señalar que las emulsiones obtenidas mediante las distintas técnicas de homogenización, pueden ser definidas como polidispersas.



**Figura 9.** Análisis de la estabilidad en el tiempo para emulsiones homogenizadas mediante rotor estator.



**Figura 10.** Análisis de la estabilidad en el tiempo para emulsiones homogenizadas mediante altas presiones.

### 5.1.2 Potencial- $\zeta$

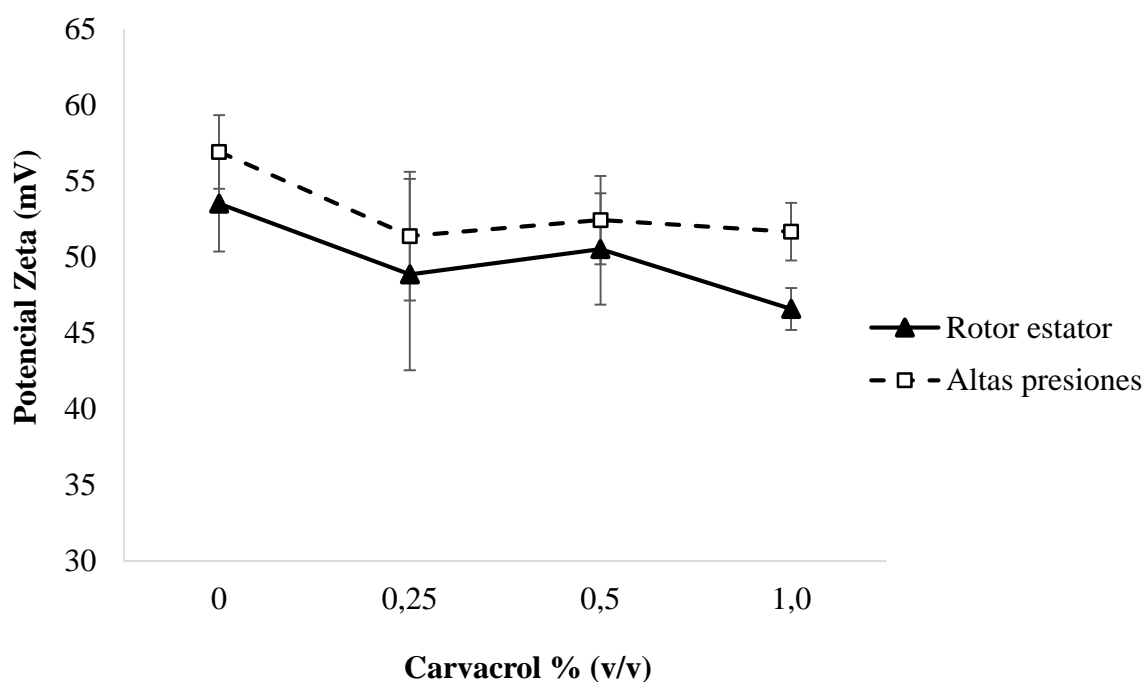
El potencial- $\zeta$  es una medida de la magnitud de la repulsión / atracción electrostática o de carga entre las partículas, y es uno de los parámetros fundamentales que se sabe afectan la estabilidad. Las partículas con valores de potencial- $\zeta$  mayores a 30 mV o menores que -30 mV se consideran generalmente estables, ya que las fuerzas de repulsión electrostática entre las gotas son predominantes en el sistema (Salvia *et al.*, 2015; McClements, 2005).

El efecto de la concentración de carvacrol y el método de homogenización sobre el potencial- $\zeta$  de las emulsiones se muestra en la Fig.11. Todas las emulsiones, independientemente del método de homogenización empleado, presentaron valores de potencial- $\zeta$  positivos, fluctuando entre 56,92 y 46,58. De acuerdo a estos valores, las gotas de aceite tendrían una fuerte repulsión electrostática, favoreciendo la estabilidad de las emulsiones.

Los altos valores de potencial- $\zeta$  de las emulsiones, estarían relacionados con el pH ( $4,5 \pm 0,4$ ), ya que a este pH los grupos aminos del quitosano se encuentran protonados ( $pK_a \text{ NH}_3^+/\text{NH}_2 \approx 6,5$ ) (Fernández *et al.*, 2015 & Bonilla *et al.*, 2012). Los valores del potencial- $\zeta$  encontrados para las disoluciones de quitosano (53,5 y 56,9 mV) para ambas técnicas de homogenización, fueron menores a las reportadas por Bonilla *et al.* (2012), quienes obtuvieron valores 64 y 72,3 mV respectivamente. Esta diferencia en los valores de potencial- $\zeta$ , podrían estar vinculado a diferentes factores empleados en el estudio de los autores mencionados, tales como menor concentración de quitosano (1,0%), menor pH (3.2) y mayor presión de homogenización (165 MPa).

En general, se observó una disminución del potencial- $\zeta$  de las emulsiones con la incorporación de carvacrol, independientemente del método de homogenización utilizado. Este resultado es coherente con el valor negativo de potencial- $\zeta$  obtenido para el carvacrol puro (-0,05 mV), ya que al aumentar su concentración en la emulsión neutralizaría parcialmente la carga positiva aportada por los grupos aminos del quitosano, reduciendo finalmente la carga neta de la emulsión. Una reducción de la carga superficial de nanopartículas de quitosano ha sido descrita con la incorporación de carvacrol (Keawchaon & Yoksan, 2011). La reducción del potencial- $\zeta$  ha sido señalada también por otros autores al estudiar emulsiones de aceite esencial de albahaca y timol en quitosano (Bonilla *et al.*, 2012).

Todas las emulsiones obtenidas mediante la técnica de homogenización por altas presiones, mostraron valores de potencial- $\zeta$  mayores a aquellas procesadas por la técnica rotor estator. Este comportamiento también ha sido señalado por otros autores (Salvia-Trujillo *et al.*, 2015), quienes indican que el alto esfuerzo mecánico producido durante la homogenización, puede generar el rompimiento de las cadenas de quitosano (Kasaai *et al.*, 2003; Vargas *et al.*, 2011), produciendo que un mayor número de moléculas que pueden ser adsorbidas en la superficie de las gotas de carvacrol, aumentando así su carga superficial positiva (Lagoueyte & Paquin, 1998).



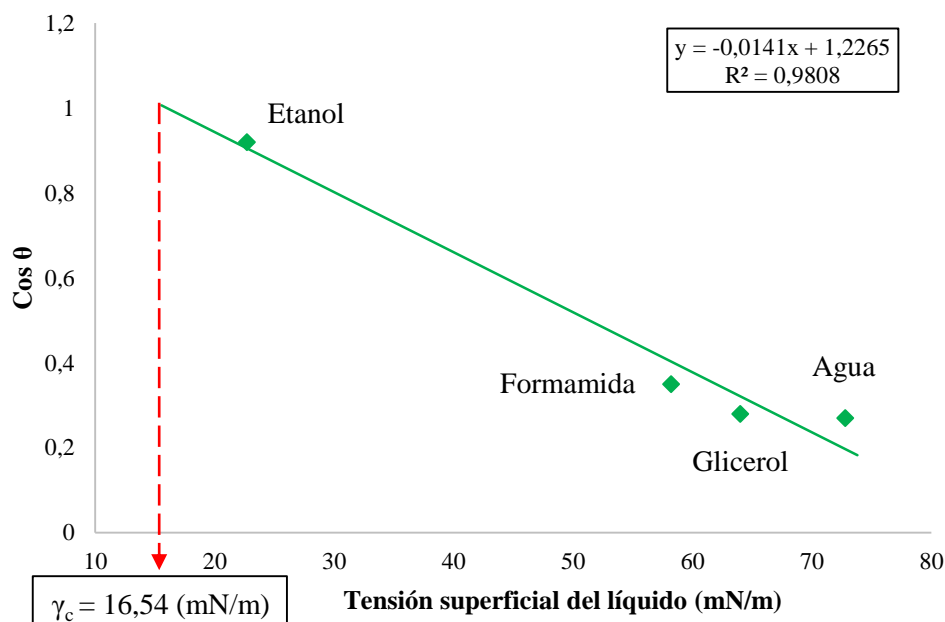
**Figura 11.** Efecto de la concentración de carvacrol y método de homogenización sobre el potencial- $\zeta$  de las emulsiones

### 5.1.3 Tensión superficial crítica del epicarpio de tomate cherry

En la Fig. 12 se presenta el diagrama de Zisman, en donde la tensión superficial crítica del epicarpio de tomate  $\gamma_c$ , se estimó mediante la extrapolación lineal para  $\cos \theta = 1$ . El valor de tensión superficial crítica para el epicarpio de tomate ( $\gamma_{cTomate\ cherry}$  16,54 mN/m) el cual es consistente con los resultados reportados por Casariego *et al.* (2008) estos además estudiaron las componentes polar y dispersiva encontrando valores de 3,04 y 25,67 mN/m respectivamente.



Estos resultados obtenidos muestran claramente que el tomate es una superficie de baja energía. De acuerdo con Ribeiro *et al.* (2007), este tipo de superficie interactúa con líquidos principalmente por las fuerzas de dispersión.



**Figura 12.** Gráfico de Zisman para epicarpio de tomate cherry

#### 5.1.4 Tensión superficial

Considerando que las emulsiones obtenidas serán posteriormente utilizadas para recubrir tomates, la extensibilidad de las emulsiones sobre la superficie del tomate vendrá afectada por su tensión superficial.

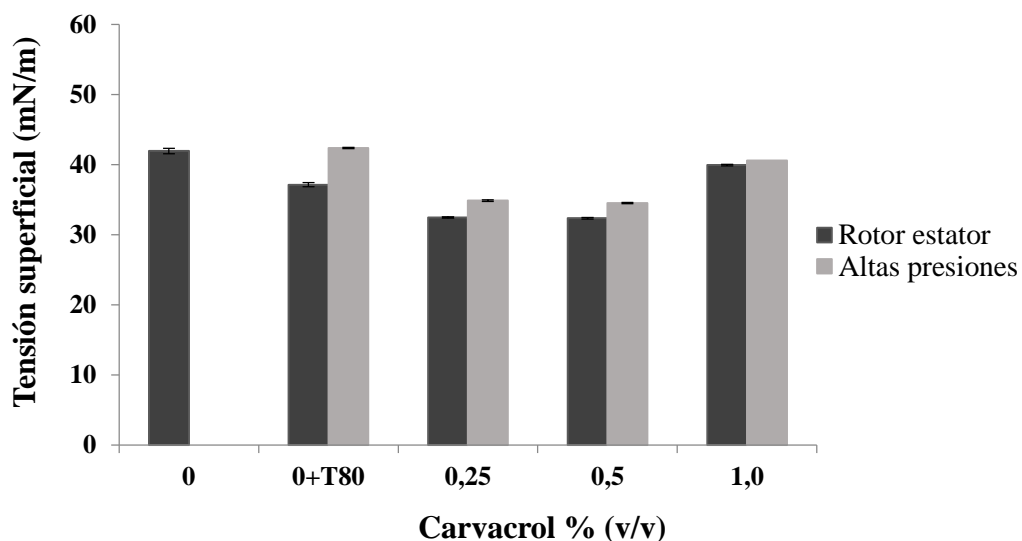
Con el objetivo de determinar inicialmente el efecto de cada uno de los componentes utilizados en la preparación de las emulsiones, sobre la tensión superficial de la disolución de quitosano, se evaluó la incorporación de ellos en forma secuencial. En la Fig.13 se puede observar que cuando se incorporó Tween80 (0,5 % v/v) a la disolución de quitosano, se produjo una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ) en la tensión superficial desde 41,9 a 37,1 (mN/m). Este resultado se debe a que el Tween80 es un tensoactivo, que cuando se adiciona a una disolución, éste se ubica en la interfase líquido-aire formando una capa monomolecular, la cual produce un descenso de la tensión superficial (Ruiz, 2009). Este mismo efecto es observado al incorporar carvacrol (0,25%

v/v) a la disolución de quitosano que contenía Tween80 (0,5% v/v), alcanzando valores de tensión superficial de 32,5 (mN/m). La disminución de la tensión superficial por efecto del carvacrol también ha sido reportada en otro estudio (Kurek *et al.*, 2013).

Al analizar el efecto de la concentración de carvacrol sobre la tensión superficial de las emulsiones, se puede indicar que los menores valores fueron encontrados a las concentraciones de carvacrol baja e intermedia (32,5 y 34,9 mN/m), en ambos métodos de homogenización. A su vez, no se observó un cambio significativo ( $p \leq 0,05$ ) entre estas dos concentraciones, pero si se observó un aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) a la concentración más alta de carvacrol (39,9 y 40,6 mN/m). Una posible explicación de porqué la tensión superficial de las emulsiones no disminuye al aumentar el contenido de carvacrol, estaría relacionada con la función emulsionante que cumple el Tween80. Así en las formulaciones con concentraciones de carvacrol baja e intermedia, la proporción aceite-tensoactivo fue de 1:2 y 1:1. En ambas emulsiones el Tween80 se encontraría en la superficie de las gotas de carvacrol formando una capa monomolecular junto con el quitosano, de esta forma quedaría tensoactivo sin ser adsorbido por las gotas de carvacrol. Este tensoactivo libre formaría una capa en la interfase líquido-aire de la emulsión disminuyendo su tensión superficial a niveles similares en ambos casos.

Por otra parte, cuándo la concentración de carvacrol en la formulación fue de 1,0 % la tensión superficial aumentó significativamente ( $p \leq 0,05$ ), lo cual puede deberse a que la proporción de aceite: tensoactivo fue de 2:1, es decir, hay dos veces más cantidad de carvacrol que de Tween80. En estas condiciones el Tween80 no alcanzaría a recubrir toda la superficie de las gotas de carvacrol, por lo tanto no quedaría tensoactivo suficiente para formar una capa en la interface líquido-aire que permitiera reducir la tensión superficial de la emulsión.

Otro aspecto a destacar de los resultados encontrados, fue el aumento de la tensión superficial en las emulsiones obtenidas mediante homogenización por altas presiones respecto de aquellas preparadas utilizando el sistema rotor estator. Esta mayor tensión superficial estaría relacionada con el menor tamaño de gota de carvacrol obtenido por este método. En esta situación, a una misma cantidad de carvacrol utilizada, el área superficial de las gotas formadas fue mayor que las obtenidas mediante sistema rotor estator, requiriendo mayor cantidad de tensoactivo para recubrirlas y dejando menos cantidad para reducir la tensión superficial de la emulsión.



**Figura 13.** Efecto de la incorporación de Tween80 (0,5%v/v), carvacrol y método de homogenización sobre la tensión superficial de las emulsiones.

En conclusión al análisis de la tensión superficial de las emulsiones desarrolladas podemos decir que la incorporación de Tween80 y carvacrol, sí produjo un descenso en la tensión superficial de las emulsiones, el cual se asocia a la capacidad emulsionante del Tween80 sobre las partículas de carvacrol, así como también a la proporción aceite-tensoactivo presente en las formulaciones. Por otra parte el aumento en la tensión obtenida en las emulsiones homogenizadas por altas presiones se asocia al aumento del área superficial de las gotas de carvacrol, consecuencia de la reducción del tamaño de estas, lo que impide que el tensoactivo cumpla su función en la superficie de la emulsión.

### 5.1.5 Angulo de contacto de las emulsiones sobre el epicarpio de tomate

Para investigar el grado de mojabilidad de la superficie de tomates cherry por las emulsiones con diferentes composición de carvacrol y obtenidas por ambos métodos de homogenización, se evaluó el ángulo de contacto. El ángulo de contacto es el ángulo formado por la tangente de la interface líquido-vapor y la interface sólido-líquido en la línea de contacto (Schuster *et al.*, 2015). A través de la medida del ángulo de contacto se puede determinar la mojabilidad, que es el grado

en que un líquido se extiende sobre un sólido. Esta medida permite, en el caso que el líquido sea agua, distinguir si el material a recubrir es hidrofóbico o hidrofílico (Lattner & Jennissen, 2009).

Los valores de ángulo de contacto obtenidos para las distintas emulsiones Tabla 4, fueron inferiores a 90 °, lo cual según Hagenmaier & Baker, (1993); Kurek *et al.*, (2013), indicaría que se produce una humectación parcial espontánea de la superficie del tomate con las emulsiones.

Las emulsiones obtenidas por ambas técnicas de emulsificación, presentaron una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ) del ángulo de contacto con el incremento del contenido de carvacrol Fig. 14, variando sus valores desde 73,0° a 41,0° para la técnica rotor estator y desde 68,7° a 36,7° para altas presiones. Este comportamiento también ha sido descrito por Kurek *et al.*, (2014), quienes encontraron que la adición de carvacrol a disoluciones de quitosano mejoró la humectabilidad y adhesividad sobre polietileno, debido a la disminución del ángulo de contacto. Las ceras cuticulares encontradas en el epicarpio del tomate son una mezcla compleja de aldehídos, alcoholes, ácidos grasos, ésteres de cadena largas, así como también de esteroides y triterpenos (Bauer *et al.*, 2004). De acuerdo a esta composición la superficie del tomate puede ser considerada hidrófoba, así mismo Casariego *et al.* (2008), señala que el tomate posee una superficie de baja energía que puede interactuar con líquidos principalmente a través de fuerzas de dispersión. Esto indicaría que la superficie del tomate presentaría una mayor afinidad con el carvacrol, ya que éste es un compuesto apolar, favoreciendo así la extensibilidad y adhesión superficial de las emulsiones a medida la concentración de carvacrol aumenta.

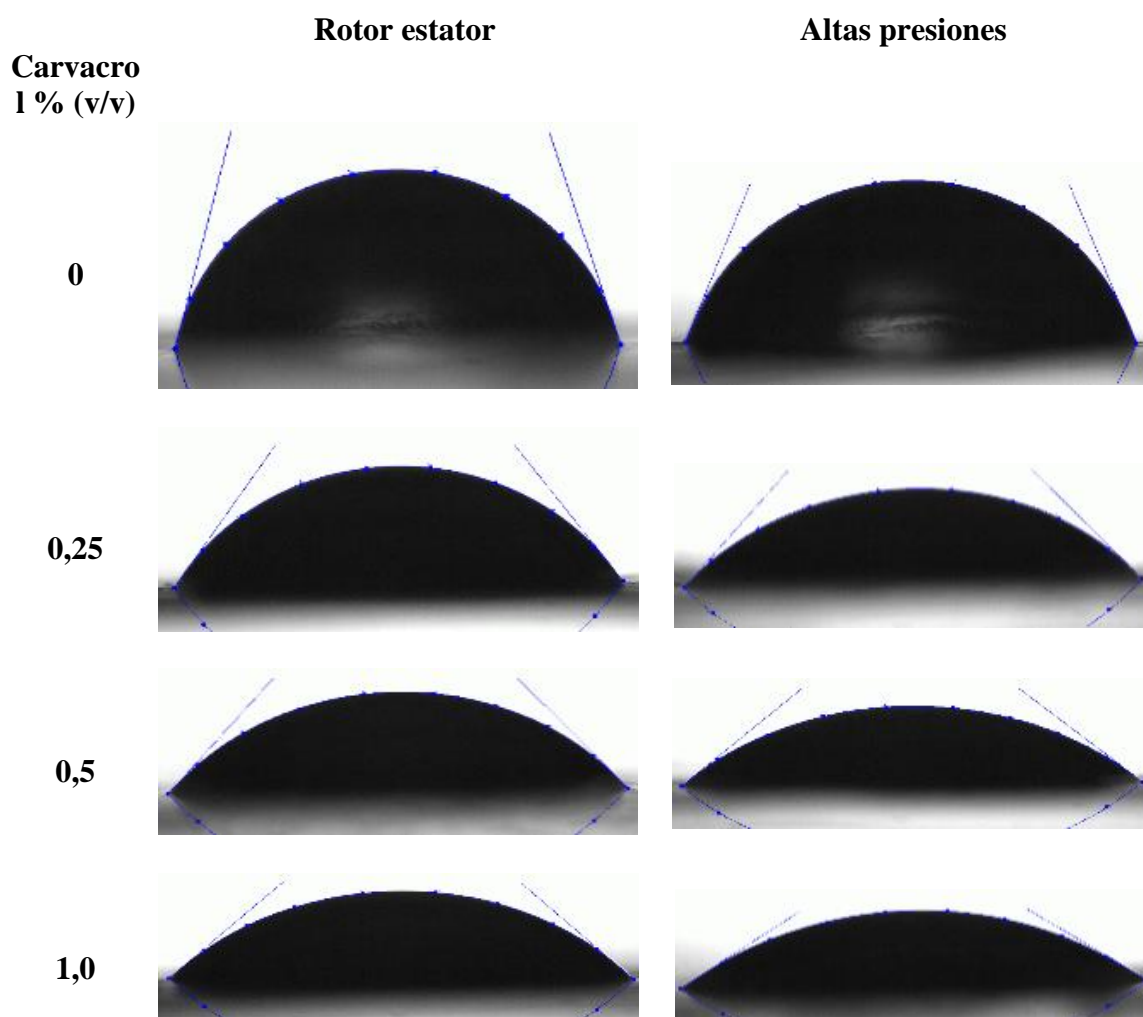
Por otro lado, destaca los menores valores de ángulo de contacto encontrados en las emulsiones preparadas por altas presiones. Probablemente esta reducción sea consecuencia del menor tamaño de gota de carvacrol lograda con esta técnica de emulsificación, ya que con el aumento de la superficie efectiva de las gotas se favorecería una mayor interacción con la superficie del tomate, mediante fuerzas dispersivas. El efecto de la reducción del tamaño de gota de una emulsión ha sido también descrita como una forma de mejorar la accesibilidad de agentes activos (Huan *et al.*, 2010; Otoni *et al.*, 2014a) y una mayor actividad antimicrobiana (Otoni *et al.*, 2014b).

**Tabla 4.** Angulo de contacto de las emulsiones obtenidas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de Carvacrol % (v/v)	Angulo de contacto	
	Rotor estator	Altas presiones
0	73,0±1,4 <sup>a,x</sup>	68,7±1,6 <sup>a,y</sup>
0,25	50,9±1,7 <sup>b,x</sup>	46,4±0,5 <sup>b,y</sup>
0,5	44,6±1,5 <sup>c,x</sup>	37,8±3,7 <sup>c,y</sup>
1,0	41,0±1,2 <sup>d,x</sup>	36,8±3,6 <sup>c,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencia estadísticamente significativa al 95% de confianza entre las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza entre los métodos de homogenización.



**Figura 14.** Fotografías de las gotas durante el análisis de ángulo de contacto en el software ImageJ Plugin (DropSnake).

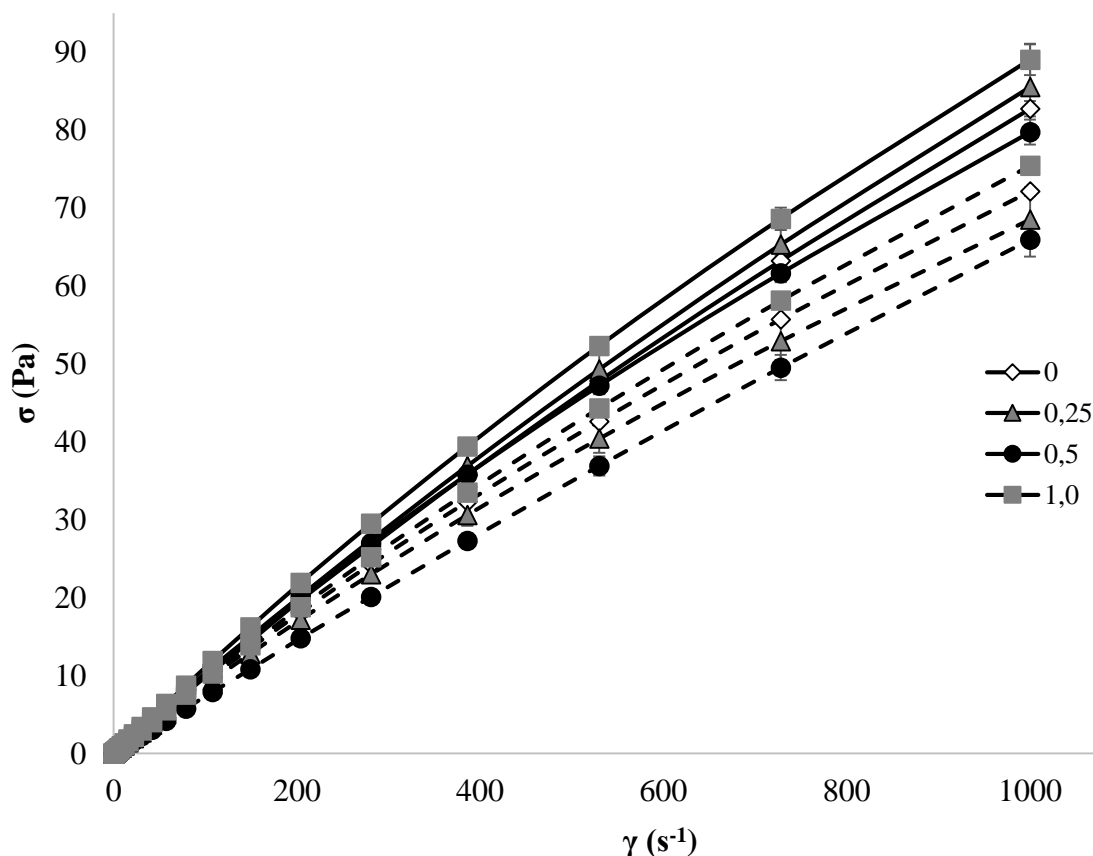
### 5.1.6 Caracterización reológica

Los principales factores que determinan las propiedades reológicas de las emulsiones se asocian con las características tanto de la fase dispersa (concentración en volumen, distribución, el tamaño, forma y carga eléctrica de las partículas) y la fase continua (viscosidad, composición química) junto con la presencia de agentes tensoactivos y agentes espesantes (Wu & McClements, 2015).

Las curvas de flujo experimental para las emulsiones con diferentes concentraciones de carvacrol y homogenizadas por rotor estator y altas presiones, se muestran en la Fig. 15. Las curvas de flujo se ajustaron a los parámetros del modelo de ley de potencia y sus valores se muestran en la Tabla 5 junto con los valores de viscosidad aparente calculado a  $500 \text{ s}^{-1}$ .

Las emulsiones obtenidas mediante el método rotor estator presentaron un comportamiento reológico levemente pseudoplástico, con valores de índice de flujo en el rango de 0,940 a 0,995. Este comportamiento cambia a uno de tipo newtoniano en las muestras sometidas a altas presiones, con valores de índice de flujo desde 1,000 a 1,019. Este cambio en el comportamiento reológico ha sido descrito por otros autores que han estudiado el efecto de la homogenización mediante rotor estator y microfluidización en distintas emulsiones aceite-agua (Bonilla *et al.*, 2012; Flourey & Desrumaux, 2000). Así mismo, el coeficiente de consistencia y viscosidad aparente de estas emulsiones disminuyeron significativamente ( $p \leq 0,05$ ) en las muestras procesadas por altas presiones. Los cambios en estos parámetros han sido relacionados con la posible reducción del peso molecular de las cadenas de quitosano, por efecto de las altas presiones aplicadas, según lo descrito por Kasaai *et al.* (2003) para soluciones de quitosano sometido a un proceso de microfluidización.

Por otro lado, la incorporación de carvacrol a las emulsiones procesadas con el método rotor estator no afectó significativamente ( $p \leq 0,05$ ) su viscosidad aparente. Sin embargo, la viscosidad presentó una tendencia a aumentar con la adición de carvacrol, excepto en aquellas emulsiones a una concentración de 0,5%. Esta tendencia es esperable por cuanto el aumento de la concentración de la fase dispersa, tiende a aumentar la viscosidad del sistema. Respecto a la disminución en la viscosidad observada en la emulsión a 0,5% de carvacrol, se podría relacionar con el menor tamaño de gota obtenida en esta emulsión.



**Figura 15.** Curvas de flujo para las emulsiones con diferentes concentraciones de carvacrol, líneas continuas (rotor estator) y líneas con discontinuas (altas presiones).

Al incorporar carvacrol a las emulsiones sometidas a altas presiones, su viscosidad presentó un comportamiento diferente a las muestras procesadas por rotor estator. Se observó una disminución significativa de su viscosidad aparente, excepto en la emulsión con la mayor concentración de carvacrol.

Al igual que en el caso anterior, la menor viscosidad se presentó en las emulsiones con el menor tamaño de gotas, la que contiene una concentración de 0,5% de carvacrol. Esta reducción de la viscosidad con la incorporación de carvacrol también, podría explicarse por la mayor interacción entre las cadenas de quitosano con la superficie de las gotas de carvacrol, promovida por las altas presiones (Lee *et al.*, 2009). Así al reducirse el peso molecular del quitosano, se favorecería su

adsorción en la interfase aceite-agua, disminuyendo su concentración en la fase continua lo cual provoca una reducción de la viscosidad de las emulsiones (Bonilla *et al.*, 2012).

**Tabla 5.** Índice de comportamiento al flujo (n), índice de consistencia (k), viscosidad aparente a ( $\eta_{ap}$ )  $500\text{ s}^{-1}$  y  $R^2$ .

<b>Rotor estator</b>				
<b>Concentración de carvacrol % (v/v)</b>	<b>n</b>	<b>k</b>	<b><math>\eta_{ap}</math> (500 s<sup>-1</sup>) (Pa.s)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>0</b>	0,940±0,059 <sup>a,x</sup>	0.093±0.004 <sup>ab,x</sup>	0.092±0.005 <sup>a,x</sup>	0,955±0.031 <sup>a,x</sup>
<b>0,25</b>	0,988±0,018 <sup>ab,x</sup>	0.092±0.004 <sup>ab,x</sup>	0.095±0.005 <sup>a,x</sup>	0.986±0.004 <sup>a,x</sup>
<b>0,5</b>	0,995±0,008 <sup>b,x</sup>	0.092±0.004 <sup>ab,x</sup>	0.092±0.004 <sup>a,x</sup>	0.986±0.004 <sup>a,x</sup>
<b>1,0</b>	0,990±0,011 <sup>ab,x</sup>	0.101±0.017 <sup>b,x</sup>	0.101±0.004 <sup>a,x</sup>	0.957±0.062 <sup>a,x</sup>
<b>Altas presiones</b>				
<b>0</b>	1,009±0,100 <sup>a,x</sup>	0.084±0.008 <sup>a,y</sup>	0.083±0.006 <sup>a,y</sup>	0.995±0.005 <sup>a,y</sup>
<b>0,25</b>	1,000±0,006 <sup>a,x</sup>	0.076±0.006 <sup>a,y</sup>	0.072±0.000 <sup>b,y</sup>	0.991±0.005 <sup>a,x</sup>
<b>0,5</b>	1,019±0,019 <sup>a,y</sup>	0.076±0.006 <sup>a,y</sup>	0.067±0.003 <sup>b,y</sup>	0.990±0.007 <sup>a,x</sup>
<b>1,0</b>	1,003±0,042 <sup>a,x</sup>	0.008±0.007 <sup>a,y</sup>	0.079±0.009 <sup>a,x</sup>	0.954±0.053 <sup>a,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza entre las concentraciones de carvacrol para cada método de homogenización.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila indican diferencia significativa al 95% de confianza entre los métodos de homogenización para cada concentración de carvacrol.

## 5.2 Propiedades físicas y mecánicas de las películas.

### 5.2.1 Espesor de las películas

El espesor de las películas obtenidas mediante ambos sistema de homogenización varió entre 0,011 mm y 0,014 mm, no observándose diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) al incorporar carvacrol entre 0,25 y 1,0% v/v Tabla 6. La uniformidad del espesor de las películas obtenidas es consecuencia del procedimiento establecido para la obtención de ellas. En el presente estudio se utilizó una misma concentración de sólidos totales y una leve agitación orbital durante el proceso de secado para garantizar un espesor similar entre las diferentes películas.



**Tabla 6.** Espesor de las películas elaboradas

Concentración de carvacrol % (v/v)	Espesor (mm)	
	Rotor estator	Altas presiones
0	0.013±0.001 <sup>a,x</sup>	0,012±0,002 <sup>a,x</sup>
0,25	0.012±0.001 <sup>a,x</sup>	0.014±0.002 <sup>a,x</sup>
0,5	0.011±0.002 <sup>a,x</sup>	0.013±0.004 <sup>a,x</sup>
1,0	0.012±0.004 <sup>a,x</sup>	0.012±0.002 <sup>a,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias significativas al 95% de confianza para las diferentes concentraciones de carvacrol

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

### 5.2.2 Microestructura de las películas

La microestructura de las películas es una característica física muy importante dado que entrega información útil que permite comprender su relación con otras propiedades, tales como: propiedades ópticas, mecánicas y de barrera al vapor de agua. En el presente estudio se analizó el efecto de la incorporación de carvacrol y de dos métodos de homogenización sobre la microestructura de una matriz de quitosano.

La Fig. 16 muestra la superficie de las películas obtenidas. Las películas de quitosano control, con ambas técnicas de homogenización, presentaron una superficie lisa, homogénea y sin grietas. Con la incorporación de carvacrol, la morfología superficial de todas las películas fue más heterogénea, observándose una mayor cantidad de gotas de carvacrol en la superficie de aquellas con mayor concentración. La visualización de gotas en la superficie de las películas estará determinada por dos factores que afectan la microestructura durante el proceso de secado; es decir la viscosidad de la fase continua y el tamaño de las gotas dispersas.

Las películas con 0,25% de carvacrol y homogenizadas por ambos métodos, presentaron en su superficie estructuras de mayor tamaño y con diferentes morfologías que las otras películas. Como se ha mencionado anteriormente estas películas presentan una proporción tensoactivo:aceite de 2:1. De acuerdo a Ruiz, (2009), cuando el tensoactivo se encuentra en mayor proporción que el aceite, se produce la formación de agregados micelares. Por lo tanto, estas estructuras podrían corresponder a agregados micelares, que se formaron durante el proceso de homogenización y que luego migraron a la superficie durante el proceso de secado.

Sin embargo, en aquellas películas procesadas por altas presiones fue posible observar una mayor cantidad de estructuras en la superficie. Esto podría relacionarse con la menor viscosidad que presentaron las emulsiones obtenidas por altas presiones, lo cual pudo facilitar la migración de los agregados micelares hacia la superficie de las películas. Sin embargo, este efecto fue limitado por la alta viscosidad que presentaron las emulsiones obtenidas por rotor estator.

Para el caso de las películas con 0,5 % de carvacrol, aun cuando el tamaño de las gotas en estas emulsiones fue las más pequeña, sólo se observó una mayor cantidad de ellas sobre la superficie de las películas sometidas a altas presiones. Nuevamente, este comportamiento se encuentra relacionado con la menor viscosidad de estas emulsiones. En estas condiciones la evaporación del solvente durante el secado fue más rápida, promoviendo la movilidad de las gotas hacia la superficie.

Sólo a la mayor concentración de carvacrol (1,0 % v/v), fue posible observar gotas en las películas obtenidas por ambos métodos de homogenización, siendo estas de mayor tamaño en aquellas obtenidas mediante sistema rotor estator, coherentemente con los mayores tamaños de gotas encontrados en las emulsiones elaboradas por este método de homogenización

Las imágenes obtenidas por microscopia electrónica, de la sección transversal de las películas preparadas por ambos métodos de homogenización se muestran en la Fig. 17.

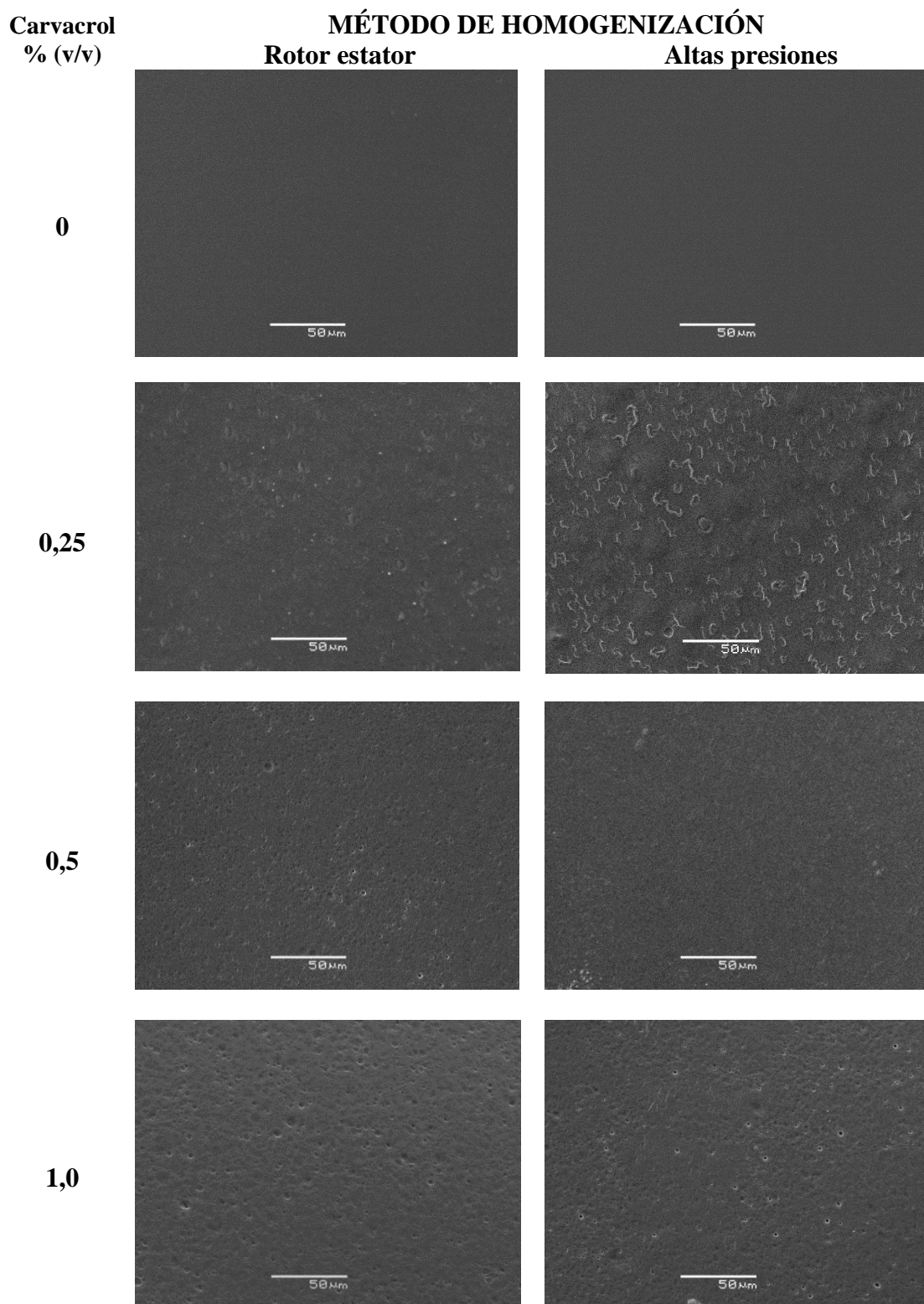
La sección transversal de las películas de quitosano control presentó diferentes grados de fracturas, las que fueron provocadas por las altas tensiones internas inducidas por el proceso de congelación en nitrógeno líquido durante su criofractura. Específicamente estas películas fueron más propensas a la fractura debido a la formación de una estructura en capas que se produce durante el proceso de secado (Kurek *et al.*, 2013), generando finalmente una matriz más compacta y frágil. A pesar de lo anterior, es posible observar una estructura continua y homogénea, especialmente en aquellas películas obtenidas por altas presiones, debido a la reducción del peso molecular inducido por la presión aplicada en el proceso de homogenización.

Con la incorporación de carvacrol, la morfología superficial de todas las películas fue más heterogénea, observándose una mayor cantidad de gotas de carvacrol en la superficie de aquellas con mayor concentración.

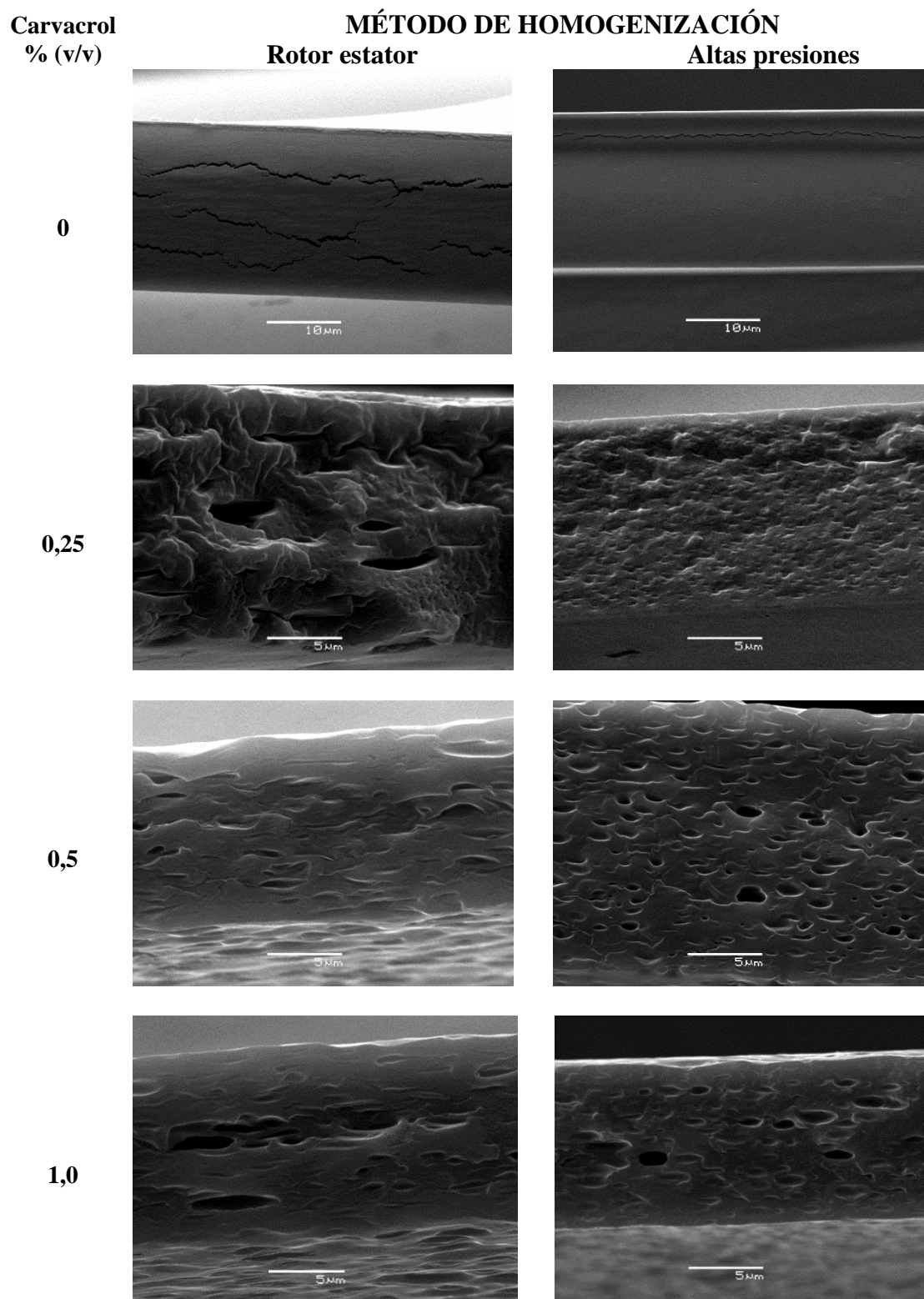
La incorporación de carvacrol dio lugar a diferencias relevantes en la microestructura interna de todas las películas. Se observó una distribución homogénea de las gotas de carvacrol a través de la sección transversal de las películas, las cuales aparecen como cavidades de forma oval que producen discontinuidades en la matriz. De acuerdo a lo descrito por Kurek *et al.* (2013), esta forma oval es producida por las fuerzas de deformación causada por la agregación y orientación de las cadenas de quitosano y la retracción de la matriz durante la etapa de secado.

Las diferentes microestructuras observadas en las películas fueron influenciadas por el método de homogenización utilizado, por la composición de las emulsiones y por el ordenamiento que los componentes alcanzan al final del proceso de secado.

Las películas con 0,25% de carvacrol y homogenizadas por ambos métodos, presentaron grandes diferencias en su estructura interna, asociada a la mayor proporción de tensoactivo presente y a la técnica de homogenización utilizada. Es así que en las películas procesadas a altas presiones, se observan pequeñas gotas de carvacrol distribuidas homogéneamente y una capa superficial formada por agregados micelares compuestos por el tensoactivo en exceso. La formación de esta capa superficial fue observada también en la imagen superficial de esta película. Por el contrario, la microestructura de la sección transversal de las películas obtenidas por rotor estator fue más heterogénea. Observándose cavidades de mayor tamaño, que podría corresponder a los agregados micelares del tensoactivo, que no pudieron migrar a la superficie debido a la mayor viscosidad de la emulsión. A su vez, en algunas secciones se observan pequeñas cavidades que podrían corresponder a gotas de carvacrol.



**Figura 16.** Micrografías obtenidas mediante SEM de la superficie de películas de quitosano con diferentes concentraciones de carvacrol y homogenizadas por distintos métodos.



**Figura 17.** Micrografías obtenidas mediante SEM de la sección transversal de películas de quitosano con diferentes concentraciones de carvacrol y homogenizadas por distintos métodos

### 5.2.3 Propiedades mecánicas de las películas de quitosano emulsionadas

El estudio de las propiedades mecánicas de películas comestibles que pueden ser utilizadas para conservar alimentos, es necesario para conocer el comportamiento de estas en distintas condiciones de aplicaciones y uso. El efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre el esfuerzo de tensión y porcentaje de elongación de películas de quitosano emulsionadas se muestra en la Fig. 18.

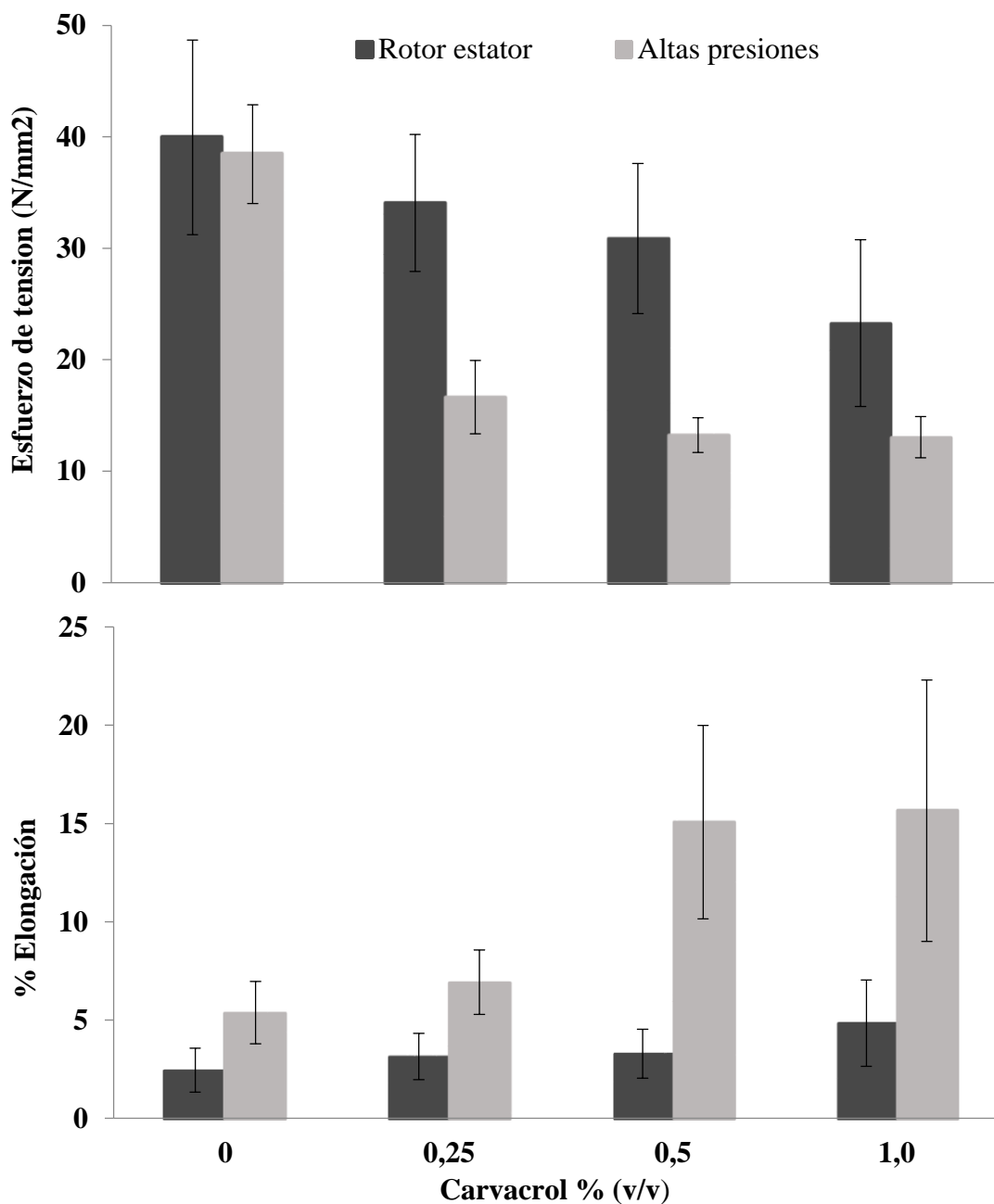
En general, la adición de carvacrol en las películas elaboradas mediante homogenización por rotor estator produjo una disminución máxima del esfuerzo de tensión de un 42 % respecto de la película de quitosano control. A su vez, en las películas elaboradas mediante altas presiones, la reducción máxima del esfuerzo de tensión alcanzó un 66%.

Por otro lado, el porcentaje de elongación de las películas homogenizadas por el método rotor estator aumentó un 98% con la incorporación de carvacrol; sin embargo, las películas elaboradas mediante altas presiones presentaron un incremento más pronunciado del orden de 191 %, respecto de la película de quitosano control.

En general, el efecto de la incorporación de carvacrol sobre las propiedades mecánicas fue más pronunciado en aquellas películas obtenidas de emulsiones procesadas mediante homogenización por altas presiones. Como se ha comentado previamente las altas presiones producen una reducción del peso molecular del quitosano y del tamaño de gotas del carvacrol en la emulsiones. Cuando estas emulsiones se someten al proceso de secado, la matriz obtenida será menos compacta debido a la reducción del peso molecular del quitosano producida por las altas presiones y a su vez más flexible debido a la mayor cantidad de gotas pequeñas de carvacrol distribuidas homogéneamente en la matriz de quitosano.

La reducción del esfuerzo de tensión y el aumento del porcentaje de elongación, producida por la incorporación de diferentes aceites esenciales o compuestos lipídicos en películas de quitosano ha sido descrita en varios estudios (Shen & Kamdem, 2015; Shi *et al.*, 2016). De acuerdo a estos autores la presencia de estos compuestos lipídicos produce una discontinuidad de la matriz de quitosano, reduciendo las fuertes interacciones entre las cadenas poliméricas y formando nuevas interacciones entre el polímero y el compuesto lipídico. De esta forma la presencia de gotas de

carvacrol en la matriz de quitosano produjo un efecto plastificante, reduciendo las fuerzas cohesivas y generando una película menos rígida y más flexible.



**Figura 18.** Efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre las propiedades mecánicas de películas de quitosano emulsionadas.

Por otra parte estos resultados son mayores a los reportados por López-Mata *et al.* (2013) quienes obtuvieron películas de quitosano y carvacrol con valores entre 10,2 y 6,8 MPa para películas de quitosano con 0,5; 1,0 y 1,5% de carvacrol. Esto se podría explicar debido a diversos factores tales como la fuente de quitosano, los diferentes grados de desacetilación, pesos moleculares, el uso y concentración de un plastificante, la forma de preparación de las películas y el almacenamiento de estas, lo que pudo incidir sobre los resultados obtenidos.

Al comparar la efectividad de los dos métodos de homogenización utilizados se puede concluir que el uso de altas presiones produce mejoras sobre la distribución de tamaño de las partículas, lo que conduce a una mejor interacción con la matriz del polímero y un mejor ordenamiento. Así también las altas presiones le confieren mejores propiedades mecánicas a las películas las cuales son vitales para el uso de estas en recubrimientos comestibles.

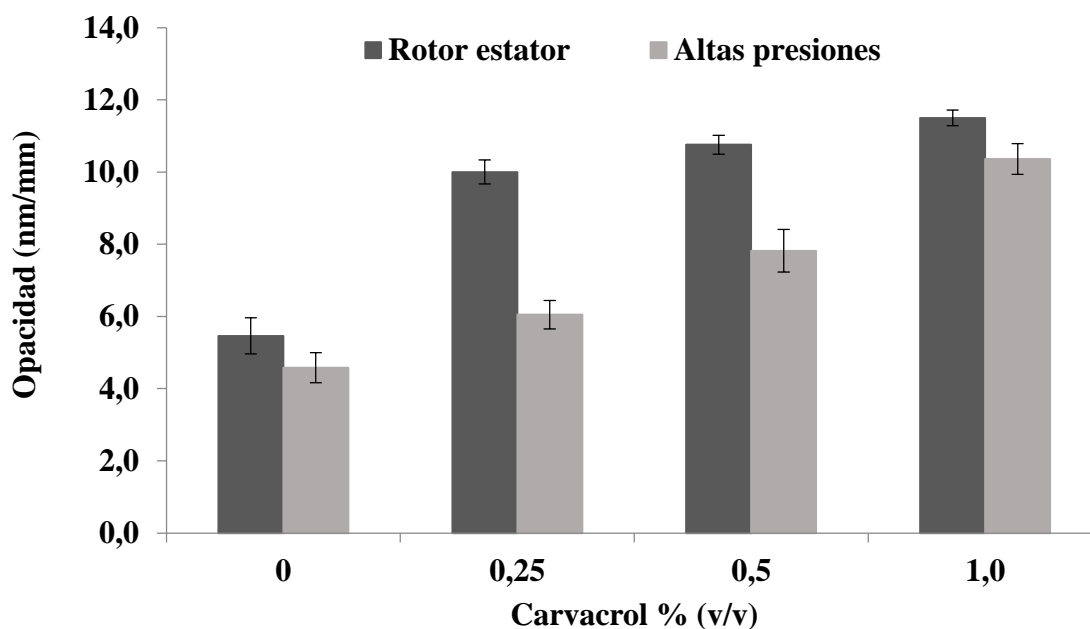
#### **5.2.4. Opacidad**

La opacidad de las películas y recubrimientos comestibles es una propiedad óptica importante a tener en cuenta en su elaboración, dado que la aceptación o rechazo del producto recubierto por parte de los consumidores dependerá de ésta (Sánchez *et al.*, 2011).

Al realizar un análisis visual de las películas control, se pueden señalar que todas pueden ser consideradas transparentes Fig. 19. Sin embargo, al adicionar carvacrol se observa un progresivo incremento en la opacidad, alcanzando su mayor nivel en aquellas películas con la mayor concentración. Este mismo comportamiento es posible deducir mediante el análisis de los valores de opacidad presentados en la Fig. 20.

El aumento de la opacidad con la incorporación de lípidos en películas de hidrocoloides ha sido señalada por diversos autores (Ma *et al.*, 2016; Guerrero *et al.*, 2011; Pereda *et al.*, 2012; Shaw *et al.*, 2002). Según López-Mata *et al.* (2013), la incorporación de carvacrol a una matriz de quitosano bloquea la transmisión de la luz a través de ella, aumentando su opacidad.

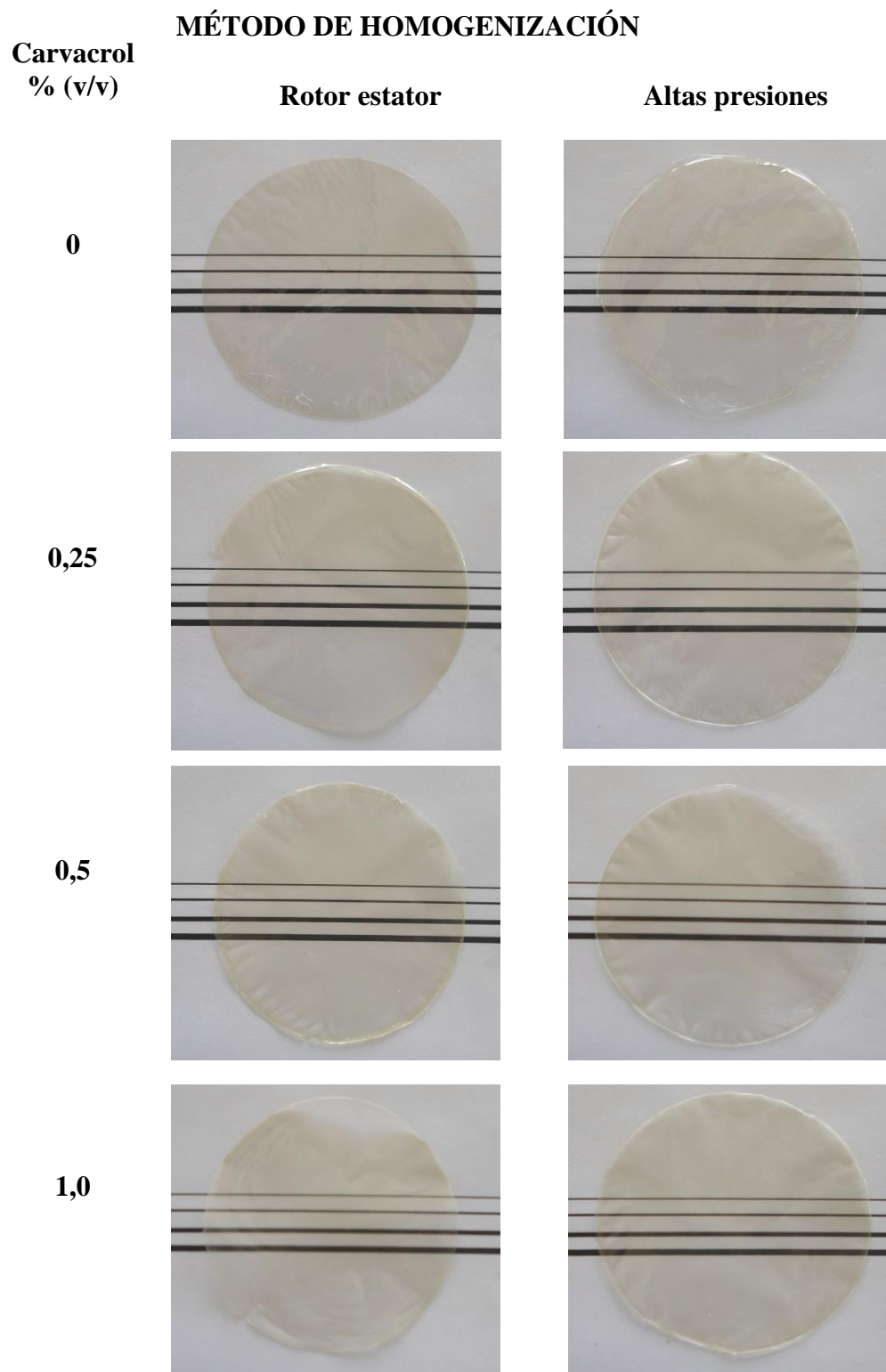




**Figura 19.** Efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre la opacidad de películas de quitosano emulsionadas.

La información de la microestructura de las películas obtenidas previamente mediante SEM, podrían relacionarse con los resultados de opacidad, debido a que según Villalobos *et al.* (2005), la opacidad que presentan las películas emulsionadas viene definida por la diferencia entre el índice de refracción de la fase continua de la matriz y de la fase lipídica dispersa, así como también por la concentración y la distribución del tamaño de las partículas de lípidos. En nuestro estudio se observó una correlación entre el aumento de la concentración y tamaño de gotas de carvacrol con el incremento de la opacidad de las películas.

A su vez, se observó que todas las películas obtenidas mediante homogenización por altas presiones fueron menos opacas que aquellas procesadas mediante rotor estator, independientemente de la concentración de carvacrol adicionada. Este resultado podría relacionarse con el menor tamaño de gota y la distribución más homogénea que alcanzó el carvacrol en este tipo de películas.



**Figura 20.** Películas emulsionadas quitosano-carvacrol

### 5.2.5 Solubilidad en agua de las películas emulsionadas

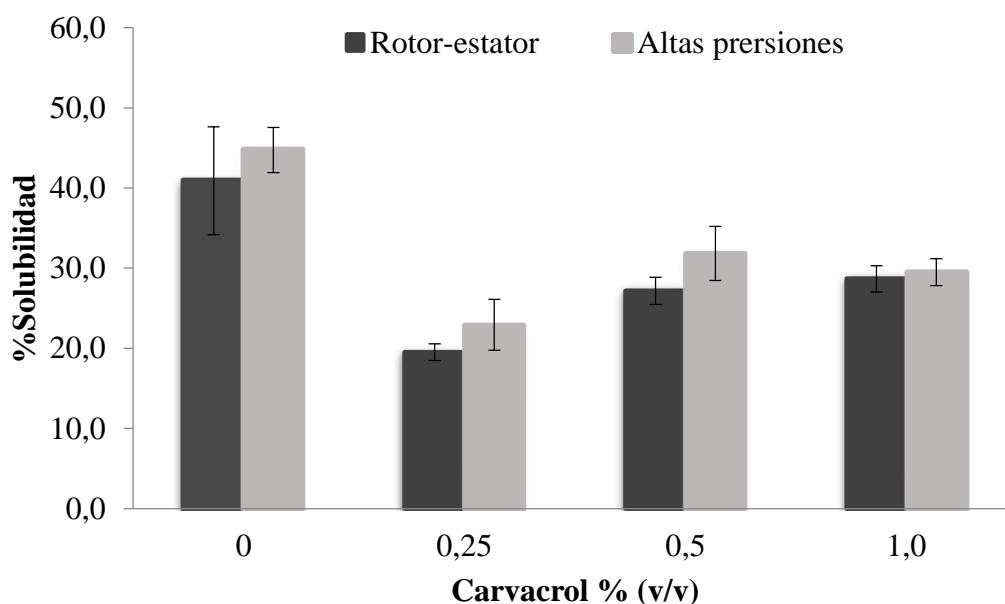
Cuando se preparan películas a partir de biopolímeros con la finalidad de utilizarlas en la conservación de alimentos, la solubilidad al agua que éstas presenten, es uno de los aspectos que deben ser considerados en su diseño, ya que esta propiedad proporcionaría información sobre su resistencia al agua así como su comportamiento en ambientes acuosos.

La Fig. 21 muestra el efecto del contenido de carvacrol y del método de homogenización sobre la solubilidad en agua de las películas de quitosano emulsionadas. Todas las películas de quitosano a las que se les incorporaron carvacrol, presentaron una solubilidad inferior a la película control de quitosano, independientemente del método de homogenización utilizado. Se logró una reducción máxima de la solubilidad de 52% para rotor estator y de 49% para el sistema de altas presiones, ambas a una concentración de 0,25% de carvacrol.

Para las películas de quitosano control se obtuvo una solubilidad en el rango de 40,9 a 44,7 %. Esta solubilidad se vio favorecida por la presencia de glicerol utilizado como plastificante, el cual contiene 3 grupos OH que son afines al agua (Ojagh *et al.*, 2010) y también a los grupos aminos del quitosano, los cuales se encuentran protonados como consecuencia del uso de ácido acético utilizado para solubilizar el quitosano (Casariego *et al.*, 2009). Esta solubilidad fue menor a la informada por López-Mata *et al.*, (2013), quienes estudiaron la solubilidad al agua de películas de quitosano (54,57%). Esta diferencia podría estar relacionada con el mayor espesor de la película (0,116 mm) y una mayor concentración de quitosano (2,0 %) utilizado en su estudio.

El aumento de la concentración de carvacrol en las películas produjo un comportamiento similar en las películas obtenidas por ambos métodos de homogenización, no evidenciándose diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ). Se observó una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ) en la solubilidad de las películas con la incorporación de carvacrol al 0,25%. Esta disminución se explicaría por la adsorción de quitosano en la superficie de las gotas de carvacrol, debido a la diferencia en su potencial-Z, lo cual dejaría una menor cantidad de grupos aminos del quitosano para interactuar con las moléculas de agua. Sin embargo, al aumentar la concentración de carvacrol a 0,5 y 1,0 % se observó un incremento de la solubilidad, no siendo significativo ( $p \leq 0,05$ ) este incremento entre estas dos últimas concentraciones. Este resultado no era esperable ya que al aumentar el contenido de compuesto hidrófobo en una matriz hidrófila, se esperaría un aumento de la

naturaleza hidrofóbica de la matriz y por lo tanto una reducción de su solubilidad al agua. Un resultado similar ha sido descrito por Abdollahi *et al.* (2012), ya que al aumentar la concentración de aceite de romero en películas de quitosano no lograron disminuir su solubilidad. Este resultado se podría explicar en base a la microestructura generada durante el proceso de secado de las películas. Ma *et al.* (2016) señala que cuando la cantidad de aceite esencial de corteza de canela y de aceite de soya aumenta su concentración en una dispersión de quitosano, durante el proceso de secado de las películas, se puede producir la coalescencia de las gotas de aceite emulsionadas. Este aumento en el tamaño de las gotas de aceite significa una reducción de la superficie interfacial y como consecuencia una reducción en la cantidad de quitosano que interacciona con la superficie de las gotas de aceite. Lo anterior conlleva a un aumento de la cantidad de grupos funcionales de quitosano disponibles para interactuar con las moléculas de agua, favoreciendo así el aumento de la solubilidad de las películas.



**Figura 21.** Efecto del contenido de carvacrol y del método de homogenización sobre la solubilidad al agua de las películas de quitosano emulsionadas.

Finalmente al momento de comparar los métodos de homogenización utilizados, se logra apreciar un leve aumento en la solubilidad de las películas para las diferentes concentraciones de carvacrol utilizadas, mas esta diferencia no resulto ser estadísticamente significativa.

### 5.2.6 Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) es un parámetro importante comúnmente considerado en el desarrollo de envases y recubrimientos de alimentos. Esta debe ser tan baja como sea posible ya que uno de los principales objetivos de la utilización de una película comestible es retardar la transferencia de humedad entre el alimento y el medio ambiente para preservarlo por mayor tiempo. Por otra parte las interacciones entre moléculas de polímeros y de agua son fundamentales para evaluar la permeación de agua a través de una película, que por lo general se produce a través de la parte hidrófila de la película (Bourbon *et al.*, 2011).

La Fig. 22 muestra el efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas a base de quitosano. Las películas de quitosano control presentaron altos valores de permeabilidad al vapor de agua, no siendo afectada por los métodos de homogenización. Este resultado es esperable debido a su naturaleza hidrófila, especialmente al pH 4,5 que se utilizó para su solubilización, como así también debido a la presencia de glicerol en la película (0,15 g/g quitosano) utilizado como plastificante. Este resultado coincide con lo reportado por Vargas *et al.* (2011), quienes señalaron que las condiciones de homogenización (rotor estator y microfluidización) utilizadas para la elaboración de películas de quitosano no afectaron su permeabilidad al vapor de agua.

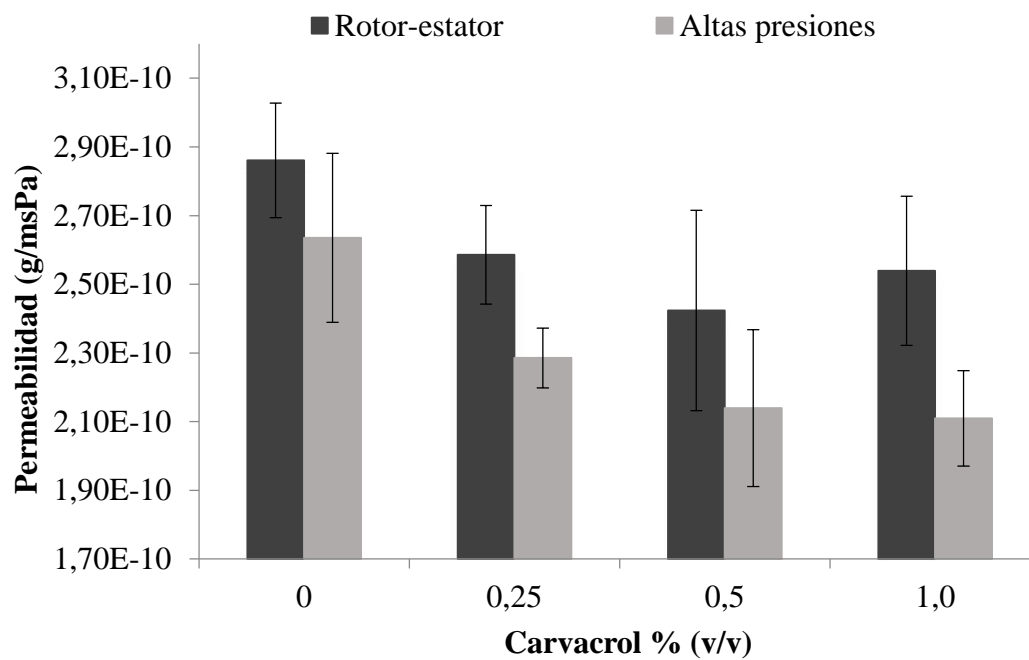
En general, la adición de carvacrol en las películas obtenidas por ambas técnicas de homogenización provocó una disminución de su permeabilidad al vapor de agua respecto a las películas de quitosano control. Sólo las películas homogenizadas por altas presiones presentaron una reducción significativa ( $p \leq 0,05$ ) cuando se adicionó 0,5% y 1,0% de carvacrol, no evidenciándose diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre estas dos concentraciones. Coincidentemente estas películas presentaron una microestructura más homogénea, con una distribución de gotas de carvacrol regular, tal como se observa en la Fig. 16 y 17. Esta estructura

interna, con mayor tortuosidad sería la responsable del aumento de la resistencia a la transferencia del vapor de agua de estas películas.

Los valores de permeabilidad al vapor de agua que presentaron las películas quitosano-carvacrol obtenidas en nuestro estudio ( $2,42 - 2,54 \times 10^{-10}$  g/msPa), mediante el método de homogenización rotor estator, fueron menores a los reportados por López-Mata *et al.* (2013), para películas de quitosano-carvacrol elaboradas por el mismo método de homogenización ( $3,01 - 3,03 \times 10^{-10}$  g/msPa). Estas diferencias pueden ser debido al alto peso molecular del quitosano, mayor velocidad y tiempo de homogenización y menor cantidad de glicerol utilizado en nuestro estudio.

Se ha señalado que la incorporación de compuestos hidrófobos en películas en base a hidrocoloides podría afectar su balance hidrófilo/hidrófobo, disminuyendo su afinidad por el agua y por lo tanto su permeabilidad al vapor de agua (Acevedo-Fani, *et al.*, 2015; Kurek *et al.*, 2014; Rubilar *et al.*, 2013). Sin embargo, en nuestro estudio no se observó completamente esta relación inversa entre el contenido de carvacrol y la permeabilidad al vapor de agua. De acuerdo a lo indicado por Kurek *et al.* (2014), cuando las películas se exponen a un gradiente de humedad relativa en un alto nivel de humedad, la permeabilidad tiende a alcanzar un valor constante. A este alto nivel de humedad, las moléculas de agua plastifican la matriz produciendo una transición de un estado vítreo a un estado gomoso (Phan *et al.*, 2005), lo cual favorece la transferencia de vapor de agua, anulando así el efecto hidrofóbico del carvacrol. Probablemente esta situación ocurrió en nuestro estudio al evaluar la permeabilidad al vapor de agua de las películas, ya que se utilizó un gradiente de humedad relativa 75:100 %.

A su vez, todas las películas elaboradas por altas presiones, indistintamente del contenido de carvacrol, presentaron valores de permeabilidad al vapor de agua menores a las obtenidas por el sistema rotor estator, pero estas diferencias no fueron significativas ( $p \leq 0,05$ ). Estos menores valores de permeabilidad se pueden relacionar con el menor tamaño de gotas de carvacrol y su distribución más homogénea en la matriz en comparación con aquellas películas proveniente del sistema de homogenización rotor estator.



**Figura 22.** Efecto de la incorporación de carvacrol y método de homogenización sobre la permeabilidad al vapor de agua de las películas de quitosano emulsionadas.

### 5.3 CONCLUSION

El método de homogenización por altas presiones y la concentración intermedia de carvacrol, dio lugar a la obtención de emulsiones con mayor grado de estabilidad en términos de menor tamaño de gota, e índice de polidispersidad y mayor potencial-Z. En estas condiciones se logró una mayor humectabilidad de las emulsiones debido a la disminución de su tensión superficial y ángulo de contacto. Además las películas obtenidas presentaron un mayor porcentaje de elongación, menor opacidad y permeabilidad al vapor de agua.

De acuerdo a estos resultados, se seleccionó la concentración de carvacrol al 0,5% (v/v) y el método de homogenización por altas presiones, para elaborar la emulsión formadora de recubrimiento que fue utilizada en la segunda etapa de este estudio.



## ETAPA II. Aplicación de la emulsión sobre tomate cherry y análisis de parámetros de calidad

La aplicación del recubrimiento se llevó a cabo con tomates cherry comprados en el mercado local de Chillán, el mismo día en que fueron procesados. Se seleccionaron los tomates que no presentaron daños mecánicos ni microbiológicos y que además exhibieron un tamaño, color y grado de madurez similares, con el objetivo de conseguir la mayor homogeneidad posible de las muestras y reducir de este modo la heterogeneidad en los resultados.

Para estudiar el efecto de la técnica de aplicación de la emulsión sobre los parámetros de calidad de tomate en postcosecha, se utilizó la emulsión que contenía una concentración de 0,5% (v/v) de carvacrol Tabla 7. Esta emulsión fue seleccionada dado a sus adecuadas propiedades físico-químicas, tales como: menor tamaño de gota de carvacrol, mejor estabilidad, menor tensión superficial y menor ángulo de contacto, lo que favorecería la mojabilidad y formación de recubrimientos sobre los tomates.

**Tabla 7.** Composición de la emulsión formadora de recubrimiento (100 ml)

<b>Carvacrol</b> <b>(ml)</b>	<b>Quitosano</b> <b>(g)</b>	<b>Glicerol</b> <b>(ml)</b>	<b>Tween80</b> <b>(ml)</b>	<b>Proporción</b> <b>Carvacrol-Tween80</b>
0,5	1,5	0,225	0,5	1:1

La emulsión se aplicó a los tomates cherry utilizando la técnica de inmersión, aspersion y aspersion electrostática, según lo descrito en el inciso 4.8 del capítulo de Metodología. Los tomates recubiertos y no recubiertos (control), se almacenaron en refrigeración durante 14 días a 12 °C. Durante este periodo se evaluaron los cambios fisicoquímicos asociados a la calidad en postcosecha, que experimentaron los tomates recubiertos, a los días 1, 7, 14, así como también a los atributos sensoriales al día 7.

### 5.4 Densidad superficial de sólidos y resistencia a la transferencia al vapor de agua

La Fig. 23 muestra la densidad superficial de sólidos (DSS) y la resistencia a la transferencia al vapor de agua (RVA) de los tomates cherry recubiertos y no recubiertos.

La densidad superficial de sólidos representa el espesor promedio teórico de los recubrimientos. El espesor de los recubrimientos es un parámetro importante ya que puede influir en la apariencia del producto recubierto, en las propiedades de barrera al vapor de agua y a gases, que puede generar una micro atmósfera en la interfase recubrimiento-superficie del producto, modificando la tasa de respiración y retrasando los procesos bioquímicos de deterioro en los productos hortícolas (Zhong *et al.*, 2014).

La densidad superficial de sólidos alcanzada por las diferentes técnicas de aplicación se muestra en la Fig. 23. Como se observa, mediante la técnica de inmersión y de aspersión electrostática, se lograron valores de DSS, significativamente ( $p \leq 0,05$ ) mayores en comparación con el obtenido por la técnica de aspersión. Lo anterior, indicaría que los recubrimientos formados mediante las dos primeras técnicas tuvieron un mayor espesor. En otros estudios que han utilizado la técnica de inmersión para recubrir fresas con Hidroxypropilmetilcelulosa y diferentes compuestos (ácido oleico, tensoactivos, extracto etanólico de própolis) han encontrado valores de DSS (5 - 7  $\text{g/m}^2$ ) mayores a los nuestros (Navarro, 2010). Sin embargo, Perdonés *et al.* (2012) quienes de igual manera recubrieron fresas, usando quitosano y aceite esencial de limón, reportaron valores similares a los encontrados en nuestro estudio. Los valores de DSS pueden depender de variados factores, algunos de los cuales está relacionado con el tiempo de inmersión, interacción química entre los componentes del recubrimiento y la superficie del producto a recubrir, morfología (rugosidad) de la superficie a recubrir, viscosidad y concentración de sólidos de las formulaciones empleadas. En nuestro caso, los menores valores de DSS (4,8-6-4  $\text{g/m}^2$ ) obtenidos pueden ser consecuencia de las características de la superficie del tomate, la cual está formada por una cutícula de naturaleza cerosa muy uniforme, con una baja energía libre superficial (16,54  $\text{mN/m}$ ), como también a los bajos tiempos de inmersión (15 segundos) utilizado en este estudio.

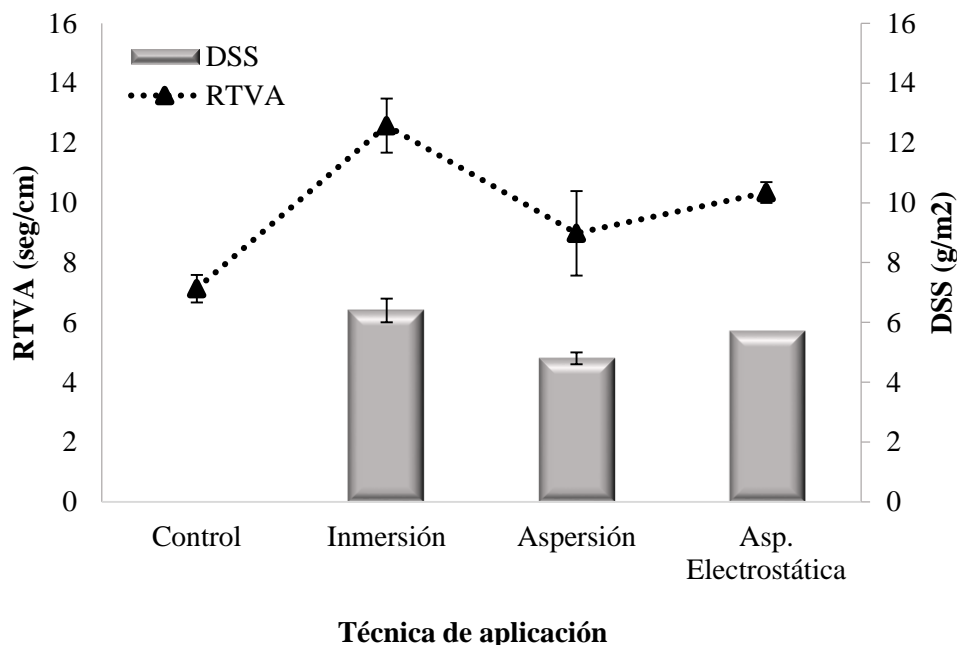
El mayor espesor de recubrimiento obtenido mediante la técnica de inmersión, estaría relacionado con el mayor tiempo de exposición de toda la superficie del tomate con la emulsión. Durante este tiempo de contacto, la emulsión logra una mayor interacción de sus componentes apolares (carvacrol) con la superficie cerosa de la cutícula del tomate, logrando así una mayor adhesión. Por el contrario, en el proceso de aspersión, la formación de una capa continua de emulsión en la superficie del tomate se produce gradualmente y el exceso de emulsión se separa por acción de la

gravedad, disminuyendo el espesor de la capa de emulsión y por lo tanto el espesor del recubrimiento seco.

En el caso de la aspersión electrostática, se lograron valores de DSS menores a los obtenidos por la técnica de inmersión, pero superiores a los encontrados al utilizar la técnica de aspersión sin carga electrostática. El aumento del espesor en los recubrimientos formados mediante aspersión electrostática, en comparación con el uso de aspersión sin carga, estaría dado por la mayor atracción electrostática entre las gotas de emulsión y la superficie del tomate. Esta atracción electrostática formaría una capa continua de emulsión más gruesa, con mayor adhesión a la superficie del tomate, reduciendo la separación del exceso de emulsión por acción de la gravedad. Este mismo comportamiento ha sido reportado por Zhong *et al.* (2014), al comparar el espesor del recubrimiento de quitosano sobre queso mozzarella, utilizando aspersión y aspersión electrostática con el mismo equipo usado en este estudio.

De acuerdo a los valores señalados en la Fig. 23 la aplicación de recubrimientos a tomates mejoró significativamente ( $p \leq 0,05$ ) la resistencia a la transferencia al vapor de agua (RTVA) respecto al control (7,1 seg/cm). Entre las técnicas de aplicación utilizadas, la inmersión proporcionó la mayor barrera a la transferencia de vapor de agua (12,6 seg/cm), no encontrándose diferencias significativas entre las técnicas de aspersión (9-10 seg/cm). Este efecto barrera podría ser atribuido al espesor de la película formada sobre el tomate cherry, como consecuencia del método de aplicación utilizado.

Al parecer existe una correlación directa entre la DSS y la RTVA, dado que se observó un aumento de la barrera al vapor de agua al incrementarse el espesor del recubrimiento, independientemente de la técnica de aplicación de emulsión utilizada. Este mismo comportamiento ha sido señalado por Navarro, (2010) quien recubrió fresas con Hidroxypropilmetilcelulosa y diferentes tensoactivos, mediante técnica de inmersión.



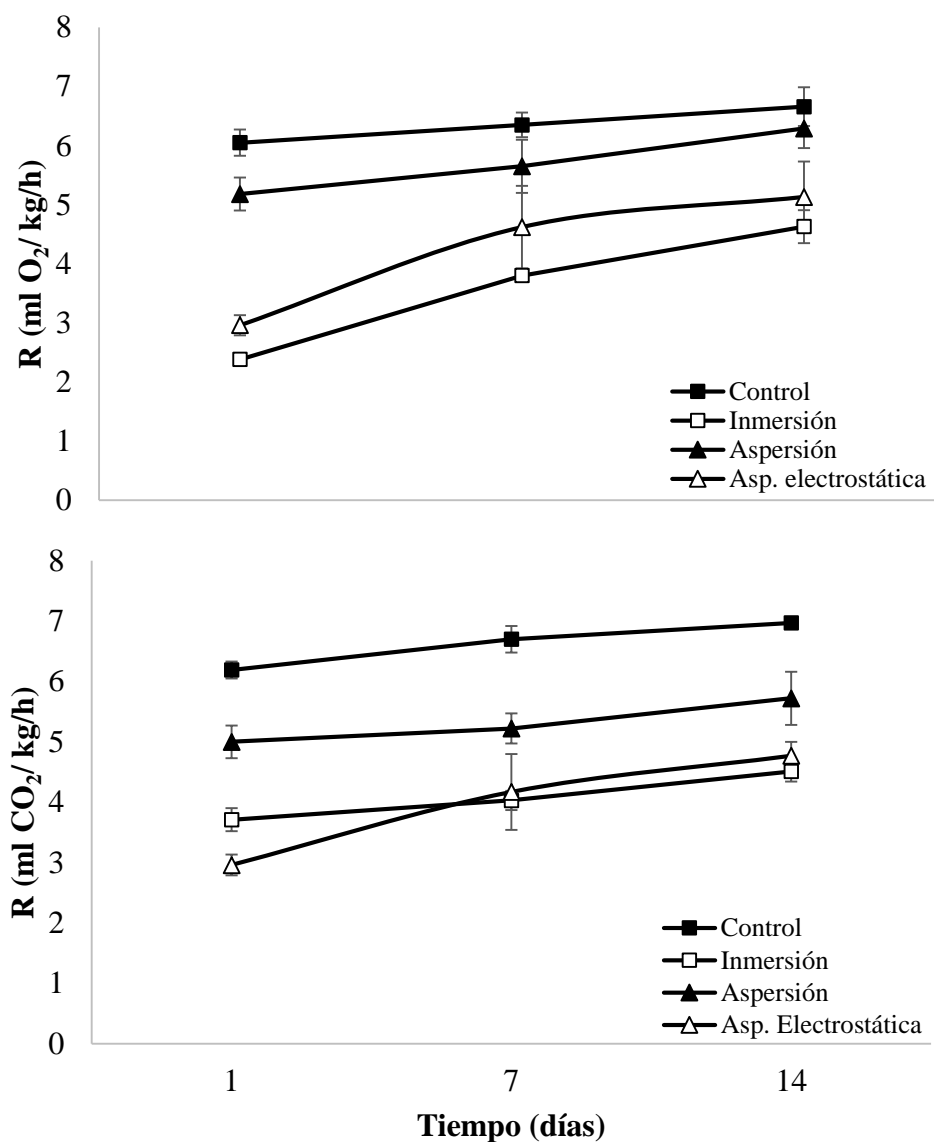
**Figura 23.** Resistencia a la transferencia al vapor de agua y densidad superficial de sólidos de tomates cherry recubiertos y no recubiertos por las diferentes técnicas de aplicación.

### 5.5 Actividad respiratoria

La respiración de la fruta es un factor importante que contribuye a la pérdida de calidad de postcosecha. Esta indica la rapidez con que un producto puede deteriorarse, durante este proceso las reservas orgánicas (carbohidratos, proteínas y grasas) son degradadas a productos finales simples con una liberación de energía, agua y CO<sub>2</sub>. El oxígeno es consumido y el bióxido de carbono es producido en este proceso (Finnegan *et al.*, 2013; Castelló *et al.*, 2006).

La Fig. 24 muestra la evolución de la tasa respiratoria (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) de tomates cherry recubiertos a través de diferentes técnicas, durante su almacenamiento en refrigeración. Dado que el tomate es clasificado como un fruto climatérico, su actividad respiratoria aumenta durante su almacenamiento, tal como fue observado en este estudio. Todos los tomates con y sin recubrimiento experimentaron un aumento de su tasa respiratoria durante los 14 días de almacenamiento. Este comportamiento también ha sido observado por Amaya *et al.* (2009), al recubrir tomates con cera comercial y almidón.

El mayor consumo de O<sub>2</sub> y la mayor producción de CO<sub>2</sub>, lo experimentó la muestra control sin recubrir, alcanzando al final del período de almacenamiento valores de 6,7 y 6,97 (ml/kg/h) respectivamente, seguida por los tomates recubiertos mediante técnica de aspersión 6,3 y 5,7 (ml/kg/h) respectivamente. Las muestras recubiertas por las técnicas de inmersión y aspersión electrostática, presentaron el menor consumo de O<sub>2</sub> y la menor producción de CO<sub>2</sub>, durante el almacenamiento, logrando valores de 4,6 y 4,5 (ml/kg/h) para inmersión y 5,1 y 4,7 (ml/kg/h), para aspersión electrostática respectivamente. Esto indica, que el recubrimiento aplicado sobre el tomate cherry estaría confiriéndole una barrera a los gases produciendo una reducción en la tasa de respiración a lo largo del periodo de almacenamiento, lo cual podría mejorar la vida útil del producto. La mayor resistencia a la transferencia a los gases de estos recubrimientos, estaría asociada al mayor espesor teórico (DSS) producido por la técnica de inmersión y de aspersión electrostática. Estos resultados, concuerdan con los reportados por Navarro (2010); Vargas *et al.* (2006), quienes encontraron que fresones recubiertos con hidroxipropilmetilcelulosa y tensoactivos y con quitosano y ácido oleico reducían significativamente la tasa de respiración, debido a la posible modificación de la atmósfera interna del fruto inducido por la aplicación del recubrimiento.



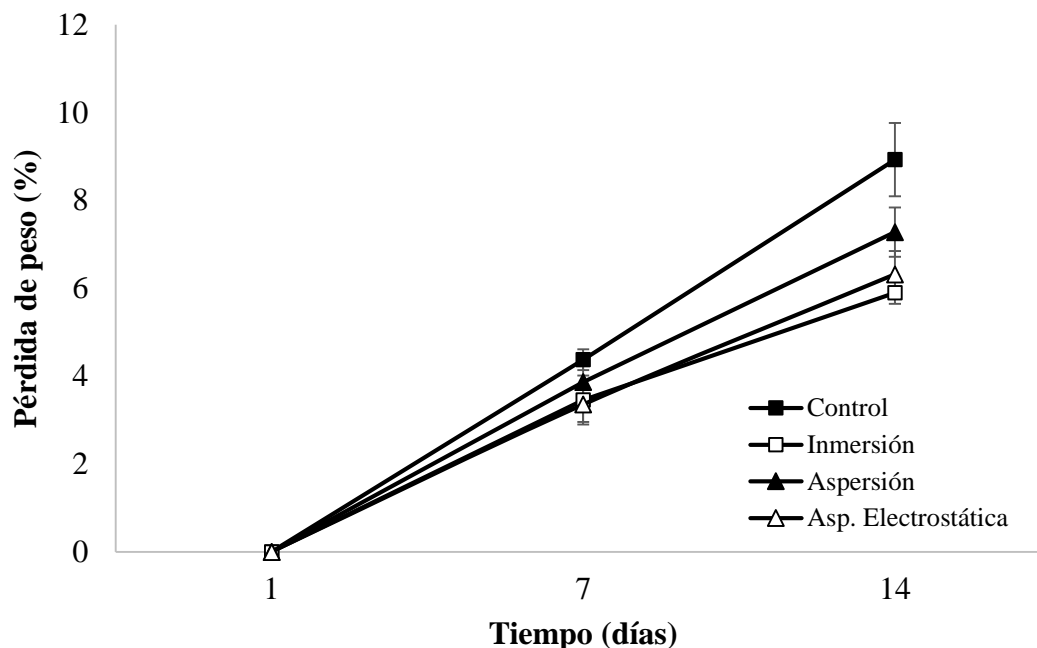
**Figura 24.** Evolución de la tasa de respiración (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>) de tomates cherry recubiertos y no recubiertos a través de diferentes técnicas, durante su almacenamiento en refrigeración.

### 5.6 Pérdida de peso

Las frutas y verduras pierden peso en postcosecha, resultante de la pérdida de agua a través de la respiración y la transpiración. El agua es el componente más importante del fruto de tomate, mantiene la turgencia celular de la fruta durante el crecimiento y almacenamiento en postcosecha

y contribuye al mantenimiento de la textura y apariencia (Bico *et al.*, 2009). Por lo tanto, la tasa de pérdida de peso es un indicador importante para medir el grado de conservación de frutas y verduras.

La Fig. 25, muestra la pérdida de peso durante el almacenamiento de los tomates cherry recubiertos por diferentes técnicas. Todos los tomates con y sin recubrimiento experimentaron una pérdida de peso durante los 14 días de almacenamiento. La mayor pérdida de peso, al final del almacenamiento, la experimentó la muestra control sin recubrir (8,9 %), seguida de los tomates recubiertos mediante aspersión (7,3 %), aspersión electrostática (6,32 %) e inmersión (5,9 %). Las muestras recubiertas por el método de inmersión y por aspersión electrostática, presentaron una pauta de pérdida de peso similar, con las menores pérdidas de peso. Estos resultados indicarían que los recubrimientos otorgaron una barrera al vapor de agua a los tomates y que las diferencias encontradas entre los recubrimientos obtenidos por las distintas técnicas de aplicación, estarían relacionadas con la DSS. A mayor densidad superficial de sólidos, mayor es el espesor teórico de los recubrimientos, como fue el caso de los recubrimientos obtenidos mediante inmersión y aspersión electrostática, mencionado en el apartado 5.4. El mayor espesor de estos recubrimientos retrasó la difusión de agua a través de ellos, produciendo una menor pérdida de agua, lo cual concuerda con los mayores valores de RTVA. Similares resultados fueron encontrados por Yun *et al.* (2015), quienes evaluaron recubrimientos a base de zeína y aceites esenciales de canela, mostaza y cera comercial, para mantener la calidad de tomates cherry en postcosecha y con Ali *et al.* (2010), quienes recubrieron tomates cherry con goma arábica. A su vez, Castillo *et al.* (2014), estudiaron el efecto de los aceites esenciales de timol y carvacrol en combinación con cera comercial sobre el deterioro de limón, encontrando que los limones recubiertos presentaron una menor pérdida de peso en comparación con el control. Según estos autores esto podría deberse a que la mayoría de la cera natural de la superficie se elimina durante la etapa de limpieza, y el recubrimiento aplicado sustituyó la protección natural.



**Figura 25.** Efecto de las técnicas de aplicación de emulsiones sobre la pérdida de peso de tomates cherry durante almacenamiento en refrigeración.

### 5.7 Concentración de sólidos solubles, acidez titulable y pH

La Tabla 8, muestra el efecto de diferentes técnicas de aplicación de emulsión en tomates cherry sobre la concentración de sólidos solubles (CSS), acidez titulable (AT) y pH, durante su almacenamiento en refrigeración.

La CSS y la AT son índices de calidad interno muy importante para los frutos, y también son utilizados como indicador de la madurez (Guo *et al.*, 2016).

Todos los tomates con y sin recubrimiento, experimentaron un aumento significativo en la CSS, durante los 14 días de almacenamiento. Sin embargo, los tomates recubiertos presentaron un incremento significativamente ( $p \leq 0,05$ ) menor al experimentado por los tomates sin recubrir, a partir del séptimo día de almacenamiento, independientemente de la técnica de aplicación utilizada. Los valores de CSS encontrados en este estudio, son coherentes con los encontrados por Dantas Guerra *et al.*, (2015), quienes recubrieron tomate cherry con quitosano y aceite esencial de menta.



A su vez, también se observó una disminución de la acidez y un aumento del pH en los tomates recubiertos y no recubiertos durante su almacenamiento, siendo este cambio significativo ( $p \leq 0,05$ ) a partir del séptimo día de almacenamiento. Según Anthon y Barrett, (2012) la disminución de la AT, y aumento en el pH es un indicador de la madurez del fruto, y se deben a una conversión de los ácidos en azúcares. No fue posible observar un efecto significativo de la presencia de recubrimientos, formados mediante las diferentes técnicas de aplicación, sobre la acidez y pH en comparación con el tomate no recubierto. Los resultado anteriores, podrían estar relacionado con la obtención de la muestra a evaluar a partir del fruto triturado junto con su recubrimiento. En estas condiciones, el ácido acético utilizado en la preparación de las emulsiones sería el responsable de la mayor acidez y pH presentado por los tomates recubiertos.

Los valores de CSS encontrados es este estudio, fueron mayores a los reportados por algunos autores, ya que según García *et al.* (2010) la mayor parte de las variedades de tomates contienen entre 3,5 y 5,5 °Bx. Sin embargo; algunos factores como la climatología durante el periodo de maduración y el riego, pueden hacer variar el porcentaje de estos, llegando hasta 10% en algunas variedades de tomates. En cuanto al pH, estos mismos autores comentan que el pH del zumo de tomate se sitúa normalmente entre 4,2 y 4,4, lo cual es coherente con los resultados encontrados en este estudio

De acuerdo a estos resultados, es posible indicar que los recubrimientos afectaron el proceso de maduración de los tomates, independientemente de la técnica utilizada para la formación de ellos. Estos cambios composicionales producidos por la formación de los recubrimientos en los tomates, también estarían relacionados con el comportamiento de la tasa respiratoria inducida por ellos.

**Tabla 8.** Evolución de sólidos solubles, acidez titulable y pH en tomates cherry recubiertos y no recubiertos mediante diferentes técnicas de aplicación, durante su almacenamiento en refrigeración.

Tratamiento	Concentración de sólidos solubles (°BRIX)		
	Día 1	Día 7	Día 14
<b>Control</b>	7,23 ± 0,17 <sup>a,w</sup>	8,11 ± 0,16 <sup>a,x</sup>	8,80 ± 0,08 <sup>a,y</sup>
<b>Inmersión</b>	7,33 ± 0,05 <sup>a,w</sup>	7,57 ± 0,25 <sup>b,w</sup>	7,83 ± 0,38 <sup>b,y</sup>
<b>Aspersión</b>	7,20 ± 0,14 <sup>a,w</sup>	7,57 ± 0,14 <sup>b,x</sup>	7,63 ± 0,05 <sup>b,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	7,23 ± 0,12 <sup>a,w</sup>	7,43 ± 0,12 <sup>b,wx</sup>	7,63 ± 0,12 <sup>b,x</sup>
Acidez titulable (g de ácido cítrico / 100 g)			
<b>Control</b>	0,52 ± 0,01 <sup>a,w</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>a,w</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>a,w</sup>
<b>Inmersión</b>	0,53 ± 0,01 <sup>ab,w</sup>	0,51 ± 0,01 <sup>a,x</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>a,x</sup>
<b>Aspersión</b>	0,54 ± 0,01 <sup>b,w</sup>	0,54 ± 0,01 <sup>b,w</sup>	0,51 ± 0,02 <sup>a,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	0,53 ± 0,01 <sup>ab,w</sup>	0,52 ± 0,01 <sup>a,wx</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>a,x</sup>
pH			
<b>Control</b>	4,11 ± 0,01 <sup>a,w</sup>	4,20 ± 0,01 <sup>a,x</sup>	4,25 ± 0,01 <sup>a,y</sup>
<b>Inmersión</b>	4,10 ± 0,01 <sup>a,w</sup>	4,16 ± 0,01 <sup>a,x</sup>	4,20 ± 0,01 <sup>b,y</sup>
<b>Aspersión</b>	4,09 ± 0,01 <sup>a,w</sup>	4,18 ± 0,05 <sup>a,x</sup>	4,23 ± 0,01 <sup>ab,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	4,11 ± 0,04 <sup>a,w</sup>	4,17 ± 0,06 <sup>a,wx</sup>	4,22 ± 0,02 <sup>ab,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza para las técnicas de aplicación utilizadas.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los tiempo de almacenamiento.

## 5.8 Color

Para los tomates frescos el color es uno de los atributos de calidad más importantes, ya que se relaciona directamente con su valor de comercialización (Ahmed *et al.*, 2013).

La coordenada colorimétrica a\*, en todos los tomates recubiertos y no recubiertos, presentó una tendencia a aumentar durante el tiempo de almacenamiento, indicando una intensificación del color rojo en el tomate. Este aumento fue significativo ( $p \leq 0,05$ ) solamente para las muestras control, y las muestras recubiertas por la técnica de aspersión, a partir del día 7 de almacenamiento. Estos resultados ponen de manifiesto que los recubrimientos formados por inmersión y aspersión electrostática, pueden retrasar la maduración de los tomates, debido al mayor espesor del recubrimiento y a su menor tasa de respiración, logrando una menor degradación de la clorofila en los cromoplastos de las células y una menor síntesis de carotenos (Zapata *et al.*, 2007).

**Tabla 9.** Evolución de la coordenada colorimétrica a\* en tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

Tratamiento	a*		
	1	7	14
<b>Control</b>	12,82±0,88 <sup>a,w</sup>	13,26±0,93 <sup>a,w</sup>	15,61±0,90 <sup>a,x</sup>
<b>Inmersión</b>	11,66±1,45 <sup>ab,w</sup>	11,97±1,93 <sup>ab,w</sup>	12,93±1,98 <sup>b,w</sup>
<b>Aspersión</b>	12,06±1,25 <sup>ab,w</sup>	12,45±1,30 <sup>ab,w</sup>	14,21±1,32 <sup>ab,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	11,17±0,53 <sup>b,w</sup>	11,22±0,90 <sup>b,w</sup>	12,63±0,54 <sup>b,w</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas al 95% de confianza para las técnicas de aplicación utilizadas.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los tiempo de almacenamiento.

Los tomates presentaron valores de coordenada b\* que oscilaron entre 21,37 y 24,36, durante su almacenamiento, No se observaron diferencias significativas entre las muestras recubiertas y no recubiertas, ni en los diferentes tiempos de almacenamiento (ver anexo 18).

Por otro lado, la luminosidad (L\*) en los tomates presentó una tendencia a disminuir durante el transcurso del almacenamiento. No observándose diferencias significativas entre las muestras recubiertas y no recubiertas, ni tampoco efecto del tiempo de almacenamiento (ver anexo 17). Posiblemente, la pérdida de agua en las muestras sería una de las causas de esta disminución en la luminosidad, ya que produciría una compactación de las células superficiales.

La evolución de la intensidad de color (Croma), de los tomates recubiertos por diferentes técnicas de aplicación, durante el almacenamiento refrigerado, se presentan en la Tabla 10. Los tomates control y los recubiertos por las diferentes técnicas, presentaron un leve aumento en la intensidad del color, durante el almacenamiento, sin embargo estas diferencias no fueron significativas ( $p \leq 0,05$ ). En general, los tomates no recubiertos presentaron una mayor intensidad de color que los recubiertos. Este resultado se explicaría principalmente por los mayores valores en la coordenada colorimétrica a\*, obtenidos por los tomates no recubiertos, debido a su mayor grado de madurez logrado durante el almacenamiento. A su vez, no se observaron efecto significativo ( $p \leq 0,05$ ) sobre la intensidad del color de los tomates recubiertos, mediante las diferentes técnicas.

**Tabla 10.** Evolución del parámetro de Croma C\* en muestras de tomate cherry recubierto por diferentes técnicas de aplicación.

Tratamiento	Croma		
	1	7	14
<b>Control</b>	27,55±1,45 <sup>a,w</sup>	27,28±1,10 <sup>a,w</sup>	28,51±1,31 <sup>a,w</sup>
<b>Inmersión</b>	24,77±1,21 <sup>b,w</sup>	25,78±1,59 <sup>ab,w</sup>	26,69±1,80 <sup>ab,w</sup>
<b>Aspersión</b>	25,31±1,00 <sup>b,w</sup>	25,76±0,65 <sup>ab,w</sup>	26,64±1,52 <sup>ab,w</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	24,48±1,39 <sup>b,w</sup>	24,07±1,50 <sup>b,w</sup>	25,87±1,65 <sup>b,w</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras distintas en la misma columna, indican diferencias significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras distintas en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los diferentes tiempos de almacenamiento.

Otro parámetro de color evaluado correspondió al ángulo de tono (h\*). Cuándo este parámetro disminuye indicaría un aumento de los pigmentos carotenoides (rojo). Los valores obtenidos para este parámetro, durante el periodo de almacenamiento se muestran en la Tabla 11. Los tomates recubiertos y no recubiertos presentaron una disminución en el valor de este parámetro durante su almacenamiento. Sin embargo, sólo los tomates no recubiertos (control) y los tomates recubiertos por aspersión, mostraron una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ). Para este parámetro tampoco se observaron diferencias entre las diferentes técnicas de aplicación de las emulsiones formadoras de recubrimientos.

**Tabla 11.** Evolución del parámetro de Ángulo de tono h\* en tomate recubiertos y no recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

Tratamiento	Angulo de tono		
	1	7	14
<b>Control</b>	59,97±2,44 <sup>a,w</sup>	58,53±2,73 <sup>a,w</sup>	54,54±2,30 <sup>a,x</sup>
<b>Inmersión</b>	58,67±3,42 <sup>a,w</sup>	59,02±4,76 <sup>a,w</sup>	57,87±4,59 <sup>a,w</sup>
<b>Aspersión</b>	58,44±2,45 <sup>a,w</sup>	57,88±3,53 <sup>a,w,x</sup>	54,67±2,02 <sup>a,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	59,02±2,08 <sup>a,w</sup>	58,33±2,70 <sup>a,w</sup>	57,21±2,75 <sup>a,w</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras distintas en la misma columna, indican diferencias significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras distintas en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los diferentes tiempos de almacenamiento.

Otro factor de importancia en los parámetros de color, es la diferencia de color ( $\Delta E$ ). En la Tabla 13, se presenta la diferencia de color de los tomates con y sin recubrimiento. En general todos los tomates presentaron un aumento estadísticamente significativo ( $p \leq 0,05$ ), a partir del día 1 de almacenamiento, lo cual ha sido observado en las coordenadas y parámetros estudiados anteriormente, lo cual se relaciona con una intensificación del color rojo en el tomate. A partir del día 7, este aumento solo fue significativo ( $p \leq 0,05$ ) para la muestra control. Entre los diferentes tratamientos, se puede prestar especial atención que al día 1, no existió diferencias entre estos, esto podría ser debido a que el recubrimiento aplicado sobre el tomate, no había creado una atmosfera interna en el fruto. Se observa que al final del periodo de almacenamiento, las diferencias entre estos son más marcadas, la muestra control presento la mayor diferencia de color 2,82, seguida por aspersion 2,53, aspersion electrostática 2,09 y finalmente inmersión 1,76. Estos resultados ponen una vez más de manifiesto, que las técnicas de inmersión y aspersion electrostática, pueden retardar la maduración de los tomates, lo cual se atribuye al mayor espesor del recubrimiento y a una menor tasa de respiración.

**Tabla 12.** Evolución diferencia de color en tomates cherry recubiertos y no recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

Tratamiento	$\Delta E_{00}$		
	1	7	14
<b>Control</b>	0,68±0,12 <sup>a,w</sup>	2,03±0,40 <sup>a,x</sup>	2,82±0,69 <sup>a,y</sup>
<b>Inmersión</b>	0,66±0,22 <sup>a,w</sup>	1,50±0,47 <sup>b,x</sup>	1,76±0,54 <sup>b,x</sup>
<b>Aspersion</b>	0,68±0,09 <sup>a,w</sup>	1,81±0,59 <sup>b,x</sup>	2,53±0,87 <sup>ab,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	0,70±0,22 <sup>a,w</sup>	1,91±0,91 <sup>b,x</sup>	2,09±0,91 <sup>b,x</sup>

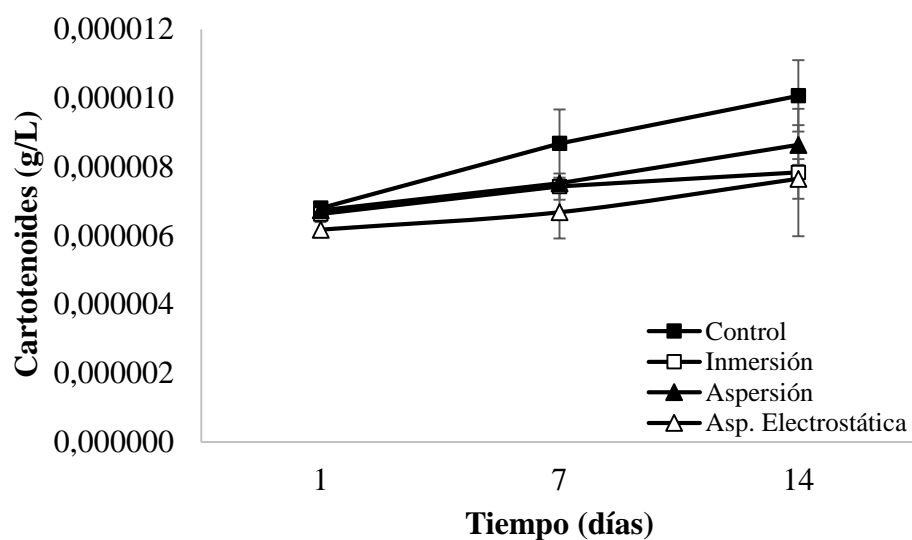
<sup>a,b,c,d</sup> Letras distintas en la misma columna, indican diferencias significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras distintas en la misma fila, indican diferencias significativas al 95% de confianza para los diferentes tiempos de almacenamiento.

## 5.9 Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos naturales, que se metabolizan por las plantas. El pigmento licopeno es el responsable del color rojo brillante de los tomates y los subproductos de este (Saini & Park 2015).

La Fig. 26 muestra la concentración de carotenoides totales, en todos los tomates recubiertos y no recubiertos, se presentó una tendencia a aumentar durante el tiempo de almacenamiento. La coordenada colorimétrica  $a^*$ , mostro una alta correlación con las concentraciones de carotenoides totales encontradas, el cual aumenta durante el tiempo de almacenamiento indicando una intensificación del color rojo en el tomate. Este aumento fue significativo ( $p \leq 0,05$ ) a partir del día siete de almacenamiento. De acuerdo a estos resultados se pone de manifiesto que los recubrimientos formados por inmersión y aspersion electrostática, pueden retrasar la maduración de los tomates, logrando una menor degradación de la clorofila en los cromoplastos de las células y una menor síntesis de carotenoides totales (Zapata, 2007) debido al mayor espesor del recubrimiento y a su menor tasa de respiración.



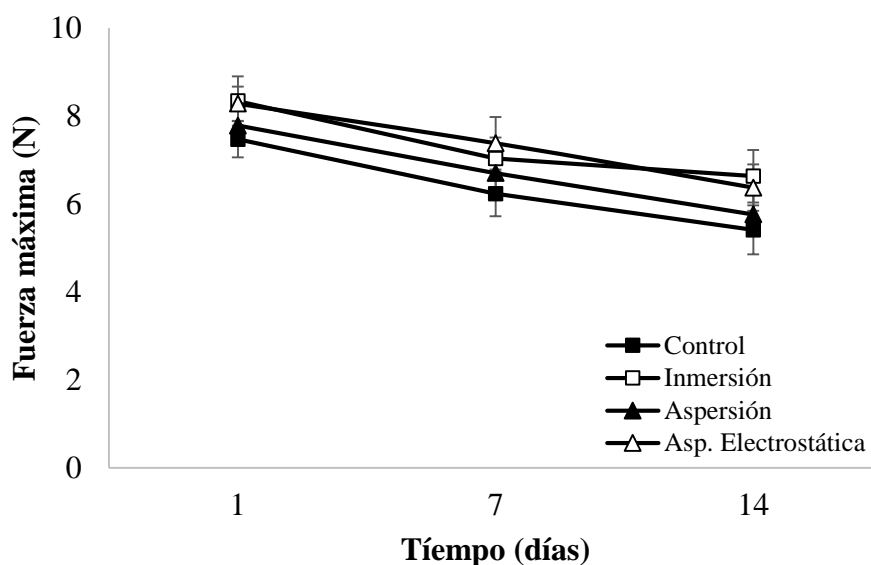
**Figura 26.** Evolución de carotenoides totales (g/L) en frutos de tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

### 5.10 Firmeza

Después de la apariencia visual, el factor más importante en la calidad del tomate cherry es la firmeza, este es un parámetro importante de la calidad de la fruta fresca, que disminuye durante el almacenamiento como resultado de la degradación de la pared celular y la pérdida de turgencia (Guerreiro *et al.*, 2015; García *et al.*, 2010).

El parámetro de firmeza en tomates cherry se muestra en la Fig. 27 se observa que la firmeza de los tomates disminuyó con el tiempo de almacenamiento, tanto para las muestras recubiertas como no recubiertas. La muestra control, mostró claramente los valores de firmeza más bajos, seguido por las muestras tratadas por aspersión simple. Según Fagundes *et al.*, (2014) a nivel molecular, los diferentes procesos que provocan la disminución en la firmeza, son provocados por los procesos bioquímicos que implican la hidrólisis de la pectina en almidón en la pared celular, por enzimas tales como la pectinesterasa y poligalacturonasa, lo cual provoca una ruptura de la pared y membrana de las células. Una baja tasa de respiración puede limitar la actividad de estas enzimas. Por lo tanto, la conservación de la firmeza en los tomates recubiertos ha sido repetidamente relacionado con una reducción de las actividades enzimáticas causada por una modificación de la atmósfera interna de la fruta Ali *et al.*, 2010 y Facundes *et al.*, 2014. Se observa que al día 1 de almacenamiento, las muestras tratadas por inmersión y aspersión electrostática, presentaron mayor firmeza, esto podría deberse únicamente al espesor del recubrimiento formado por estas técnicas, ya que posiblemente a este día aún no se habría creado una atmósfera interna que diferenciara las muestras recubiertas de las no recubiertas.

La firmeza máxima de las muestras tratadas se obtuvo por el método de inmersión y aspersión electrostática, pudiendo esto relacionarse con mayor espesor formado por estas técnicas y un menor grado de actividad respiratoria. Por otro lado, el efecto del recubrimiento sobre el mantenimiento de la firmeza de la fruta también se ha relacionado con su capacidad para controlar la pérdida de peso (D'Aquino *et al.* 2016; Fagundes *et al.*, 2014) lo cual se ha comprobado en este estudio, ya que los tomates cherry recubiertos por inmersión y aspersión electrostática mostraron menores pérdidas de peso y estas muestras son las que presentaron mayor firmeza. Del mismo modo, Ali *et al.*, 2010 reportaron que los tomates recubiertos con goma arábica, conservan su firmeza mejor que la fruta control.



**Figura 27.** Evolución del parámetro firmeza en tomates cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

### 5.11 Evaluación sensorial

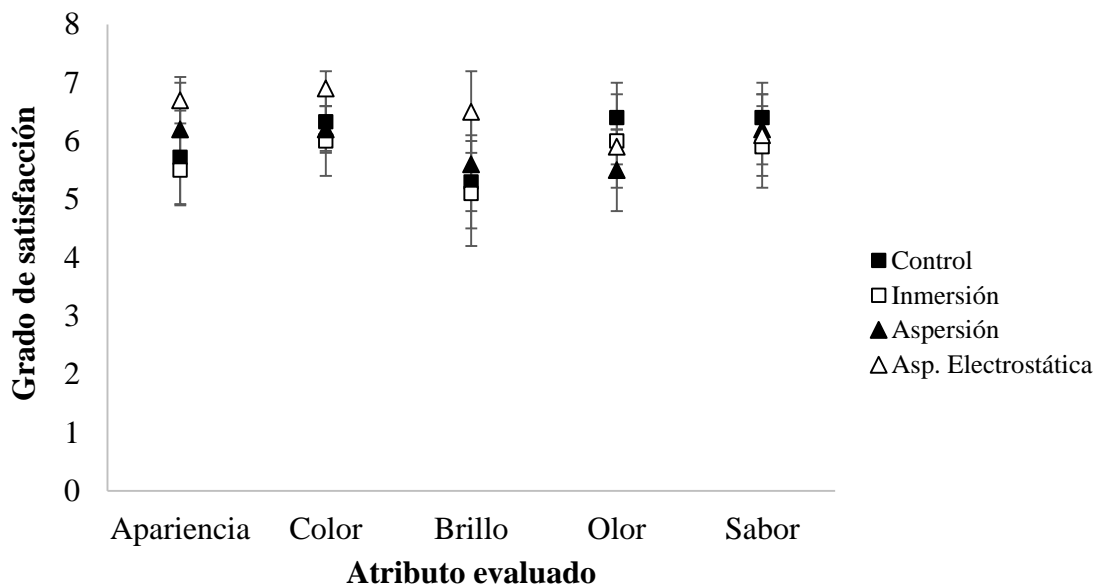
La apariencia, color, brillo y olor son los primeros contactos que tiene el consumidor con un alimento, los cuales condicionan, sus preferencias e influencia en la elección de un producto.

El análisis sensorial de los tomates, se realizó únicamente al día 7 de almacenamiento, con el objetivo de conocer la satisfacción general que producen los tomates recubiertos, respecto a los no recubiertos. Los resultados obtenidos, se presentan en la Fig. 28. En general todos los atributos evaluados, presentaron puntuación superior a 5 (me gusta ligeramente, me gusta bastante, me gusta mucho), lo cual según el test empleado, indica que no hubo rechazo para ninguna de las muestras.

Los tomates recubiertos por aspersión electrostática, presentaron mayor aceptabilidad en cuanto a apariencia, color y brillo. En cuanto a olor y sabor, los tomates recubiertos obtuvieron la menor puntuación, esto podría deberse, al ligero olor característico del carvacrol que estaría presente en las muestras recubiertas, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).



Estos resultados obtenidos podrían deberse a que esta evaluación se llevó a cabo el día 7 de almacenamiento, y a esta fecha, los tomates no presentaron mayores diferencias en sus parámetros de calidad estudiados anteriormente.



**Figura 28.** Atributos sensoriales evaluados a las muestras de tomate cherry recubierto por las diferentes técnicas de aplicación.

## 6.0 CONCLUSIONES

El método de homogenización por altas presiones y la concentración intermedia de carvacrol, dio lugar a la obtención de emulsiones con mayor grado de estabilidad en términos de menor tamaño de gota, e índice de polidispersidad y mayor potencial-Z. En estas condiciones se logró una mayor humectabilidad de las emulsiones debido a la disminución de su tensión superficial y ángulo de contacto. Las emulsiones obtenidas por rotor estator presentaron un ligero comportamiento pseudoplástico, llegando a ser newtonianos con el uso de homogenización por altas presiones. Además las películas obtenidas presentaron un mayor porcentaje de elongación, menor opacidad y permeabilidad al vapor de agua.

La incorporación de carvacrol y el uso de altas presiones como método de homogenización podrían resultar beneficiosos en el desarrollo de recubrimientos comestibles para productos alimenticios, previniendo su deterioro, manteniendo su calidad y vida útil.

El uso de la técnica de inmersión y aspersión electrostática generó recubrimientos con mayor espesor, los cuales retrasaron la maduración de los tomates, debido a una disminución en la actividad respiratoria. Estos recubrimientos presentaron también una barrera a la transferencia al vapor de agua lo cual redujo la pérdida de peso, manteniendo la firmeza del tomate cherry.

Las técnicas de inmersión y aspersión electrostática, no presentaron grandes diferencias, sin embargo la técnica de aspersión electrostática podría ser ventajosa respecto a la técnica inmersión, ya que utiliza una menor cantidad de emulsión y tiene un mejor control del proceso de aplicación. Sin embargo, se requieren más estudios de aspersión electrostática sobre matrices alimentarias para determinar las condiciones óptimas de aspersión que permitan controlar la uniformidad y espesor del recubrimiento y así obtener un mejor efecto de conservación.

## 7.0 BIBLIOGRAFÍA

Abdollahi, M.; Rezaei, M.; Farzi, G. (2012). A novel active bionanocomposite film incorporating rosemary essential oil and nanoclay into chitosan. *J. Food Eng.*, 111, 343–350.

Acevedo-Fani, A., Salvia Trujillo, L., Rojas-Graü, M., Martín-Belloso, O. (2015). Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 47: 168-177.

Acosta, E. (2009). Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 14(1), 3-15

Ahmed, L., Martin-Diana, A., Rico, D., Barry-Ryan, C., (2013). Effect of delactosed whey permeate treatment on physico-chemical, sensorial, nutritional and microbial properties of whole tomatoes during postharvest storage. *Food Science and Technology* 51 367-374

Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *Food science and technology*, 43, 837 – 842.

Albarracín, W., Valderrama, N. (2013). Chemical compounds inclusion in chitosan polymeric matrices and their effect on film properties. *Revista de la facultad de química farmacéutica*. Vol. 21, núm. 1, 2014, pp. 49-59.

Ali, A., Maqbool, M., Ramachandran, S., Alderson, P., (2010). Gum Arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum L.*) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 58 42-47.

Altioik, D., Altioik, E., Tihminlioglu, F. (2010). Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing applications. *J Mater Sci-Mater Med*. 21 (7): 2227-2236.

Alvarado, J., Aguilera, J., (2001). “Métodos para medir propiedades físicas en industrias de Alimentos”. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España, 109, 121-128, 325-332.

Amaya, P., Peña, L., Mosquera, A., Villada, H., Villada, D., (2009). Efecto del uso de recubrimientos sobre la calidad del tomate (*Lycopersicon esculentum mil*). *Dyna*, 162, 67-73.

Andrade, R., (2014). Películas y recubrimientos comestibles nanocompuestos con matriz de gelatina: caracterización física y comportamiento al impacto en vegetales con diferente energía libre de superficie. Universidad de Santiago de Chile, Departamento de Ciencia y Tecnología de los alimentos.

Andrade, R., Skurtys, O., & Osorio, F. (2012). Atomizing spray systems for application of edible coatings. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, (3), 323-337.

Anthon, G., & Barret, D., (2012) Pectin methylesterase activity and other factors affecting pH and titratable acidity in processing tomatoes. *Food Chemistry* 132 (2) 15–920

AOAC Official Method 945.15. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Official method of Analysis of AOAC International, ed. 18, 2005, cap. 37, p. 10.

Arrieta, M., Peltzer, M., Garrigós, M., Jiménez, A. (2012). Structure and mechanical properties of sodium and calcium caseinate edible active films with Carvacrol. *Journal of Food Engineering*, 114(4), 486–494.

Avena-Bustillos, R.J., Krochta, J.M., Saltveit, M.E., Rojas-Villegas, R.J., Saucedo-Pérez, J.A. 1994. Optimization of edible coatings formulations on zucchini to reduce water loss. *Journal of Food Engineering*, 21, 197-214.

Badawy, M., Rabea, E. (2009). Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest biology and technology*, 51(1), 110-117.

Baldwin, E., Scott, J., Malundo, T., Schewfelt, R., Tandom, K., (1998). Relationship between sensory and instrumental analysis for tomato flavor. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123, 900-915.

Baouche, N., Elchinger, P., Baynast, H., Pierre, G., Delater, C., Michaud, P., (2014). Chitosan as an adhesive. Review, *European Polymer Journal*, 60, 198-212.

Bauer, S., Schulte, E., Thier, H, P. (2004). Composition of the surface wax from tomatoes. *Eur Food Res Technol* 219:223–228.

Bautista-Baños, A. N. Hernández-Lauzardo, M. G. Velásquez-del Valle, M. Hernández-Lopez, E. Ait Barka, E. Bosquez-Molina, C. L. Wilson. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118.

Bayod, E., Månsson, P., Innings, F., Bergenståhl, B., & Tornberg, E. (2007). Low shear rheology of concentrated tomato products. Effect of particle size and time. *Food Biophysics*, 2(4), 146–157.

Beckles, D. (2012). Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 63(1), 129-140.

Beena & Rawat. (2013). Synthesis and antioxidant activity of thymol and carvacrol based Schiff based. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 23(3), 641-645.

Bico, S.L.S., Raposo, M.F.J., Morais, R.M.S.C., Morais, A.M.M.B., 2009. Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. *Food Control* 20, 508–514.

Bico, S.L.S., Raposo, M.F.J., Morais, R.M.S.C., Morais, A.M.M.B., (2009). Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. *Food Control* 20, 508–514.

Bonilla, J., Atarés, M., Vargas, M., Chiralt, A., (2012). Effect of essential oils and homogenization conditions on properties of chitosan-based films. *Food Hydrocolloids*, 26, 9-16.

Bosques-Molina, E., (2004). “Desarrollo de recubrimientos comestibles formulados con goma de mesquite y cera de candelilla para conservación de frutas”. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Biotecnología, México.

Bourbon, A., Pinheiro, A., Cerqueira, M., Rocha, C., Avides, M., Quintas, M., Vicente, A. (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*, 106 (2), 111–118.

Bravin, B., Peressini, D., Sensidoni, A., (2006). Development and application of polysaccharide-lipid edible coating to extend shelf-life of dry bakery products. *Journal of Food Engineering*, 76(3), 280-290.

Britton, G., (1985). General carotenoid method. In: *Methods in enzymology*. Academic Press inc. Ed: J.h. Law and H. C. Rilling (1985), vol. 111: 113-149 (QU135c719)

Casariego, A., Souza, B. W. S., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., Cruz, L., Díaz, R. (2008). Chitosan coating surface properties as affected by plasticizer, surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids* 22, 1452–1459.

Casariego, A.; Souza, B.W.S.; Cerqueira, M.A.; Teixeira, J.A; Cruz, L.; Díaz, R.; Vicente, A.A. (2009). Chitosan/clay films properties as affected by biopolymer and clay micro/nanoparticles concentrations. *Food Hydrocolloid.* , 23, 1895–1902.

Casp, V., Abril, R., (1999). “Procesos de conservación de alimentos”, *Tecnología de alimentos*, 10, 259-261.

Castelló, M., Fito, P., Chiralt, A., (2006). Effect of osmotic dehydration and vacuum impregnation on respiration rate of cust strawberries. *Food Science and Technology*, 39(10), 1171-1179.

Castillo, S., Pérez, C., Martínez, D., Guillen, F., Serrano, M., Valero, D., (2014). The essential oils thymol and carvacrol applied in the packing lines avoid lemon spoilage and maintain quality during storage. *Food Control* 35 (1) 132-136

Cheema, A., Padmanabhan, P., Subramanian, J., Blom, T., Paliyath, G. (2014). Improving quality of greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by pre- and postharvest applications of hexanal-containing formulations. *Postharvest Biology and Technology*, 95, 13–19.

Chillo, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L., & del Nobile, M. A. (2008). Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. *Journal of Food Engineering*, 88, 159-168.

Conde & Munguía, (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble. *Ingeniería en Alimentos* 1-8.

Dantas Guerra, I., Oliveira, P., Pontes, A., Lúcio, A., Tavares, J., Barbosa, J., Madruga, M., Souza, E., (2015) Coatings comprising chitosan and *Mentha piperita* L. or *Mentha × villosa*

D'Aquino, S., Mistriotis, A., Briassoulis, D., Lorenzo, M., Malinconico, M., Palma, A., (2016). Influence of modified atmosphere packaging on postharvest quality of cherry tomatoes held at 20 C. *Postharvest Biology and Technology* 115 (2016) 103–112

Debeaufort, F. y Voilley, A. (2009). Lipid-based edible films and coating. En: M. Embuscado y K. Huber (Eds.), *Edible films and coating for food applications*, 135-164. Springer, 2da edición.

Dickinson, E., y Stainsby, G., (1988). "Emulsion Stability. En *Advances in Food Emulsions and foams*". Eds., Elsevier Applied Science Publishers, Londres, Reino Unido.

Elsabee, M., Abdou, E., (2013). Chitosan based edible films and coatings. *Materials Science and Engineering C. A Review* C33 1819-1841.

Fagundes, C., Palou, L., Alcilene, R., Pérez-Gago. (2014). Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings on gray mold development and quality attributes of cold-stored cherry tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 1-8.

Fagundes, C., Pérez-Gago, Alcilene, R., Lluís, P. (2013). Antifungal activity of food additives in vitro and as ingredients of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible coating against *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 391-398.

Falguera, V., Quintero, J., Jimenez, A., Muñoz, J., Ibarz, A. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use, 22(6), 292-303.

Feng, W., Zheng, X., Chen, J., Yang, Y. (2008). Combination of cassia oil with magnesium sulphate for control of postharvest storage rots of cherry tomatoes. *Crop Protection*, 27(1), 112–117.

Fernández, P., Maté, J., Gardrat, C., Coma, V., (2015). Effect of chitosan molecular weight on the antimicrobial activity and release rate of carvacrol-enriched films. *Food Hydrocolloids*, 51, 60-68.

Finnegan, E., Mahajan, P., O'Connell, M., Francis, G., O'Beirne, D., (2013). Modelling respiration in fresh-cut pineapple and prediction of gas permeability needs for optimal modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology* 79 47-53

Floury, J., Desrumaux, A., Lardieres, J., (2000). Effect of high pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 127-134.

Fonseca, S.C., Oliveira, F.A.R., Jeffrey, K., Brecha, J.K. 2002. Modelling respiration rate of fresh fruits and vegetables for modified atmosphere packages: A review. *Journal of Food Engineering*, 52, 99-119.

Galus, S., Kadzinska, J., (2015) Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology* 45 (2), 273-283.

Ganesh, V., Hettiarachchy, N. S., Griffis, C. L., Martin, E. M., & Ricke, S. C. (2012). Electrostatic spraying of food-grade organic and inorganic acids and plant extracts to decontaminate *Escherichia coli* O157: H7 on spinach and iceberg lettuce. *Journal of Food Science*, 77(7), 391-396.

García, A., Contreras, A., Rodríguez, M., Trujillo, Y., (2010). Características físicas y químicas del tomate (*Solanum lycopersicum L.*) variedad pera. 1, 75-82.

Gennadios, A., Weller, C., Gooding, C. (1994). Measurement Errors in Water Vapor Permeability of Highly Permeable, Hydrophilic Edible Films. *Journal of Food Engineering*, (21), 395-409.

Guerra-Rosas, M., Morales-Castro, J., Ochoa-Martínez, L., Salvia-Trujillo, L., Martín-Belloso, O. (2016). Long-term stability of food-grade nanoemulsions from high methoxyl pectin containing essential oils. *Food Hydrocolloids* 52 438-446.

Guerreiro, A., Gago, C., Faleiro, M., Miguel, Maria., Antunes, M., (2015). The use of polysaccharide-based edible coatings enriched with essential oils to improve shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology* 110, 51-60

Guerrero, P., Nur Hanani, Z., Kerry, J.P., De la Caba, K. (2011). Characterization of soy protein-based films prepared with acids and oils by compression. *Journal of Food Engineering*, 107: 41-49.

Guo, Z., Huang, W., Peng, Y., Chen, Q., Ouyang, Q., Zhao, J., (2016) Color compensation and comparison of shortwave near infrared and long wave near infrared spectroscopy for determination of soluble solids content of 'Fuji' apple. *Postharvest Biology and Technology* 115 81-90

Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonessen, U., Van Otterdijk, R., Maybeck, A. (2011). Global food losses and food waste. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, [www.FAO.Org](http://www.FAO.Org).

Gutierrez, L., Batlle, R., Sanchez, C., Nerin, C. (2010). New approach to study the mechanism of antimicrobial protection of an active packaging. *Food borne Pathogens and Disease*, 7(9), 1063–1069.

Hagenmaier, R. D., Baker, R. A. (1993). Reduction in gas exchange of citrus fruit by wax coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(2), 283–287.

Han Jung H., (2014). Edible Films and Coatings. A Review 213-350.

Han, J.H., Floros, J.D. (1997). Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *J. Plast. Film Sheeting*, 13: 287-298.

Hirlekar, R., Patel, M., Jain, S., & Kadam, V., (2010). Drug eluting coronary artery stents. *Current Drug Delivery*, 7(5), 421-427.

Hosseini, M., Razavi, S., Mousavi, M. (2009). Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J Food Process*. 33 (6): 727-743.

Huang, Q., Yu, H., Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Science*. 75, 50-57.

Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherry tomato fruit. *International Journal of Food Microbiology* 214 (2) 168–178

Iqbal, M., Cakmak, H., Tavman, S, Schutyser, M., Schroen, K., (2013). Anti-browning and barrier properties of edible coating prepared with electrospraying. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. Publish. Comp. Ltd., New Delhi, 77–78.

Jafari, S., Bhandari, B. (2008). Re-coalescence of emulsion droplets during high-energy emulsification. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1191-1202.

Jones, J., (1999). *Tomato Plant Culture: In the Field, Greenhouse and Home Garden*. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, EEUU.

Kasaai, M. R., Charlet, G., Paquin, P., & Arul, J. (2003). Fragmentation of chitosan by microfluidization process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 403-413.

Kaufman, S., Garti, N., (1981). “Spectral absorption measurements for determination of ease of formation and stability of oil in water emulsions”. *J. Dispersion Sci. and Technol.* 2(4). 475-490.

Kaur, C., Walia, S., Nagal, S., Walia, S., Singh, Jashbir., Singh, B., Saha, S., Singh, B., Kalia, P., Jaggi, S., (2013). Functional quality and antioxidant composition of selected tomato



(*Solanum lycopersicon* L) cultivars grown in Northern India. *Food Science and Technology*, 50(1), 139-145.

Keawchaon, L., Yoksan, R. (2011). Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 84 163–171

Khan, B.A., Akhtar, N., Khan, H.M.S., Waseem, K., Mahmood, T., Rasul, A., Iqbal, M., Khan, H., (2011). Basics of pharmaceutical emulsions: a review *African J. Pharm. Pharmacol.* 5 (25), 2715–2725

Krochta John M., Baldwin Elizabeth A., Nisperos Myrna O., (1994). *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Technomic Publishing CO. INC.

Krochta, J y De-Mulder, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food technology*, 51(2), 61-74.

Kurek, M., Brachais, C., Scetar, M., Voilley, A., Galic, K., Couvercelle, J., Debeaufort, F., (2013). Carvacrol effects interfacial, structural and transfer properties of chitosan coatings applied onto polyethylene. *Carbohydrate Polymers*, 97, 217-225.

Kurek, M., Guinault, A., Voilley, A., Galic, K., Debeaufort, F., (2014). Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan based films and coatings, *Food Chemistry* 144, 9–17

Kwok D. Y., Neumann A. W., 1999. Contact angle measurement and contact angle interpretation. *Advances in Colloid and Interface Science* 81, 167-249.

Kwok D. Y., Neumann A. W., 2000. Contact angle interpretation in terms of solid surface tension. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 161, 31–48.

Lagoueyte, N., Paquin, P. (1998). Effects of microfluidization on the functional properties of xanthan gum. *Food Hydrocolloids* 12(3), 365-371.

Lattner D., Jennissen P. H., 2009. Preparation and properties of ultra-hydrophilic surfaces on titanium and steel. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* 40, 108-116.

Lee, S. H., Lefevre, T., Subirade, M., Paquin, P. (2009). Effects of ultra-high pressure homogenization on the properties and structure of interfacial protein layer in whey protein-stabilized emulsion. *Food Chemistry* 113, 191-195.

Lim, J.S., Wong, S.F., Law, M.C., Samyudia, Y., Dol, S.S., (2015). A review on the effects of emulsions on flow behaviours and common factors affecting the stability of emulsions. *J. Appl. Sci.* 15, 167–172

Lin, D. y Zhao, Y., (2007). Innovations in the Development and Application of Edible Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(3), 60-75.

Lopez-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Silva, N., Ornelas, J., Zamudio, P., Burruel, S., (2013). Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. *Molecules*, 18, 13735.

Lopez-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Silva, N., Ornelas, J., Zamudio, P., Burruel, S., (2013). Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. *Molecules*, 18, 13735.

Lopez-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Silva, N., Ornelas, J., Zamudio, P., Burruel, S., (2013). Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. *Molecules*, 18, 13735.

Lopez-Mata, M., Ruiz, S., Silva, N., Ornelas, J., Zamudio, P., Burruel, S., (2013). Physicochemical, Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chitosan Films Incorporated with Carvacrol. *Molecules*, 18, 13735-13753.

Luo, C., Loh, S., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2012). Electrospraying and electrospinning of chocolate suspensions. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2285–2300.

Luo, M., Rigg, G., (2000). The Development of the CIE 2000 Colour-Difference Formula: CIEDE2000. Colour & Imaging Institute, University of Derby, UK

Ma, Q., Zhang, Y., Zhong, Q. (2016). Physical and antimicrobial properties of chitosan films incorporated with lauric arginate, cinnamon oil, and ethylenediaminetetraacetate. *Food Science and Technology* 65 173-179.

Ma, W., Tang, C., Yin, S., Yang, X., Qi, J., Xia, N., (2012). Effect of homogenization conditions on properties of gelatin–olive oil composite films. *Journal of Food Engineering*, 113, 136–142.

Maindarkar, S., Hoogland, H., Henson, M., (2015). Predicting the combined effects of oil and surfactant concentrations on the drop size distributions of homogenized emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 467, 18–30

Malvern, s. f. [www.malvern.com/en/products/measurement-type/zeta-potential](http://www.malvern.com/en/products/measurement-type/zeta-potential). Visitado el 02 de febrero, 2016.

Marković, K., Hruškar, M., Vahčić, N., (2006). Lycopene content of tomato products and their contribution to the lycopene intake of Croatians. *Nutritión Research*, 26(11), 556–560.

McClements DJ., (2005). *Food Emulsions: Principles Practices and Techniques*. CRC Press.

McClements, D. J. (2005). Interfacial properties and their characterization. In D. J. McClements (Ed.), *Food emulsions. Principles practices and techniques* (pp. 175-232). Boca Raton: CRC Press.

McClements, D. J. (2009). Biopolymers in food emulsions. In N. Kassapis, & Ubbink. (Eds.), *Modern biopolymer science* (pp. 129e166). New York: Elsevier Science.

McClements, D. J., Decker, E. A., & Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72(8), R109-R124.

McHugh T.H., Avena-Bustillos, R., Krochta, J.M. 1993. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58, 899-903.

McHugh, T., y Krochta, J., (1994). Sorbitol-vs Glicerol-Plasticized Whey Protein Edible Films: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(4), 841-845.

Miramont, S., (2012). Recubrimientos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. Escuela de postgrado, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

Mohamed, B., Rabea, E., (2009). Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 51(1), 110–117.

Moreno, S., Cantú, J., Avila, M., Gonzáles, M., González, H., Garza, J., (2010). Determinación de carotenoides y clorofila en frutos de cuatro variedades de chile (*Capsicum sp*). Facultad de ciencias biológicas, Universidad de Guanajuato

Navarro, C., (2010). Recubrimientos comestibles a base de Hidroxipropil metilcelulosa: Caracterización y aplicación. Univesidad politécnica de valencia. Departamento de Tecnología de Alimentos, Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo.

Navarro, M., (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de Alimentos.

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

Otoni, C., De Moura, M, Aouada, Fauze., Camilloto, G., S. Cruz, R., Lorevice, M., Soares, N., Mattoso, L. (2014). Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids* 41 188-194. (a).

Otoni, C., Pontes, S., Medeiros, E., Soares, N. (2014). Edible Films from Methylcellulose and Nanoemulsions of Clove Bud (*Syzygium aromaticum*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils as Shelf Life Extenders for Sliced Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (22), 5214–5219 (b).

Palmero, P., Panozzo, A., Colle, I., Chigwedere, C., Hendrickx, M., Van, A., (2016). Role of structural barriers for carotenoid bioaccessibility upon high pressure homogenization. *Food Chemistry* 199, 423–432

Park, Je, J., & Kim, S., (2004). Free radical scavenging activities of differently deacetylated chitosan using an ESR spectrometer. *Carbohydrate Polymers*, 55, 17-22.

Pecho, O., Ghinea, R., Alessandretti, R., Pérez, M., Bona, A., (2016). Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dental materials* 32 (1) 82–92

Peleg, M. 1979. Characterization of stress relaxation curve of solid foods. *Journal of Food Science*, 44, 277-281.)

Peng, J., Dong, W., Li, L., Xu, J., Jin, D., Xia, X., Liu, Y., (2015). Effect of high-pressure homogenization preparation on mean globule size and largediameter tail of oil-in-water injectable emulsions. *Journal of food and drug analysis*, 23, 828-835

Perdones, A., Sánchez-González, L.m Chiralt, A., Vargas, M., (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of Strawberry. *Postharvest Biology and Technology* 70 (197) 32–41

Pereda, M., Ámica, G., Marcovich, N.E. (2012). Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87:1318-1325.

Peretto, G., Du, Wen, Avena-Bustillos, R., Sarreal, S., sheng, S., Paolo, H., McHugh, T., (2014). Increasing strawberry shelf-life with carvacrol and methyl cinnamate antimicrobial vapors released from edible films. *Postharvest Biology and Technology*, 89, 11-18.

Persico, P., Ambroggi, V., Carfagna, C., Cerruti, P., Ferrocino, I., Mauriello, G., (2009). Nanocomposite polymer films containing carvacrol for antimicrobial active packaging. *Polymer Engineering and Science*, 49(7), 1447–1455.

Pinheiro, J., Alegria, C., Abreu, M., Gonçalves, E.M., Silva, C.L.M., (2013). Kinetics of changes in the physical quality parameters of fresh tomato fruits (*Solanum lycopersicum*, cv. ‘Zinac’) during storage. *J. Food Engineering*. 114, 338–345.

Phan, D., Debeaufort, F., Luu, D., Voilley, A. (2005). Functional Properties of Edible Agar-Based and Starch-Based Films for Food Quality Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 973-981.

Qian, C., D.J. McClements, (2011) Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: factors affecting particle size, *Food Hydrocoll.* 25 (5) 1000–1008.

Ramirez, H., Rodriguez, L., Benavides, A., Robledo, V., (2004). Influencia de la Temperatura sobre Procesos Fisiológicos en Postcosecha de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Agraria-Nueva Epoca-Año I Vol. 1 No 3 Septiembre-Diciembre 2004.*

Ramos, M., Jimenez, A., Peltzer, M., Garrigos, M.C., (2012). Characterization and antimicrobial activity studies of polypropylene films with carvacrol and thymol for active packaging. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 513–519.

Ramos-Garcia, M. L., Bautista-Banos, S., Barrera-Necha, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 28(1), 44 – 57.

Rangana, S., (1977). *Manual analysis of fruit and vegetable products.* TataMcGrawHill

Ribeiro, C., Vicente, A., Teixeira, J., Miranda, C., (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology* 44 (1) 63–70

Riveiro, C., Vicente, A., Teixeira, J., Miranda, C., (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), 63-70.

Rocculi, P., Romani, S., Dalla Rosa, M. (2005). Effect of MAP with argon and nitrous oxide on quality maintenance of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 35, 319-328.

Rosales, M., (2008). Combination effect of chitosan and methyl jasmonate on controlling *Alternaria alternata*. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Fisiología Vegetal.

Rubilar, J., Cruz, R., Silva, H., Vicente, A., Khmelinskii, I., Viera, M., (2013). Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *Journal of Food Engineering*, 115, 466-474.

Ruiz, C., LLana. M., Maisanaba, S., Puerto, M., Prieto, Ana, Pichardo, Silvia., Jos, Ángeles., Cameán, Ana., (2014). Evaluation of the mutagenicity and genotoxic potential of Carvacrol and thymol using the Ames Salmonella test and alkaline, Endo III and FPG-modified comet assays with the human cell line Caco-2. *Food and Chemical Toxicology*, 72, 122–128.

Ruiz, J., Vicente, A., Montañez, J., Rodriguez, R., Aguilar, C., (2012). El tomate, tecnologías para prolongar su vida de anaquel. Universidad Autónoma de Aguas Calientes, *Investigación y Ciencia*. 54, (57-63) Enero-Abril 2012.

Ruiz, L., (2009). Actividad superficial de mezclas de soluciones de surfactantes no iónicos tween20 y tween80 en interfaz líquido-aire. Universidad de Carabobo, Departamento de química.

Rulon, E. y Robert, H., (1993). "Wetting of low-energy surfaces. En: Wettability. John C. B. editor. New York: Marcel Dekker, Inc 4-73.

Ruttarattanamongkol, K., Nor Afizah, M., Rizvi, S. (2015). Stability and rheological properties of corn oil and butter oil emulsions stabilized with texturized whey proteins by supercritical fluid. *Journal of Food Engineering* 166 139–147.

Saini, R., Nile, S., Park, Se., (2015). Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Research International* 76 (3) 735–750

Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2015). Physicochemical characterization and antimicrobial activity of foodgrade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids* 43 547-556

Sanchez-Gonzalez L, Chiralt A, Gonzalez-Martinez C, Chafer M. (2011). Effect of essential oils on properties of film forming emulsions and films based on hydroxypropylmethylcellulose and chitosan. *J Food Eng.*; 105 (2): 246-253.

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

Santiago, J., Mendoza, M., Borrego, F., (1998). Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum*, MILL) en invernadero: criterios fenológicos y fisiológicos. *Agronomía mesoamericana*, 9(1), 59-65.

Santos, E., Kamimura, J., Colina, L., Gomez, C., (2015). Characterization of inclusion complexes of beta-cyclodextrin carvacrol as delivery systems for antioxidants and antibacterial applications. *Food Science and Technology*, 583-592.

Schuster, J., Schvezov, C., Rosenberger, M., (2015). Influence of Experimental Variables on the Measure of Contact Angle in Metals Using the Sessile Drop Method. *Procedia Materials Science* 8, 742 – 751.

Sharma, G., Wu, W., Dalal, E., (2004). The CIEDE2000 Color –Difference Formula: Implementation Notes, Supplementary Test Data, and Mathematical Observations. ECE Department and Department of Biostatistics and Computational Biology, University of Rochester. Rochester, NY 14627-0126

Shaw, N.B., Monahan, F.J., O’Riordan, E.D., O’Sullivan. (2002). Effect of soya oil and glycerol on physical properties of composite WPI films. *Journal of Food Engineering*, 51: 299-304.

Shen, Z., Kandem, D. (2015). Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils. *International Journal of Biological Macromolecules* 74 289-296.

Shi, W., Tang, C., Yin, S., Yin, Y., Yang, X., Wu, L., Zhao, Z. (2016). Development and characterization of novel chitosan emulsion films via pickering emulsions incorporation approach. *Food Hydrocolloids* 52 253-264

Shi, Y., Luo, H., Li, N., (2011). Determination of the critical premicelle concentration, first critical micelle concentration and second critical micelle concentration of surfactants by resonance Rayleigh scattering method without any probe. *Spectrochimica Acta Part A* 78 (5) 1403–1407

Silva, A., Guimaraes, E., Silva, B., Sousa-Neto, F., Machado, L., Quintans-Junior, (2012). Actividades anti-inflamatorias y anti-úlceras de carvacrol, un monoterpeno presente en el aceite esencial de orégano *Journal of Medicinal Food*, 15(11), 984-991.

Sothornvit, R. y Krochta, J., (2000). Plastizer effect on Oxygen Permeability of  $\beta$ -Lactoglobulin Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(12), 6298-6302.

Sothornvit, R. y Krochta, J., (2005). Plasticizers in edible films and coatings. En: J.H. Han (Ed), *Innovations in Food Packaging*, 403-433. Academic Press, London.

Stanghellini, C., (1992). Evapotranspiración in greenhouses with special reference to mediterranean conditions. *I.S.H.S. Int. Symp. Irrigación of Horticultural Crops*. Almería, España. *Acta Hort*, 335, 295-304.

Stinco, Carla., Rodriguez, F., Escudero, M., Gordillo, B., Vicario, I., Meléndez, A., (2013). Lycopene isomers in fresh and processed tomato products: Correlations with instrumental color measurements by digital image analysis and spectroradiometry. *Food Research International*, 50(1), 111–120.

Strickland, J., & Parsons, T., (1972). A practical handbook of seawaters analysis. *Bull. Fish. Res. Bd. Can.* 167:1-20. (Ottawa, 170p.)

Turienzo, L., Cobos, A., Diaz, O., (2013). Effects of microbial transglutaminase added edible coatings based on heated or ultrasound-treated whey proteins in physical and chemical parameters of frozen Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food Engineering* 119 (3), 433–438

Valencia-Chamorro, S.A., Palou, L., Pérez-Gago, M.B., 2011. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruit and vegetables: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 51, 872-900.

Vargas, M., Alborn, A., Chiralt, A., González-Martínez, (2006) Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology* 41 164–171

Vargas, M., Perdonés, A., Chiralt, A., Cháfer, M., González, C., (2011). Effect of homogenization conditions on physicochemical properties of chitosan-based film-forming dispersions and films. *Food Hydrocolloids*, 25, 1158-1164.

Vieira, M., da Silva, M., dos Santos, L., & Beppu, M., (2011). Naturalbased plasticizers and biopolymer films: a review. *European Polymer Journal*, 47, 254-263.

Villalobos, R., Chanona, J., Hernández, P., Gutiérrez, G., Chiralt, A. (2005). Gloss and transparency of hydroxypropyl methylcellulose films containing surfactants as affected by their microstructure. *Food Hydrocolloids*, 19: 53–61.

Wang, L., Auty, M., Rau, A., Kerry, J., Kerry, J., (2009). Effect of pH and addition of corn oil on the properties of gelatin-based biopolymer films. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 11-19.

Wang, Y., Yu, T., Xia, J., Yu, D., Wang, J., Zheng, X. D., (2010). Biocontrol of postharvest gray mold of cherry tomatoes with the merine yeast *Rhodosporidium paludigenum*, *Biol. Control* 53, 178-182.

Werner, S., Jones, J., Paterson, A., Archer, R., Pearce, D., (2007). Droplet impact and spreading: Droplet formulation effects. *Chemical Engineering Science*, 62(9), 2336-2345.

Windhab, E., Dressler, M., Feigl, K., Fischer, P., Megias-Alguacil, D., (2005). Emulsion processing-from single-drop deformation to design of complex processes and products. *Chem Eng Sci*, 60, 2101-2113.

Wong, D.W.S., Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J., Pavlath, A.E. 1992. Chitosan-lipid films: Microstructure and surface energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 540-544.

Wooster, T. J., Golding, M., & Sanguansri, P. (2008). Impact of oil type on nanoemulsion formation and ostwald ripening stability. *Langmuir*, 24(22), 12758-12765.

Wu, B., & McClements, D., (2015). Design of reduced-fat food emulsions: Manipulating microstructure and rheology through controlled aggregation of colloidal particles and biopolymers. *Food Research International* 76, 777–786

Wu, S., Lu, Mingsheng, Wang, S., (2016). Effect of oligosaccharides derived from *Laminaria japonica*-incorporated pullulan coatings on preservation of cherry tomatoes. *Food Chemistry* 199, 296–300.

Yang, T., Young, T., (2009). The specificity of chitosan in promoting branching morphogenesis of progenitor salivary tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 381 (4) 466-470



Yun, J., Fan, X., Li, X., Jin, T., Jia, X., Mattheis, J., (2015). Natural surface coating to inactivate *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and maintain quality of cherry tomatoes. *International Journal of Food Microbiology* 193 59–67

Zapata, L., Gerard, L., Davies, C., Oliva, L., Schwab, M., (2007). Correlación matemática de índices de color del tomate con parámetros texturales y concentración de carotenoides. *Ciencia, Docencia y Tecnología* 34, 207-226

Zapata, R., P.J., Guillen, F., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Valero, D., Serrano, M., (2008). Use of alginate or zein as edible coating to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*solanum lycopersicon* Mill) quality. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1287-1293.

Zhong, Y., Cavender, G., Zhao, Y., (2014). Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese. *Food Science and Technology* 56, 1-8

Zhong, Yu, Cavender, G., Zhao, Y., (2014). Investigation of different coating application methods on the performance of edible coatings on Mozzarella cheese. *Food Science and Technology* 56(1), 1-8.

## 8.0 ANEXOS

**Anexo 1.** Valores promedio tamaño de gota promedio de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol % (v/v)	Método de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0,25	561,9±80,7 <sup>a,x</sup>	333,0±50,8 <sup>a,y</sup>
0,5	196,8±80,7 <sup>b,x</sup>	104,1±50,8 <sup>b,y</sup>
1,0	305,9±80,7 <sup>b,x</sup>	247,4±50,8 <sup>a,y</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 2.** Valores promedios para índice de polidispersidad de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0,25	0,97±0,06 <sup>a,x</sup>	0,97±0,04 <sup>a,x</sup>
0,5	0,76±0,06 <sup>b,x</sup>	0,55±0,04 <sup>b,y</sup>
1,0	0,61±0,06 <sup>c,x</sup>	0,53±0,04 <sup>b,x</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 3.** Valores promedios de potencial-Z para las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	53,5±3,2 <sup>a,x</sup>	56,9±2,4 <sup>a,x</sup>
0,25	48,9±6,3 <sup>a,x</sup>	51,4±4,2 <sup>b,x</sup>
0,5	50,5±3,4 <sup>a,x</sup>	52,4±2,7 <sup>ab,x</sup>
1,0	46,6±1,4 <sup>a,x</sup>	51,7±1,9 <sup>ab,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 4.** Valores promedios de tensión superficial de las emulsiones homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
<b>0</b>	41,9±0,4 <sup>a</sup>	-
<b>0+T</b>	37,1±0,3 <sup>b,x</sup>	42,4±0,5 <sup>a,y</sup>
<b>0,25</b>	32,5±0,1 <sup>c,x</sup>	34,9±0,1 <sup>b,y</sup>
<b>0,5</b>	32,4±0,1 <sup>c,x</sup>	34,5±0,1 <sup>b,y</sup>
<b>1,0</b>	39,9±0,1 <sup>d,x</sup>	40,6±0,1 <sup>c,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

T: Tween80

**Anexo 5.** Datos para análisis para tensión superficial crítica de la superficie del epicarpio de tomate cherry

Líquidos	Tensión superficial	Angulo de contacto	Cos $\theta$
<b>Agua</b>	72,8	74,3	0,27
<b>Glicerol</b>	64	73,98	0,28
<b>Formamida</b>	58,2	69,61	0,35
<b>Etanol</b>	22,7	18,25	0,92
<b>Valor extrapolado</b>		<b>16,54</b>	<b>1</b>

**Anexo 6.** Datos experimentales para las curvas de flujo de las emulsiones homogenizadas mediante rotor estator.

Concentración de Carvacrol (%v/v)							
0		0,25		0,5		1,0	
Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]
0,10	0,01	0,10	0,01	0,10	0,01	0,10	0,00
0,14	0,01	0,14	0,01	0,14	0,02	0,14	0,01
0,19	0,02	0,19	0,02	0,19	0,02	0,19	0,01
0,26	0,02	0,26	0,02	0,26	0,03	0,26	0,02
0,36	0,03	0,36	0,03	0,36	0,04	0,36	0,03
0,49	0,05	0,49	0,05	0,49	0,05	0,49	0,04
0,67	0,07	0,67	0,06	0,67	0,07	0,67	0,06
0,92	0,10	0,92	0,09	0,92	0,10	0,92	0,09
1,27	0,13	1,27	0,12	1,27	0,14	1,27	0,13
1,74	0,17	1,74	0,17	1,74	0,19	1,74	0,17
2,40	0,23	2,40	0,22	2,39	0,25	2,40	0,25
3,29	0,31	3,29	0,32	3,29	0,33	3,29	0,36
4,52	0,44	4,52	0,45	4,52	0,47	4,52	0,51
6,21	0,62	6,21	0,63	6,21	0,67	6,21	0,71
8,53	0,85	8,53	0,86	8,53	0,92	8,53	0,96
11,70	1,15	11,70	1,18	11,70	1,24	11,70	1,32
16,10	1,60	16,10	1,63	16,10	1,73	16,10	1,81
22,10	2,19	22,10	2,25	22,10	2,37	22,10	2,50
30,40	3,01	30,40	3,08	30,40	3,24	30,40	3,42
41,80	4,11	41,80	4,22	41,80	4,41	41,80	4,67
57,40	5,64	57,40	5,80	57,40	6,02	57,40	6,39
78,80	7,73	78,80	7,95	78,80	8,20	78,80	8,74
108,00	10,60	108,00	10,90	108,00	11,10	108,00	11,90
149,00	14,40	149,00	14,80	149,00	15,00	149,00	16,20
204,00	19,70	204,00	20,20	204,00	20,20	204,00	21,90
281,00	26,60	281,00	27,40	281,00	27,00	281,00	29,50
386,00	35,80	386,00	36,90	386,00	35,80	386,00	39,40
530,00	47,80	530,00	49,30	530,00	47,20	530,00	52,30
728,00	63,20	728,00	65,30	728,00	61,60	728,00	68,60
1000,00	82,70	1000,00	85,50	1000,00	79,70	1000,00	89,00

**Anexo 7.** Datos experimentales para las curvas de flujo de las emulsiones homogenizadas mediante altas presiones (100 MPa).

**Concentración de Carvacrol (%v/v)**

0		0,25		0,5		1,0	
Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]	Shear Rate [1/s]	Shear Stress [Pa]
0,10	0,01	0,10	0,01	0,10	0,00	0,10	0,01
0,14	0,01	0,14	0,01	0,14	0,01	0,14	0,01
0,19	0,02	0,19	0,01	0,19	0,01	0,19	0,01
0,26	0,02	0,26	0,02	0,26	0,01	0,26	0,02
0,36	0,03	0,36	0,03	0,36	0,02	0,36	0,03
0,49	0,04	0,49	0,05	0,49	0,03	0,49	0,04
0,67	0,06	0,67	0,06	0,67	0,04	0,67	0,07
0,92	0,08	0,92	0,08	0,92	0,06	0,92	0,10
1,27	0,12	1,27	0,11	1,27	0,08	1,27	0,13
1,74	0,16	1,74	0,15	1,74	0,11	1,74	0,18
2,40	0,21	2,40	0,20	2,40	0,16	2,40	0,24
3,29	0,28	3,29	0,28	3,29	0,23	3,29	0,32
4,52	0,40	4,52	0,40	4,52	0,34	4,52	0,42
6,21	0,58	6,21	0,56	6,21	0,47	6,21	0,61
8,53	0,81	8,53	0,77	8,53	0,62	8,53	0,85
11,70	1,08	11,70	1,04	11,70	0,86	11,70	1,14
16,10	1,52	16,10	1,44	16,10	1,18	16,10	1,59
22,10	2,08	22,10	1,98	22,10	1,63	22,10	2,17
30,40	2,86	30,40	2,72	30,40	2,24	30,40	2,97
41,80	3,91	41,80	3,71	41,80	3,06	41,80	4,06
57,40	5,35	57,40	5,08	57,40	4,21	57,40	5,55
78,80	7,30	78,80	6,92	78,80	5,78	78,80	7,57
108,00	9,93	108,00	9,42	108,00	7,91	108,00	10,30
149,00	13,50	149,00	12,80	149,00	10,80	149,00	13,90
204,00	18,10	204,00	17,20	204,00	14,80	204,00	18,80
281,00	24,30	281,00	23,00	281,00	20,10	281,00	25,20
386,00	32,30	386,00	30,60	386,00	27,30	386,00	33,50
530,00	42,60	530,00	40,40	530,00	36,90	530,00	44,30
728,00	55,70	728,00	52,90	728,00	49,50	728,00	58,10
1000,00	72,10	1000,00	68,50	1000,00	65,90	1000,00	75,40

Shear Stress: Esfuerzo de corte

Shear Rate: Velocidad de deformación

**Anexo 8.** Valores promedios para los valores de esfuerzo de tensión (mN/m) de las películas homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración carvacrol %(v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	40,0±8,7 <sup>a,x</sup>	38,5±4,0 <sup>a,x</sup>
0,25	34,1±6,2 <sup>ab,x</sup>	16,7±3,3 <sup>b,y</sup>
0,5	30,9±6,7 <sup>bc,x</sup>	13,2±1,6 <sup>b,y</sup>
1,0	23,3±7,5 <sup>c,x</sup>	13,1±1,9 <sup>b,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 9.** Valores promedios para los valores de porcentaje de elongación de las películas homogenizadas por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	2,5±1,1 <sup>a,x</sup>	5,4±1,6 <sup>a,y</sup>
0,25	3,1±1,2 <sup>ab,x</sup>	6,9±1,6 <sup>a,y</sup>
0,5	3,3±1,3 <sup>ab,x</sup>	15,1±4,9 <sup>b,y</sup>
1	4,8±2,2 <sup>b,x</sup>	15,7±6,7 <sup>b,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 10.** Valores promedios para los valores de opacidad de las películas homogenizadas por rotor-estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	5,5±0,5 <sup>a,x</sup>	4,6±0,4 <sup>a,x</sup>
0,25	10,0±0,3 <sup>b,x</sup>	6,1±0,4 <sup>b,y</sup>
0,5	10,8±0,3 <sup>b,c,x</sup>	7,8±0,6 <sup>c,y</sup>
1,0	11,5±0,2 <sup>c,x</sup>	10,4±0,4 <sup>d,y</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 11.** Valores promedio de solubilidad en agua de las películas obtenidas por homogenización por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	40,91±6,73 <sup>a,x</sup>	44,72±2,80 <sup>a,x</sup>
0,25	19,51±1,04 <sup>b,x</sup>	22,93±3,18 <sup>b,x</sup>
0,5	27,15±1,77 <sup>c,x</sup>	31,83±3,36 <sup>c,x</sup>
1,0	28,66±1,64 <sup>c,x</sup>	29,50±1,66 <sup>bc,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 12.** Valores promedios de permeabilidad al vapor de agua (g/m s Pa) para las películas obtenidas por homogenización por rotor estator y altas presiones.

Concentración de carvacrol (%v/v)	Técnica de homogenización	
	Rotor estator	Altas presiones
0	2.86x10 <sup>-10</sup> ±1,7x10 <sup>-10a,x</sup>	2.64x10 <sup>-10</sup> ±2,46x10 <sup>-10a,x</sup>
0,25	2,59x10 <sup>-10</sup> ±1,4x10 <sup>-10a,x</sup>	2,14x10 <sup>-10</sup> ±8,7x10 <sup>-12a,x</sup>
0,5	2.42x10 <sup>-10</sup> ±2,9x10 <sup>-10a,x</sup>	2.11x10 <sup>-10</sup> ±2,3x10 <sup>-10a,x</sup>
1,0	2.54x10 <sup>-10</sup> ±2.2x10 <sup>-10a,x</sup>	2.54x10 <sup>-10</sup> ±1,4x10 <sup>-10a,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las concentraciones de carvacrol.

<sup>x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para los métodos de homogenización.

**Anexo 13.** Densidad superficial de sólidos de las muestras recubiertas por las diferentes técnicas.

Técnica de aplicación	DSS (g/m <sup>2</sup> )
Inmersión	3,96±0,42 <sup>a</sup>
Aspersión	2,90±0,26 <sup>b</sup>
Asp. Electrostática	3,43±0,18 <sup>c</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación.

**Anexo 14.** Resistencia a la transferencia al vapor de agua de los tomates recubiertos y no recubiertos por las diferentes técnicas.

Tratamiento	Resistencia a la transferencia al vapor de agua	
	Seg/cm	
Control	7,13 ± 0,46 <sup>a</sup>	
Inmersión	12,58 ± 0,90 <sup>b</sup>	
Aspersión	8,98 ± 1,41 <sup>c</sup>	
Asp. Electrostática	10,34 ± 0,35 <sup>bc</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación.

**Anexo 15.** Actividad respiratoria de los tomates cherry recubiertos y no recubiertos por las diferentes técnicas.

Tratamientos	O <sup>2</sup>		
	Día 1	Día 7	Día 14
Control	6,05±0,22 <sup>a,w</sup>	6,35±0,21 <sup>a,w</sup>	6,66±0,33 <sup>a,w</sup>
Inmersión	2,38±0,01 <sup>b,w</sup>	3,80±0,01 <sup>b<sup>c</sup>,x</sup>	4,63±0,28 <sup>b<sup>c</sup>,x</sup>
Aspersión	5,18±0,28 <sup>c,w</sup>	5,65±0,45 <sup>ac,w</sup>	6,29±0,33 <sup>ab,w</sup>
Asp. Electrostática	2,96±0,17 <sup>b,w</sup>	4,62±0,70 <sup>c,x</sup>	5,13±0,60 <sup>ab,x</sup>
Tratamientos	CO <sup>2</sup>		
	Día 1	Día 7	Día 14
Control	6,19±0,14 <sup>a,w</sup>	6,70±0,22 <sup>a,x</sup>	6,97±0,01 <sup>a,x</sup>
Inmersión	3,71±0,19 <sup>b,w</sup>	4,03±0,16 <sup>b<sup>w</sup>,x</sup>	4,51±0,17 <sup>bc,x</sup>
Aspersión	5,00±0,27 <sup>c,w</sup>	5,22±0,25 <sup>b,w</sup>	5,72±0,44 <sup>c,w</sup>
Asp. Electrostática	2,96±0,17 <sup>d,w</sup>	4,17±0,63 <sup>b<sup>w</sup>,x</sup>	4,77±0,23 <sup>b<sup>w</sup>,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza para las diferentes técnicas de aplicación, tanto para la concentración de O<sub>2</sub>, como para la concentración de CO<sub>2</sub>.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.

**Anexo 16.** Porcentaje pérdida de peso de las muestras recubiertas por las diferentes técnicas

Tratamiento	Porcentaje de pérdida de peso		
	1	7	14
Control	-	4,38 ± 0, 24 <sup>a,w</sup>	8,94 ± 0,83 <sup>a,x</sup>
Inmersión	-	3,46 ± 0,56 <sup>b,w</sup>	5,90 ± 0,26 <sup>b,x</sup>
Aspersión	-	3,87 ± 0,47 <sup>ab,w</sup>	7,28 ± 0,56 <sup>c,x</sup>
Asp. Electrostática	-	3,35 ± 0,40 <sup>b,w</sup>	6,33 ± 0,53 <sup>bc,x</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.



**Anexo 17.** Evolución de la luminosidad (L\*) en muestras de tomate cherry sometidos a diferentes tratamientos.

Tratamiento	L*		
	1	7	14
<b>Control</b>	38,83±0,55 <sup>ab,w</sup>	38,45±0,29 <sup>a,wx</sup>	37,99±0,59 <sup>a,x</sup>
<b>Inmersión</b>	38,12±0,68 <sup>bc,w</sup>	37,43±0,85 <sup>b,wx</sup>	37,04±0,74 <sup>a,x</sup>
<b>Aspersión</b>	38,00±0,41 <sup>c,w</sup>	37,87±0,68 <sup>ab,w</sup>	37,45±0,50 <sup>a,w</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	38,05±0,40 <sup>c,w</sup>	38,05±0,67 <sup>ab,w</sup>	37,89±0,79 <sup>a,w</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.

**Anexo 18.** Evolución de la coordenada colorimétrica b\* en muestras de tomate cherry recubiertos por diferentes técnicas de aplicación.

Tratamiento	Coordenada cromática b*		
	1	7	14
<b>Control</b>	24,36±1,57 <sup>a,w</sup>	23,80±1,32 <sup>a,w</sup>	23,83±1,43 <sup>a,w</sup>
<b>Inmersión</b>	21,89±1,02 <sup>b,w</sup>	22,85±1,59 <sup>ab,w</sup>	23,37±1,73 <sup>a,w</sup>
<b>Aspersión</b>	22,35±0,82 <sup>b,w</sup>	22,34±1,06 <sup>ab,w</sup>	22,61±1,15 <sup>a,w</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	21,68±1,37 <sup>b,x</sup>	21,37±1,45 <sup>b,x</sup>	22,53±1,72 <sup>a,wx</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.

**Anexo 19.** Evolución de la concentración de carotenoides totales, en tomate cherry recubierto por diferentes técnicas.

Tratamientos	Carotenoides totales (g/L)		
	1	7	14
<b>Control</b>	0,0000068±1,4236E-07 <sup>a,w</sup>	0,0000087±9,9000E-07 <sup>a,w</sup>	0,0000101±1,0391E-06 <sup>a,x</sup>
<b>Inmersión</b>	0,0000066±1,5084E-07 <sup>a,w</sup>	0,0000074±3,7853E-07 <sup>a,w</sup>	0,0000078±1,8524E-07 <sup>b,w</sup>
<b>Aspersión</b>	0,0000067±3,7712E-08 <sup>a,w</sup>	0,0000075±1,1313E-07 <sup>a,w</sup>	0,0000086±5,7781E-07 <sup>ab,x</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	0,0000062±2,2231E-07 <sup>a,wx</sup>	0,0000067±7,6385E07 <sup>a,w</sup>	0,0000077±5,7719E-07 <sup>b,wx</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.

**Anexo 20.** Evolución del parámetro firmeza en muestras de tomate cherry sometidos a diferentes tratamientos durante el tiempo.

Tratamientos	Firmeza (N)		
	Día 1	Día 7	Día 14
Control	7,47±0,32 <sup>a,w</sup>	6,23±0,49 <sup>a,wx</sup>	5,41±0,55 <sup>a,x</sup>
Inmersión	8,34±0,59 <sup>b,w</sup>	7,03±0,64 <sup>b,w</sup>	6,63±0,72 <sup>b,w</sup>
Aspersión	7,78±0,42 <sup>a,w</sup>	6,70±0,48 <sup>ac,w</sup>	5,76±0,17 <sup>c,wx</sup>
Asp. Electrostática	8,28±0,50 <sup>b,w</sup>	7,38±0,73 <sup>bc,wx</sup>	6,37±0,88 <sup>b,wx</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de aplicación.

<sup>w,x,y</sup> Letras diferentes en la misma fila, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para los diferentes tiempo de almacenamiento.

**Anexo 21.** Test utilizado para evaluar muestras de tomates sometidos a los tratamientos en estudio.

Por favor evalúe los atributos de las muestras que tiene ante usted, usando la escala que se indica a continuación:

- 7 Me gusta mucho
- 6 Me gusta bastante
- 5 Me gusta ligeramente
- 4 Ni me gusta ni me disgusta
- 3 Me disgusta ligeramente
- 2 Me disgusta bastante
- 1 Me disgusta mucho

Muestras	Apariencia	Color	Brillo	Olor	Sabor
294	—	—	—	—	—
738	—	—	—	—	—
501	—	—	—	—	—
685	—	—	—	—	—

**MUCHAS GRACIAS**

**COMENTARIOS:**

**Anexo 22.** Datos análisis sensorial de tomates cherry recubiertos por diferentes técnicas.

Tratamientos	Atributos				
	Apariencia	Color	Brillo	Olor	Sabor
<b>Control</b>	5,72±0,8 <sup>a</sup>	6,33±0,5 <sup>a</sup>	5,3±0,8 <sup>a</sup>	6,4±0,6 <sup>a</sup>	6,4±0,6 <sup>a</sup>
<b>Inmersión</b>	5,5±0,6 <sup>a</sup>	6,0±0,6 <sup>a</sup>	5,1±0,9 <sup>a</sup>	6,0±0,8 <sup>a</sup>	5,9±0,7 <sup>a</sup>
<b>Aspersión</b>	6,2±0,8 <sup>ab</sup>	6,2±0,4 <sup>a</sup>	5,6±0,8 <sup>a</sup>	5,5±0,7 <sup>a</sup>	6,2±0,6 <sup>a</sup>
<b>Asp. Electrostática</b>	6,7±0,4 <sup>b</sup>	6,9±0,3 <sup>b</sup>	6,5±0,7 <sup>b</sup>	5,9±1,3 <sup>a</sup>	6,1±0,7 <sup>a</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> Letras diferentes en la misma columna, indican diferencias estadísticamente significativas al 95% de confianza, para las diferentes técnicas de recubrimiento.