



# **UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**

**ESCUELA DE POSTGRADO**

## **DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO CON PROPÓLEO PARA AUMENTAR LA VIDA ÚTIL DE PALTAS CV. HASS**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de  
Magíster en Ciencias Agropecuarias

**DAKARY FRANCISCA DELGADILLO NARR**

Director de Tesis  
Álvaro Peña Neira

Co-Directora de Tesis  
Carolina Valenzuela Venegas

Profesores consejeros  
Víctor Escalona Contreras  
Cristina Úbeda Aguilera

SANTIAGO - CHILE  
2021

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

**DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO CON PROPÓLEO PARA AUMENTAR  
LA VIDA ÚTIL DE PALTAS CV. HASS**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de  
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Ciencias Agropecuarias

**DAKARY FRANCISCA DELGADILLO NARR**

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
<b>DIRECTOR DE TESIS</b>		
Álvaro Peña Neira Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0	7,0
<b>CO-DIRECTORA DE TESIS</b>		
Carolina Valenzuela Venegas Médico Veterinario, Dra	7,0	7,0
<b>PROFESORES CONSEJEROS</b>		
Víctor Escalona Contreras Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0	7,0
Cristina Úbeda Aguilera Licenciada en Farmacia, Dra.	7,0	7,0

Santiago, Chile  
2021

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Primero que todo, agradecer a mi familia por su apoyo incondicional, por su amor, cariño y contención. A mis padres por sobre todo, Danny Delgadillo y Karin Narr, por darme las herramientas para poder crecer tanto en lo personal como en lo profesional y apoyarme durante el largo camino de esta carrera, de este trabajo y en la vida misma.

A mis amigas de casi toda una vida, Camila Cartes, Marcela Andrade, Camila Rocha y Camila Contreras, quienes siempre están ahí para apoyarnos y contenernos. A mis grandes amig@s que hice durante este paso por la universidad, Paula Cleargett, María Ignacia Lambert, Carolina Carrasco, Sofía Cárdenas, Carlos Rojas, Francis Azorín y Sebastián Gallardo, nunca faltaron las buenas conversaciones, las risas, las cervezas o los vinitos después de clases. Gracias a aquellas amistades que ya no están pero fueron un pilar fundamental en mi vida.

A las amistades que hice en el último tiempo, Benner Giacomozzi, gracias por las eternas risas y el apoyo en este trabajo. A mi compañero, Danilo Arellano, por toda la ayuda y apoyo constante, por su amor, contención y guía cuando todo se veía cuesta arriba.

A la “Plataforma de Innovación en Envases y Embalajes Co-Inventa”, de los Programas Tecnológicos Estratégicos de **CORFO**. Proyecto 15: Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de extractos estandarizados de propóleo con actividad bactericida y antimicótica para frutas y hortalizas de hoja.

Al Departamento de Fomento de la Producción Animal, Departamento de Agroindustria y Enología y al Laboratorio de Ciencias Químicas y Farmacia, todos pertenecientes a la Universidad de Chile, por facilitar sus instalaciones y equipos para desarrollar este trabajo. Adicionalmente, agradecer a los demás laboratorios y departamentos, no pertenecientes a la U. de Chile, los cuales también facilitaron sus instalaciones y equipos para poder llevar a cabo los análisis de este trabajo.

Al profesor Víctor Escalona del Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Universidad de Chile, por guiarme en la parte experimental de postcosecha, facilitar las instalaciones y equipos para llevar a cabo esta investigación.

Al profesor Thomas Fichet del Departamento de Producción Agrícola de la Universidad de Chile, por facilitar en primera instancia el material vegetal y así poder realizar las pruebas preliminares.

Al profesor José Luis Henríquez del Departamento de Sanidad Vegetal de la Universidad de Chile, por facilitar el material vegetal, su buena disposición y colaboración en la parte experimental.

Por último, a mis profesores guías Álvaro Peña y Carolina Valenzuela, por el apoyo tanto en lo personal como académico, por sus conocimientos, paciencia y enseñanzas a lo largo de este trabajo, muchas gracias por todo lo adquirido en el camino.

*“El progreso no consiste en aniquilar hoy el ayer,  
sino al revés. En conservar aquella esencia del  
ayer que tuvo la virtud de crear ese hoy mejor”*  
(José Ortega y Gasset)

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>3</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>3</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>3</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>4</b>
UBICACIÓN DEL ESTUDIO.....	4
MATERIAL BIOLÓGICO.....	4
TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	4
Formulación del recubrimiento.....	5
Aplicación del recubrimiento en Paltas .....	5
MANEJO DEL EXPERIMENTO .....	6
VARIABLES A MEDIR.....	7
Caracterización de las películas (Ensayo 1) .....	7
Variables a medir en frutos de palta del cv. Hass durante almacenaje (Ensayo 2) .....	8
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	10
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>11</b>
CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS .....	11
Recubrimiento seleccionado. ....	15
RECUBRIMIENTO EN PALTAS.....	15
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>23</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>36</b>
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	<b>37</b>
<b>APÉNDICE</b> .....	<b>47</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b>	Formulación de los recubrimientos de Q y A: cantidad de componentes.....	5
<b>Cuadro 2.</b>	Resumen de los tratamientos realizados.....	6
<b>Cuadro 3.</b>	Escala relativa del daño externo presente en Paltas cv. Hass....	9
<b>Cuadro 4.</b>	Parámetros de color para las distintas películas de Alginato (A) y Quitosano (Q).....	11
<b>Cuadro 5.</b>	Parámetros del color de pulpa en paltas control (C) y recubiertas con quitosano (Q), quitosano + propóleo (Q+P) y Cera Shel-life® (SL) durante el almacenamiento a 30d a 5°C y 30d a 5°C + 4d a 20°C.....	17

## ÍNDICE DE FÍGRUAS

<b>Figura 1.</b>	Escala subjetiva de 5 clasificaciones para el daño externo (1: sin ocurrencia; 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: severo).....	9
<b>Figura 2.</b>	Escala subjetiva de 5 clasificaciones para el daño interno (1: sin pardeamiento, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: pardeamiento intenso).....	10
<b>Figura 3.</b>	Películas de alginato (A-E) y quitosano (F-J) formuladas con 10 mL (B-G), 20 mL (C-H), 30 mL (D-I), 40 mL de propóleo (E-J) y películas control (A-B).....	11
<b>Figura 4.</b>	Espesor de las distintas películas de Q y A.....	12
<b>Figura 5.</b>	Elongación a la rotura (a-b) y esfuerzo de tracción a ruptura (c-d) de las películas de Q y A con distintas concentraciones de propóleo.....	13
<b>Figura 6.</b>	Micrografías SEM de la superficie de las películas de Alginato (A) y Quitosano (Q) utilizado en la formulación de las películas.....	14
<b>Figura 7.</b>	Micrografías SEM de la superficie del propóleo líquido utilizado en la formulación de las películas.....	14
<b>Figura 8.</b>	Ángulo de contacto de las películas QC, AC, Q10 y A10....	15
<b>Figura 9.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre los parámetros del color $L^*(A)$ , $h^\circ$ (B), $C^*$ (C) de la piel en paltas cv. Hass almacenadas a 5°C durante 30 días y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días.	16
<b>Figura 10.</b>	Apariencia visual de la piel y pulpa de paltas cv. Hass almacenadas durante 30 días a 5°C. A: Control; B: Quitosano; C: Quitosano + propóleo; D: Cera Shel-life ®...	17
<b>Figura 11.</b>	Apariencia visual de la piel y pulpa de paltas cv. Hass almacenadas durante 30 días a 20°C + 4 días a 20°C. A: Control; B: Quitosano; C: Quitosano + propóleo; D: Cera Shel-life ®.....	18
<b>Figura 12.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la pérdida de peso en paltas cv. Hass almacenados a 5°C durante 30 días y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días.....	18
<b>Figura 13.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la Firmeza en paltas cv. Hass durante la caracterización inicial, 30 días a 5°C de almacenamiento y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días.....	19

<b>Figura 14.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de daño externo en paltas cv. Hass después de un período simulado de transporte (30 días a 5°C). Determinado por examen visual utilizando una escala hedónica de 1 a 5 (1: sin ocurrencia, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: severo).....	20
<b>Figura 15.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de daño interno en paltas cv. Hass durante 30 días a 5°C (A) y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días (B). Determinado por examen visual utilizando una escala hedónica de 1 a 5 (1: sin pardeamiento, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: pardeamiento intenso).....	20
<b>Figura 16.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de presencia de micelio en paltas cv. Hass durante 30 días a 5°C y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días. Determinado por examen visual.....	21
<b>Figura 17.</b>	Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la Emisión de CO <sub>2</sub> de paltas cv. Hass durante 23 días a 10°C.....	22

## RESUMEN

Las paltas son frutas climatéricas con alta tasa metabólica y corto período de vida útil. Su susceptibilidad al deterioro por hongos fitopatógenos y la gran distancia a mercados de destino dificulta el transporte de una fruta altamente perecedera y de condiciones postcosecha limitantes. Los recubrimientos poliméricos pueden proporcionar una solución a este problema. Por lo antes expuesto, la presente investigación tuvo como propósito estudiar el desarrollo y evaluación de recubrimientos poliméricos a base de propóleo, elaboradas a partir de alginato y quitosano, para aumentar la vida útil de paltas durante la postcosecha.

En este trabajo, se elaboraron soluciones de quitosano (Q) y alginato (A) y se probaron diferentes concentraciones de propóleo (9,1%, 16,7%, 23,1% y 28,6% v/v) para los recubrimientos, donde se obtuvo películas de quitosano (Q), quitosano + propóleo (Q+P); alginato (A) y alginato + propóleo (A+P). De acuerdo a las variables evaluadas el recubrimiento Q+P (9,1%), se eligió por sus óptimas condiciones para la postcosecha y se aplicó en paltas para evaluar su comportamiento en el almacenamiento.

Se evaluó en dos momentos del almacenamiento, el primero simulando el transporte de 30 días a 5°C y luego 4 días a 20°C simulando periodo de comercialización. Los tratamientos correspondieron a la fruta control (C), quitosano (Q), quitosano + propóleo (Q+P) y adicionalmente se probó una cera comercial 'Shel-life'® (SL). Las frutas recubiertas con cera (SL) obtuvieron los valores más bajos en la pérdida de peso (4,9%), la mayor firmeza (12,3 kg-f) y la menor tasa de emisión de CO<sub>2</sub> a la salida de los almacenamientos, en comparación con los demás tratamientos. A su vez, el recubrimiento de quitosano (Q) fue el que presentó menor incidencia de daño externo (25%) e interno (41,7%) y la menor presencia de micelio (50%).

Las paltas recubiertas con Q y SL tuvieron una vida útil más prolongada que la fruta sin recubrir en relación a parámetros fisiológicos, en cuanto a parámetro de calidad externa la fruta recubierta con Q presentó mejores resultados.

**Palabras claves:** película de alginato, deterioro, envase activo, película de quitosano, postcosecha.

## ABSTRACT

Avocados are climacteric fruits with a high metabolic rate and a short shelf life. Its susceptibility to deterioration by phytopathogenic fungi and the great distance to destination markets makes it difficult to transport highly perishable fruit and limit postharvest conditions. Polymeric coatings can provide a solution to this problem. Due to the aforementioned, the purpose of this research was to study the development and evaluation of polymeric coatings based on propolis, made from alginate and chitosan, to increase the shelf life of avocados during postharvest

In this work, chitosan (Q) and alginate (A) solutions were elaborated and different concentrations of propolis (9,1%, 16,7%, 23,1% y 28,6% v/v) were tested for the coatings, where chitosan (Q), chitosan + propolis (Q+P) films were obtained; alginate (A) and alginate + propolis (A+P). According to the variables evaluated, the Q+P coating (9,1%) was chosen for its optimal postharvest conditions and was applied to avocados to see its behavior in storage.

It was evaluated in two moments of storage, the first simulating the transport of 30 days at 5°C and then 4 days at 20°C simulating the commercialization period. The treatments corresponded to the control fruit (C), chitosan (Q), chitosan + propolis (Q+P) and additionally a commercial 'shel-life'® wax (SL) was tested. The fruit coated with wax (SL) obtained the lowest values in weight loss (4,9%), the highest firmness (12,3 kg-f) and the lowest CO<sub>2</sub> emission rate when leaving the storage, in comparison with the other treatments. In turn, the chitosan coating (Q) was the one that presented the lowest incidence of external (25%) and internal (41,7%) damage and the lowest presence of mycelium (50%).

The avocados coated with Q and SL had a longer shelf life than the uncoated fruit in relation to physiological parameters, in terms of external quality parameter, the fruit coated with Q presented better results.

**Keywords:** Alginate film, deterioration, active packaging, chitosan film, postharvest.

## INTRODUCCIÓN

La palta (*Persea americana* Mill.) cv. Hass es una de las frutas subtropicales-tropicales más popular y se consume en todo el mundo por su alto valor nutricional, debido a las altas concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados (Yahia y Woolf, 2011), también por su sabor, versatilidad de aplicaciones y facilidad de preparación (Bartoli y Angel, 2008; Aguirre-Joya *et al.*, 2017).

Si bien la palta se caracteriza por ser beneficiosa para la salud, se ha reportado que es extremadamente perecedera, con una tasa metabólica muy alta, que resulta en una corta vida postcosecha de 2-4 semanas (Tefay y Magwaza, 2017) almacenadas en condiciones óptimas (4-6°C y HR >85%) (Woolf *et al.*, 2020), y de 5 a 7 días a temperatura ambiente (FAO, 2003; Aguirre-Joya *et al.*, 2017). Por otro lado, su almacenamiento se ve limitado por las temperaturas, debido que por debajo de 4°C no se pueden utilizar con eficacia para prolongar su vida útil, ya que pueden provocar lesiones por frío externo (daños en la piel), mientras que temperaturas más altas o tiempos de almacenamiento prolongados provocan lesiones internas (decoloración de la pulpa) y ablandamiento prematuro (Woolf *et al.*, 2020).

El corto período de vida útil de la palta se debe principalmente a dos factores; primero, la tasa de respiración acelerada de esta fruta climatérica y segundo, al deterioro de hongos fitopatógenos (Aguirre-Joya *et al.*, 2017). El principal organismo que causa la pudrición de la fruta en todo el mundo es el complejo de especies *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, que infecta la fruta durante el desarrollo en el campo y permanece inactiva hasta que la fruta se cosecha y comienza a madurar (Woolf *et al.*, 2020). Estos son factores que preocupan en la postcosecha, debido a que afecta directamente a la calidad del fruto, la comerciabilidad y la vida útil de las paltas durante la comercialización (Bill *et al.*, 2014).

Una alternativa para aumentar la vida útil de paltas es la aplicación de un recubrimiento. Estos actúan como una barrera semipermeable efectiva a los gases respiratorios y al vapor de agua entre la fruta y la atmósfera circundante, y pueden crear una atmósfera modificada, lo que retrasa la producción de senescencia. Además, puede usarse potencialmente para extender la vida útil y mantener la calidad de los alimentos al evitar cambios en el aroma, el sabor, la textura y la apariencia (Tharanathan y Kittur, 2003; Gol *et al.*, 2013). Se han utilizado diferentes materiales biológicos para elaborar recubrimientos y películas, principalmente biopolímeros, como polisacáridos, también proteínas, aceites y/o sus mezclas.

El quitosano (Q) derivado de la desacetilación de la quitina, es uno de los biopolímeros más utilizados (Dutta *et al.*, 2009; Torlak y Sert, 2013) debido a su buena propiedad formadora de películas y su amplia actividad antimicrobiana y antifúngica (Tharanathan y Kittur, 2003; Torlak y Sert, 2013). Las películas de quitosano generalmente necesitan de la inclusión de algún plastificante o emulsionante para su correcta obtención, caracterizándose por presentar buenas propiedades mecánicas y una permeabilidad selectiva a los gases (CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>), pero a su vez, es altamente permeable al vapor de agua. Lo anterior es un inconveniente importante, ya que la propiedad barrera al vapor de agua evita procesos de deshidratación durante el

almacenamiento de la fruta (Perdones *et al.*, 2012). Para reducir su alta permeabilidad, el quitosano se combina con lípidos como aceites, ceras o grasas (Campos *et al.*, 2011; Elsabee y Abdou, 2013; Ancos *et al.*, 2015).

El alginato (A), derivado de algas marinas pardas, es otro polisacárido utilizado para el desarrollo de películas y recubrimientos. Es biodegradable, inocuo, y mejor tolerado organolépticamente que el quitosano, presentando también excelentes propiedades mecánicas (Mancini y McHugh, 2000; Rhim, 2004; Fan *et al.*, 2009). Su aplicación en la industria alimentaria está generando grandes avances, debido a que cuenta con propiedades, tales como ser una barrera contra la pérdida de humedad, soportar estrés mecánico y producir cambios en la atmósfera de los productos recubiertos (Fontes *et al.*, 2007; Mendez *et al.*, 2014).

Por otro lado, los recubrimientos también pueden complementarse con la adición de compuestos bioactivos para conceder capacidad antimicrobiana o antioxidante, mejorando las propiedades fisicoquímicas de los alimentos recubiertos y prolongar su vida útil. El propóleo tiene un alto potencial para ser utilizado como un agente activo. Esta sustancia resinosa natural recolectada por las abejas de diversas fuentes vegetales, por lo general, contiene resinas (50%), compuestos flavonoides y ácidos fenólicos, ceras (hasta 30%), aceites esenciales (10%), polen (5%) y diversos compuestos orgánicos (5%) (Farre *et al.*, 2004; Juliano *et al.*, 2007; Cavaco *et al.*, 2008; Pastor *et al.*, 2010). De acuerdo a Torlak y Sert, (2013) la actividad antibacteriana y antioxidante del propóleo, es atribuida principalmente a los ácidos fenólicos y flavonoides, debido a que estos compuestos tienen diversos mecanismos, tales como, la alteración de la permeabilidad de la membrana y la inhibición de la síntesis de proteínas de los microorganismos. Además, cabe destacar que la mayoría de los propóleos que se comercializan están diluidos en algún plastificante como propilenglicol, lo que se traduce en una ventaja tecnológica para la elaboración de películas. Teniendo en cuenta que la función principal de los plastificantes es reducir la interacción intermolecular de las cadenas de polímeros, lo que modifica las propiedades mecánicas y genera películas más flexibles. Es por esto, que el uso de propóleo también juega un papel importante en la estructura y propiedades de la película polimérica formada (Campos *et al.*, 2011).

Se ha publicado una investigación limitada sobre la incorporación de propóleo para mejorar las propiedades de las películas y recubrimientos. Sin embargo, estudios realizados por Pastor *et al.* (2010) demostraron que la formación de películas con extracto etanólico de propóleo (EEP), preparado al 10% p/v en etanol de 96% v/v a 20 °C, presentaron una notable actividad antifúngica contra algunos hongos ensayados como *Penicillium* sp. Por otro lado, Torlak y Sert (2013) probaron que la aplicación de EEP al 10% p/v en conjunto con el quitosano aumentaban la actividad antibacteriana contra seis patógenos estudiados que se transmiten por el consumo de alimentos, por lo que el uso de extractos de propóleo se considera una buena alternativa para prevenir el deterioro microbiológico de frutos e inhibir el desarrollo de patógenos. Por otra parte, Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) probaron que la incorporación de extractos de propóleo en las películas de quitosano mejoró las propiedades mecánicas y de barrera, así como las actividades antimicrobianas y antioxidantes.

A pesar de las investigaciones realizadas, no se ha documentado completamente el desarrollo y aplicación de un recubrimiento polimérico basado en un compuesto activo como el propóleo. Es por esto, que se ha propuesto el presente trabajo de investigación.

## **HIPÓTESIS**

La aplicación de un recubrimiento polimérico a base de propóleo permite extender en un 15% la vida útil de paltas del cv. Hass en condiciones de refrigeración, respecto a frutos sin recubrimiento.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la efectividad de recubrimientos poliméricos (quitosano/alginate) más propóleo optimizados para aumentar la vida útil de paltas del cv. Hass durante su almacenamiento refrigerado comparado con frutos sin recubrimientos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Elaborar recubrimientos a base de alginato y quitosano con diferentes concentraciones de propóleo.

Caracterizar los recubrimientos obtenidos y seleccionar una formulación óptima entre ambos polímeros.

Aplicar el tratamiento óptimo seleccionado y determinar su efecto en extender la vida útil reduciendo las pérdidas de peso, daño por frío y pudriciones en postcosecha de paltas en relación a frutos sin tratamientos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Ubicación del estudio**

Para el desarrollo de este estudio, la formulación de los recubrimientos se realizó en las dependencias de la Facultad de Ciencias Agronómicas (33°34'11"S 70°37'50"O), y de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias (33°34'31"S 70°37'52"O) de la Universidad de Chile, comuna de La Pintana, Región Metropolitana, Chile. Los análisis y mediciones de los recubrimientos se realizaron en los Laboratorios del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Laboratorio de Ciencias Químicas y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Laboratorio del Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas y Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agronómicas. Todas estas dependencias pertenecientes a la Universidad de Chile. Además, se realizó un análisis en el Laboratorio de Microscopía electrónica de barrido del Campus San Joaquín de la Pontificia Universidad Católica de Chile y en el Laboratorio de Materiales de la Facultad de Ciencias Naturales, Matemática y del Medio Ambiente de la Universidad Tecnológica Metropolitana (UTEM).

### **Material biológico**

Se utilizó propóleo (Beepolis®) en presentación líquida, el cual fue suministrado por Laboratorio Rotterdam Ltda. San Javier, Región del Maule, Chile. El quitosano se obtuvo de las cáscaras de cangrejo con un grado de desacetilación superior a 75% que fue adquirido en Sigma-Aldrich (C3646), EE.UU. Se solubilizó en ácido cítrico monohidratado (Merck-100244, Germany) y agua destilada. El alginato de sodio se adquirió en Sigma-Aldrich (W201502), EE. UU. La cera comercial Shel-life "avocado"® fue suministrada por la empresa Poly-Natural (Región Metropolitana, Chile), correspondiendo de acuerdo a la información del proveedor a una emulsión 100% natural fabricada con extractos naturales, lípidos y polímeros vegetales que forma una cobertura sobre la fruta. Las paltas cv. Hass se obtuvieron de un productor de la zona costera de Santo Domingo, provincia de San Antonio, Región de Valparaíso, Chile.

### **Tratamientos y diseño experimental**

El estudio se dividió en dos ensayos independientes entre sí. El primero correspondió a las formulaciones de los recubrimientos y el segundo fue a la aplicación de este recubrimiento en la fruta y su evaluación en postcosecha.

## 1. Formulación del recubrimiento

El diseño de experimento para la formulación de los recubrimientos, fue completamente aleatorizado (DCA) con 10 tratamientos (5 soluciones con quitosano y 5 con alginato), estos tratamientos correspondieron a las soluciones formadoras de las películas con propóleo y al tratamiento control (Cuadro 1). Se realizaron 10 repeticiones por cada tratamiento. Por último, la unidad experimental correspondió a la placa Petri.

**Cuadro 1.** Formulación de los recubrimientos de Q y A: cantidad de componentes.

Tratamientos	Dilución	Quitosano	Alginato	Propóleo
QC	100 mL	0,9% p/v	-	-
Q10	100 mL	0,9% p/v	-	10 mL
Q20	100 mL	0,9% p/v	-	20 mL
Q30	100 mL	0,9% p/v	-	30 mL
Q40	100 mL	0,9% p/v	-	40 mL
AC	100 mL	-	2% p/v	-
A10	100 mL	-	2% p/v	10 mL
A20	100 mL	-	2% p/v	20 mL
A30	100 mL	-	2% p/v	30 mL
A40	100 mL	-	2% p/v	40 mL

## 2. Aplicación del recubrimiento en Paltas

Este ensayo se llevó a cabo una vez seleccionado el recubrimiento más óptimo según las variables que se evaluaron en el primer ensayo.

El diseño de experimento fue completamente al azar con estructura factorial de 4 niveles correspondiente a los 4 tratamientos (DCA-factorial). Se usaron 120 paltas, homogéneas entre sí en tamaño y forma, con piel de color verde y todas sacadas del mismo huerto. Fueron asignadas aleatoriamente a 4 tratamientos (Cuadro 2). El primero sin recubrimiento (control), el segundo grupo con la solución base (alginato/quitosano), el tercer grupo con el polímero más propóleo, que correspondió al óptimo previamente seleccionado por propiedades fisicoquímicas, y de forma adicional, se evaluó una formulación comercial específica para paltas, correspondiendo a una cera (Shel-life® “avocado”). Esta con el fin de comparar mejor cómo se comportan las formulaciones.

Los frutos de paltas fueron analizados en tres momentos. El primero consistió en una caracterización inicial, previa a la aplicación de los tratamientos, considerando un total de 12 frutos. Posteriormente se realizó un análisis después de un periodo simulado de transporte, el cual fue de 30 días a 5°C. Por último, luego de la simulación de transporte, se realizó una simulación de comercialización dejando los mismos frutos de paltas por 4 días a 20°C, siendo este el momento final de evaluación. Al término del primer periodo de 30 días a 5°C se tuvieron 24 frutos por tratamiento, considerando 3 repeticiones de 8 frutos, de estos 24 frutos se analizaron 12, dejando los 12 restantes para ser analizados posterior a los 4 días a 20°C.

En cada momento de análisis había variables cuyo muestreo y medición no eran destructivas, por lo cual se consideró utilizar la misma unidad experimental para medir dos variables de interés. La unidad experimental correspondió a un fruto de palta.

**Cuadro 2.** Resumen de los tratamientos realizados.

<b>Tratamientos</b>	<b>Descripción</b>	<b>Repetición</b>	<b>Frutos por repetición</b>
<b>T0</b>	Control	3	8
<b>T1</b>	Polímero	3	8
<b>T2</b>	Polímero + Propóleo	3	8
<b>T3</b>	Cera Shel-life ®	3	8

### **Manejo del experimento**

En el primer ensayo, se realizó la formulación de las películas a partir de quitosano y alginato con diferentes concentraciones de propóleo. Primero, se preparó una solución de ácido cítrico al 0,1 M, agregando 1,91% p/v en agua destilada, la cual fue mezclada mediante un homogeneizador magnético (REMI 2ML, India) durante 10 minutos, a temperatura ambiente. Luego a esta solución se le agregó 0,9% p/v de quitosano, la cual fue mezclada mediante un homogeneizador de paleta (Dragon Lab OS20-S, China) durante 24 horas, a temperatura ambiente. Posteriormente, se preparó una solución de alginato (A) al 2% p/v diluido en agua destilada, la cual se homogenizó mediante el mismo agitador de paleta durante 20 minutos aproximadamente, a temperatura ambiente. Obteniendo finalmente 1 L de quitosano y 1 L de alginato.

Luego de esto, se generaron cinco soluciones para alginato y para quitosano. Cada solución fue de 200 mL y cuatro de éstas estuvieron formuladas con diferentes concentraciones de propóleo, 9,1%, 16,7%, 23,1% y 28,6% v/v respectivamente, el propóleo fue aplicado mediante una jeringa y homogenizado de manera manual, todas las mezclas se sometieron a baño ultrasónico (Fisher Scientific FS30H, Alemania) durante 30 min para eliminar las burbujas presentes. La quinta solución fue sin propóleo, la cual correspondió al quitosano control y alginato control.

De cada una de estas cinco soluciones preparadas de alginato y quitosano, se tomaron 20 mL con una jeringa y se depositaron en una placa Petri de manera homogénea, utilizando el método de *casting* (Valenzuela *et al.*, 2013) fueron secadas en una estufa a 50°C durante 12 horas, posteriormente fueron colocadas en un papel BGS de almacenamiento. Se usaron diez placas Petri por cada una de las cinco soluciones, así completar los 200 mL, se obtuvieron diez películas por cada concentración, incluido el control. Finalmente, una vez obtenidas las películas, se llevaron a cabo diferentes mediciones y análisis para cada concentración, en donde se seleccionó aquella película con las mejores propiedades para la postcosecha.

Dado los resultados de las variables que se midieron, se escogió el recubrimiento más óptimo y se volvió a realizar la preparación de la solución, donde se obtuvo la solución con propóleo y, una solución del polímero para su aplicación en las paltas.

Los frutos de palta cv. Hass se cosecharon el día 4 de Febrero luego de precipitaciones en un huerto comercial ubicado en Santo Domingo, Región de Valparaíso y fueron recepcionadas el mismo día en el laboratorio del Centro de Estudios Postcosecha (CEPOC) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. A la llegada fueron almacenadas a 5°C y se montó el ensayo el día 13 de febrero.

En primer lugar, se realizó la distribución de la fruta para la aplicación de los recubrimientos y para la caracterización inicial, considerando que se cosechó fruta con y sin la presencia del pedúnculo. En este sentido, se realizó la caracterización de 12 frutos a los cuales se les midió el peso, color, firmeza y materia seca.

La fruta utilizada para la aplicación del recubrimiento fue seleccionada por uniformidad de tamaño, color, firmeza y que no presentaran ningún deterioro. De esta manera, se utilizaron paltas de un peso aproximado por fruto de  $203 \pm 11$  g, una firmeza de pulpa superior a 13 kg-f y un contenido de materia seca (MS) promedio de 24,8% (Apéndice 1 y 2), el cual correspondió a la MS mínima para la cosecha en paltas cv. Hass (Woolf *et al.*, 2020).

Previo a la aplicación del recubrimiento, la fruta fue desinfectada con una solución de hipoclorito de sodio (0,2 g/L) durante 5 min y se secaron a temperatura ambiente (Saucedo-Pompa *et al.*, 2009). Posteriormente, la formulación líquida fue aplicada mediante inmersión del fruto durante 1 minuto a temperatura ambiente, drenándose el exceso de la solución formadora de película. Luego se secaron las paltas recubiertas mediante el uso de ventiladores (Apéndice 3).

Por último, una vez ya secas las paltas, se almacenaron durante 30 días a 5°C en una bandeja. A la salida del frío, 12 frutos por tratamiento fueron almacenados a 20°C durante 4 días (periodo simulado de comercialización), y los otros 48 frutos se les midió las diferentes variables de interés correspondientes al almacenamiento simulado de transporte.

## Variables medidas

### Caracterización de las películas (Ensayo 1)

**Color.** El color de las películas se determinó mediante un colorímetro compacto triestímulo (Minolta Chroma meter, CM – 2500d, Estados Unidos). Las lecturas se obtuvieron en la escala CIELAB:  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , a partir de estas dos últimas se obtuvieron los parámetros de color: tono (Hue) y croma ( $C^*$ ). Las mediciones se tomaron en las diez películas por formulación y se midieron cuatro lecturas en diferentes posiciones equidistantes en cada película.

**Espesor.** Se determinó el grosor (mm) de las muestras de cada formulación de las películas, en cuatro puntos diferentes y equidistantes en cada película usando un micrómetro digital (Mitutoyo 293340, Japón).

**Propiedades mecánicas.** Para cada tratamiento se midieron las propiedades mecánicas de las películas, calculando esfuerzo de la tracción a la ruptura (ETR) y el porcentaje de elongación en la rotura (% E). La metodología y la cuantificación de estos parámetros se basó en el método Estándar Oficial chileno (NCh1151, 1999) y se realizaron de acuerdo con Valenzuela *et al.* (2013).

**Microestructura.** La caracterización de la microestructura superficial de los recubrimientos se realizó por microscopía electrónica de barrido, en un microscopio electrónico de barrido LEO que opera a 25 kV (SEM, LEO 1420 VP, Cambridge, Reino Unido). La forma en que se montaron las muestras se realizó de acuerdo con Valenzuela *et al.* (2015).

**Ángulo de contacto (AC).** Las propiedades de la superficie de las películas se evaluaron mediante el ángulo de contacto, utilizando el método de gota sésil, depositando una gota de solvente (agua ultrapura, resistividad 15,0 M $\Omega$ -cm) sobre la superficie de la película. Se midió el AC a  $20 \pm 0,1^\circ\text{C}$  utilizando un goniómetro (Ramé-Hart Inc., modelo 250-F4, Nueva Jersey, EE.UU.).

Las películas se cortaron en rectángulos (7 cm de largo y 1 cm de ancho) y se pegaron con cinta en la plataforma de nivelación del goniómetro. Se depositaron manualmente gotas de agua ultrapura sobre la superficie de la película utilizando una jeringa de precisión (Ramé-Hart Inc., NJ, EE.UU.). Todos los valores presentados en este análisis se midieron a partir de gotas (volumen entre 1,0 – 1,5 mL), dispensadas manteniendo la jeringa en posición perpendicular a la superficie de la película. Para evitar la adsorción de líquido por la película, la medición de AC se realizó inmediatamente después de la colocación de la gota en la superficie. El software del equipo (DROPimage Advanced) midió automáticamente al menos 20 AC derecha e izquierda. Este análisis se realizó solo para las películas AC, QC, A10 y Q10.

## **Variables medidas en frutos de palta del cv. Hass durante almacenaje (Ensayo 2)**

**Color de la piel y pulpa.** Se midió el color de 12 frutos por cada tratamiento en cada momento de evaluación (30d a  $5^\circ\text{C}$  y 30d a  $5^\circ\text{C}$  + 4d a  $20^\circ\text{C}$ ), incluyendo la caracterización inicial, mediante un colorímetro compacto triestímulo (Minolta Chroma meter, CM – 2500d, Estados Unidos). Las mediciones del color de la piel se realizaron en caras opuestas de la zona ecuatorial del fruto. Por otro lado, el color de la pulpa se midió en dos partes, la fruta se cortó en dos mitades y se midió en dos puntos en cada mitad del fruto. Se expresó en los parámetros de luminosidad ( $L$ ), croma ( $C^*$ ) y tono o hue ( $^\circ$ ).

**Pérdida de peso.** Se midió la pérdida de peso utilizando una balanza electrónica (Ohaus, SC 6010, Estados Unidos), realizando el seguimiento del peso fresco de 12 frutos por tratamiento, observando las diferencias entre el peso inicial de cada tratamiento y el que se obtuvo a la salida de cada período de almacenamiento. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso.

**Firmeza.** Se determinó con un Penetrómetro manual marca Facchini (Modelo FT 327, Italia), donde se midió en 12 frutos por tratamiento en dos puntos de la fruta para cada periodo de almacenamiento, incluyendo la caracterización inicial. La medición se realizó sin piel en los lados opuestos de la zona ecuatorial del fruto con un cilindro de penetración de 7,9 mm. La firmeza fue determinada como la penetración máxima de fuerza (kg-f) en la fruta. Considerando, mayor madurez igual a menos firmeza y menor resistencia (Aguilar-Méndez *et al.*, 2008).

**Daño externo.** Se utilizó para evaluar el deterioro de la fruta de forma visual, definiendo daño externo como el pardeamiento o ennegrecimiento de la piel expresado en lenticelas o lenticelosis, o como manchas oscuras irregulares en la piel que pueden ser áreas sólidas o pequeñas áreas (Woolf *et al.*, 2005). Se observó el daño en las 12 paltas por tratamiento y se inspeccionó a la salida del frío (30d a 5°C). Se utilizó una escala hedónica de 1 a 5 (Cuadro 3) y se realizó una escala visual del daño externo (Figura 1). Los resultados se expresaron en porcentaje.

**Cuadro 3.** Escala relativa del daño externo presente en Paltas cv. Hass.

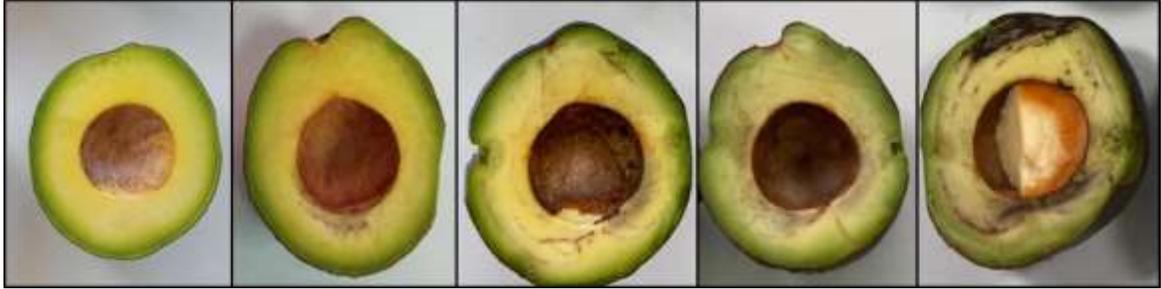
Escala	Daño externo
1	Sin ocurrencia
2	Leve
3	Moderado
4	Moderadamente severo
5	Severo

Fuente: García-Rojas *et al.*, 2012.



**Figura 1.** Escala subjetiva de 5 clasificaciones para el daño externo (1: sin ocurrencia; 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: severo). Fuente: elaboración propia.

**Daño interno.** Se determinó cortando por la mitad las paltas y se evaluó considerando el pardeamiento o decoloración de la pulpa y/o el ennegrecimiento de las hebras vasculares. Se realizó un examen visual (Figura 2) con una escala hedónica de 1 a 5, donde 1: sin pardeamiento, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: pardeamiento intenso (García-Rojas *et al.*, 2012). Las evaluaciones se realizaron para ambos periodos de almacenamiento (30d a 5°C y 30d a 5°C + 4d a 20°C). Los frutos utilizados fueron los mismos evaluados para daño externo.



**Figura 2.** Escala subjetiva de 5 clasificaciones para el daño interno (1: sin pardeamiento, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: pardeamiento intenso). Fuente: elaboración propia.

**Presencia de micelio.** Se observó en los 12 frutos por tratamiento si existía la presencia o ausencia de micelio, se realizó por inspección visual. Se inspeccionó en ambos periodos de almacenamiento (30d a 5°C y 30d a 5°C + 4d a 20°C). Los resultados se expresaron en porcentaje de fruta con presencia de micelio.

**Tasa respiratoria.** Se utilizaron 3 paltas por tratamiento, cada fruta se selló en un frasco de 1L y se dejaron en una cámara de frío a 10°C desde el montaje del ensayo hasta estado de madurez. Se realizaron 7 mediciones a lo largo del periodo analizado. Cada día de estudio los frascos se sellaron, se tomaron muestras del espacio de cabeza mediante el uso de un analizador de gas portátil (Map-pak combi, AGC Instruments, Irlanda) y luego de 1 hora sellados se volvió a realizar la extracción de muestra (aire). Se determinó la concentración y los resultados se expresaron como  $\text{mL kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ .

### Análisis estadístico

Infostat se utilizó para todos los análisis estadísticos. Como estadígrafos se utilizaron promedio y desviación estándar para realizar el análisis de datos. Para el análisis de los datos se usó se emplearon modelos lineales mixtos (MLM) y una prueba de ANOVA. En caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó prueba de comparaciones múltiples de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Caracterización de las películas

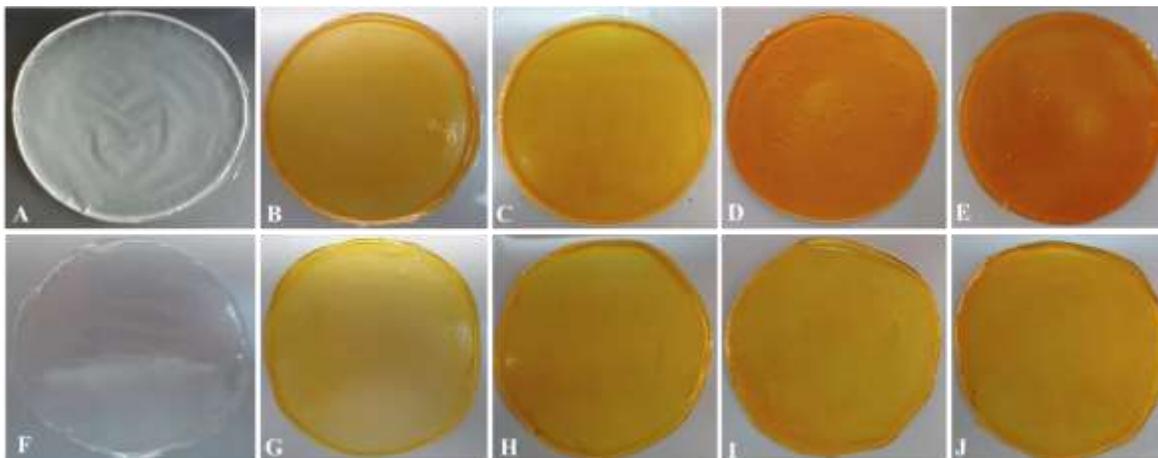
#### 1. Color

En el Cuadro 4, se muestran los parámetros de color de las películas y en la Figura 3, se presenta el aspecto y coloración de éstas. Se observó que las películas control con ambos polímeros son transparentes, lo que se refleja en sus valores de luminosidad. A diferencia de las películas con propóleo que tienen coloraciones en tonos amarillos como se observa en los valores del tono. Los valores de croma ( $C^*$ ) más altos reflejan el mayor color anaranjado de las películas que contienen propóleo.

**Cuadro 4.** Parámetros de color para las distintas películas de Alginato (A) y Quitosano (Q)

Películas	Parámetros				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	Croma ( $C^*$ )	Tono ( $^\circ$ )
AC	51,7 ± 6,3 <sup>a</sup>	-0,7 ± 0,5 <sup>d</sup>	-2,1 ± 1,9 <sup>e</sup>	2,3 ± 1,8 <sup>d</sup>	233,3 ± 43,0 <sup>a</sup>
A10	29,0 ± 1,4 <sup>b</sup>	10,0 ± 1,3 <sup>c</sup>	41,6 ± 4,4 <sup>a</sup>	42,9 ± 4,2 <sup>a</sup>	76,9 ± 1,7 <sup>b</sup>
A20	21,1 ± 2,9 <sup>c</sup>	14,2 ± 2,2 <sup>b</sup>	34,6 ± 4,7 <sup>b</sup>	37,6 ± 4,1 <sup>b</sup>	67,0 ± 4,9 <sup>bc</sup>
A30	17,5 ± 1,5 <sup>cd</sup>	15,8 ± 2,2 <sup>b</sup>	28,6 ± 2,5 <sup>c</sup>	32,9 ± 2,5 <sup>c</sup>	60,6 ± 3,9 <sup>bc</sup>
A40	13,9 ± 1,8 <sup>d</sup>	19,5 ± 1,4 <sup>a</sup>	22,9 ± 2,9 <sup>d</sup>	30,5 ± 1,7 <sup>c</sup>	48,7 ± 5,4 <sup>c</sup>
QC	44,0 ± 0,2 <sup>a</sup>	-0,1 ± 0,1 <sup>c</sup>	-0,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	0,8 ± 0,2 <sup>c</sup>	259,1 ± 11,0 <sup>a</sup>
Q10	32,6 ± 4,8 <sup>b</sup>	-2,0 ± 0,6 <sup>d</sup>	16,7 ± 7,0 <sup>b</sup>	16,9 ± 6,8 <sup>b</sup>	100,0 ± 5,0 <sup>b</sup>
Q20	28,4 ± 4,7 <sup>bc</sup>	0,6 ± 0,9 <sup>bc</sup>	28,1 ± 3,8 <sup>a</sup>	28,2 ± 3,7 <sup>a</sup>	90,4 ± 1,9 <sup>c</sup>
Q30	25,4 ± 2,9 <sup>cd</sup>	2,0 ± 2,3 <sup>ab</sup>	31,7 ± 3,1 <sup>a</sup>	31,9 ± 3,1 <sup>a</sup>	87,0 ± 3,8 <sup>c</sup>
Q40	22,7 ± 3,5 <sup>d</sup>	3,0 ± 2,4 <sup>a</sup>	27,9 ± 5,9 <sup>a</sup>	28,3 ± 6,0 <sup>a</sup>	84,8 ± 4,5 <sup>c</sup>

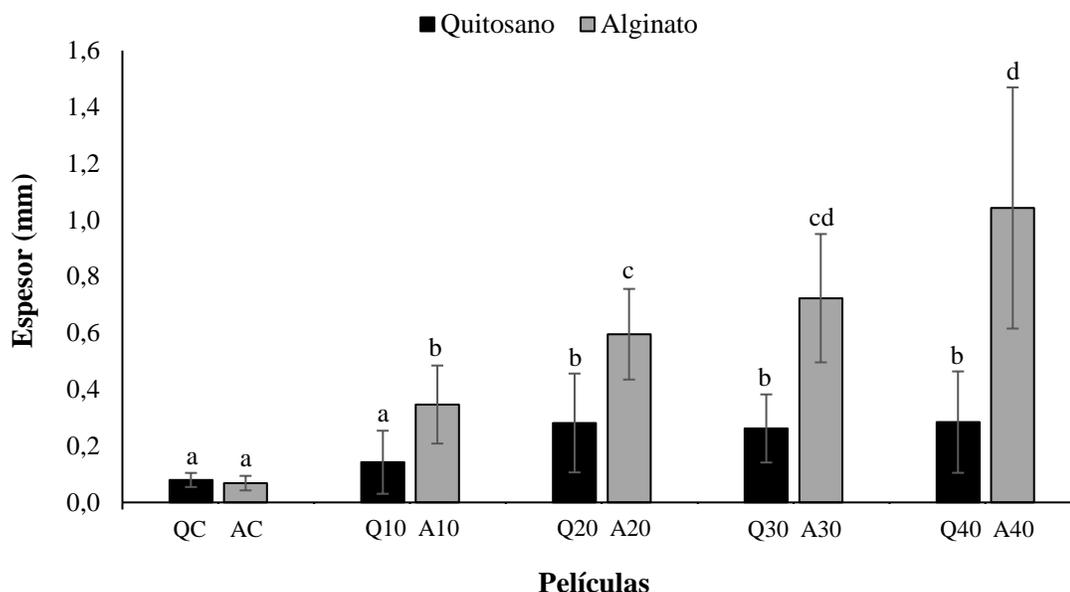
Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas para cada polímero (A/Q), según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=10$ ) ± D.E.



**Figura 3.** Películas de alginato (A-E) y quitosano (F-J) formuladas con 10 mL (B-G), 20 mL (C-H), 30 mL (D-I), 40 mL de propóleo (E-J) y películas control (A-B).

## 2. Espesor

El espesor de las películas se muestra en la Figura 4. Para las películas formuladas con alginato, éste osciló entre 0,068 a 1,043 mm. En cambio, para las de quitosano, se encontró entre 0,080 a 0,284 mm. En general, el factor principal que aumenta el espesor de las películas es la concentración de propóleo, la cual fue significativamente mayor ( $p \leq 0,05$ ) para aquellas películas con mayor proporción de propóleo. En el caso del factor polímero, no se observaron diferencias al comparar las películas control de alginato *versus* quitosano, pero al agregar propóleo a las formulaciones, siempre las de alginato mostraron un mayor espesor.



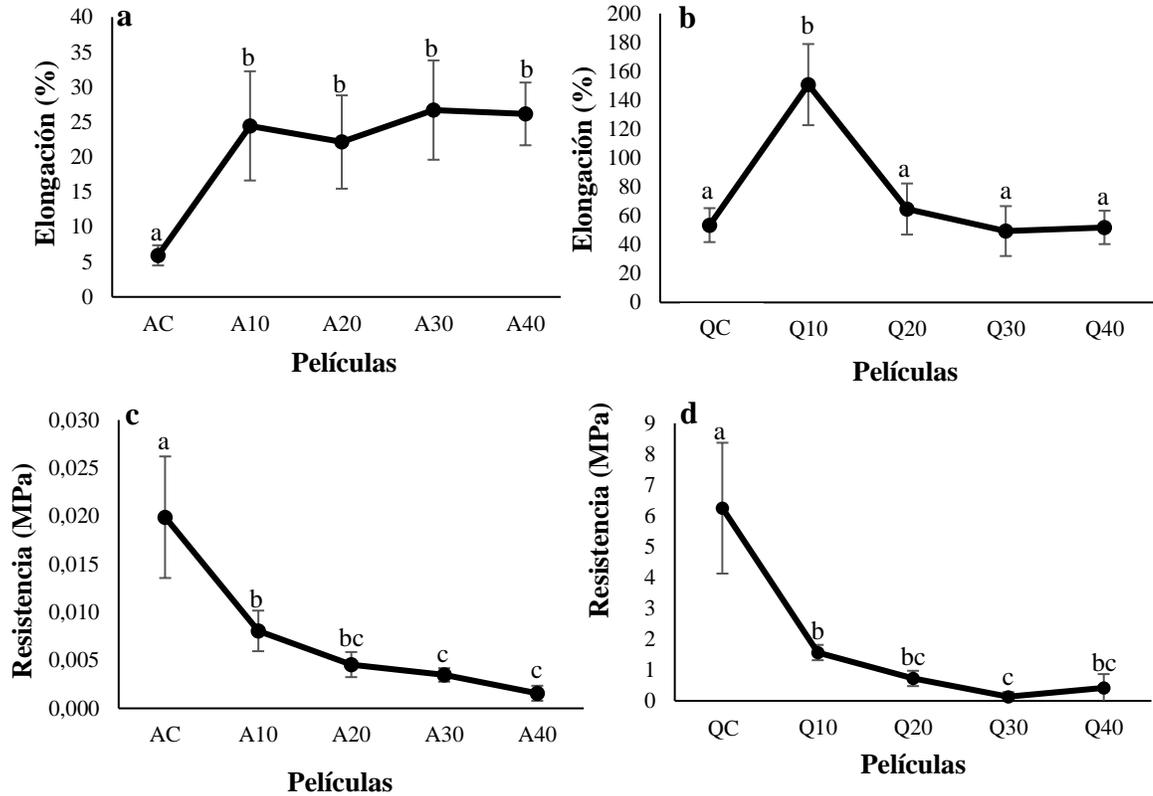
**Figura 4.** Espesor de las distintas películas de Q y A. Letras distintas dentro de cada polímero (A/Q) indican diferencias significativas según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=10$ )  $\pm$  D.E.

## 3. Propiedades mecánicas

El porcentaje de elongación (%E) y esfuerzo de tracción a ruptura (ETR) para las diferentes películas de A y Q se muestran en la Figura 5. Los valores de %E y ETR de las películas de Q fueron bastante superior que las de A.

Los dos polímeros tuvieron comportamientos mecánicos diferentes. Para el caso del alginato se observó una baja elongación, cuando no se había agregado el propóleo y una alta resistencia (Figura 5a y 5c). Asimismo, en la medida que se incorporó el propóleo la elongación aumentó significativamente hasta la inclusión de 10 mL de propóleo y luego se mantuvo constante, en cambio, la resistencia fue disminuyendo, comportamiento que fue similar para ambos polímeros.

Por otra parte, la elongación de las películas de Q aumentó con una baja concentración de propóleo (10 mL), pero luego disminuyó al ir aumentando su concentración.

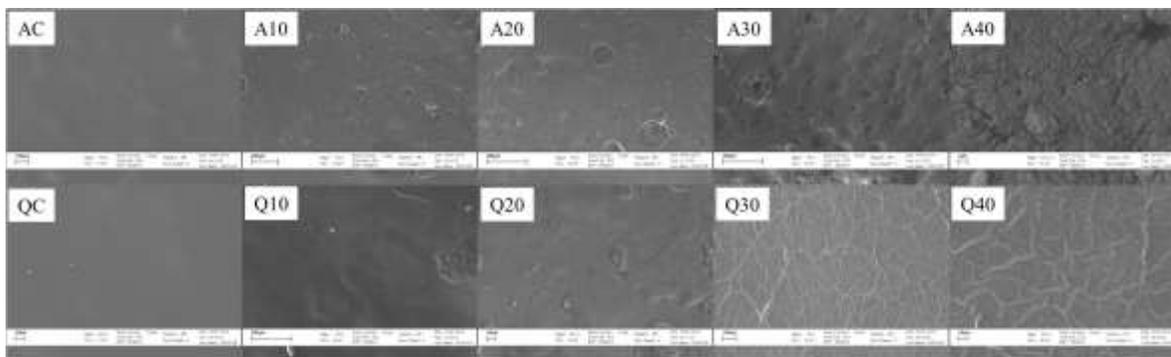


**Figura 5.** Elongación a la rotura (a-b) y esfuerzo de tracción a ruptura (c-d) de las películas de Q y A con distintas concentraciones de propóleo. Letras distintas en el mismo gráfico indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=10$ )  $\pm$  D.E.

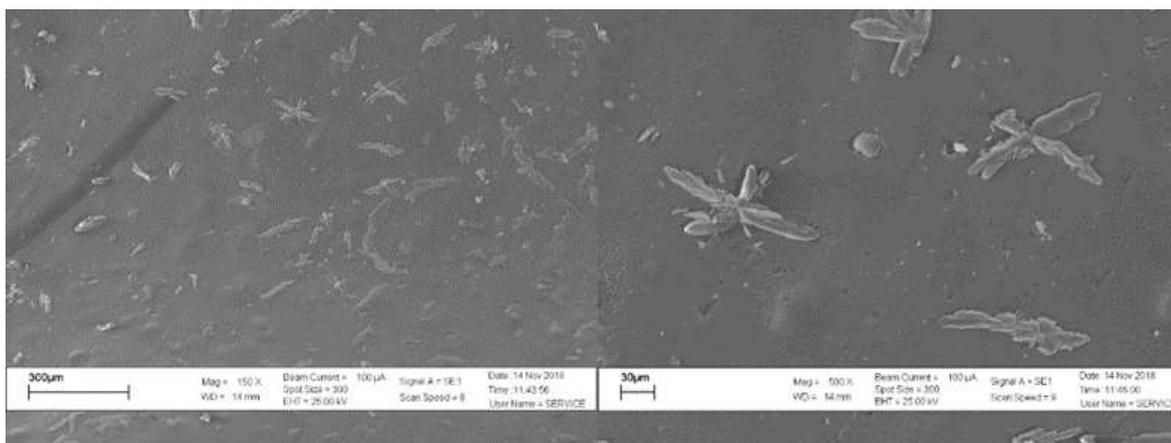
#### 4. Caracterización de microestructura de película por microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM) se aplicó para visualizar el efecto de la adición del propóleo sobre la microestructura superficial de las películas formuladas en base a alginato y quitosano. En la Figura 6, se muestran las microfotografías de las películas. El SEM mostró que la estructura superficial de las películas AC y QC fue homogénea, continua y sin poros. Sin embargo, se puede ver en la figura que la morfología de las películas varía de acuerdo a la formulación empleada, en general, las películas de quitosano-propóleo fueron más uniforme y presentaron menos rugosidad en comparación con las de alginato. No obstante, para ambas formulaciones a medida que aumentó la concentración de propóleo, éstas se volvieron irregulares, porosas, y heterogéneas.

En cuanto al propóleo (Figura 7) utilizado para las formulaciones, se observó una superficie heterogénea, irregular y un patrón constante.



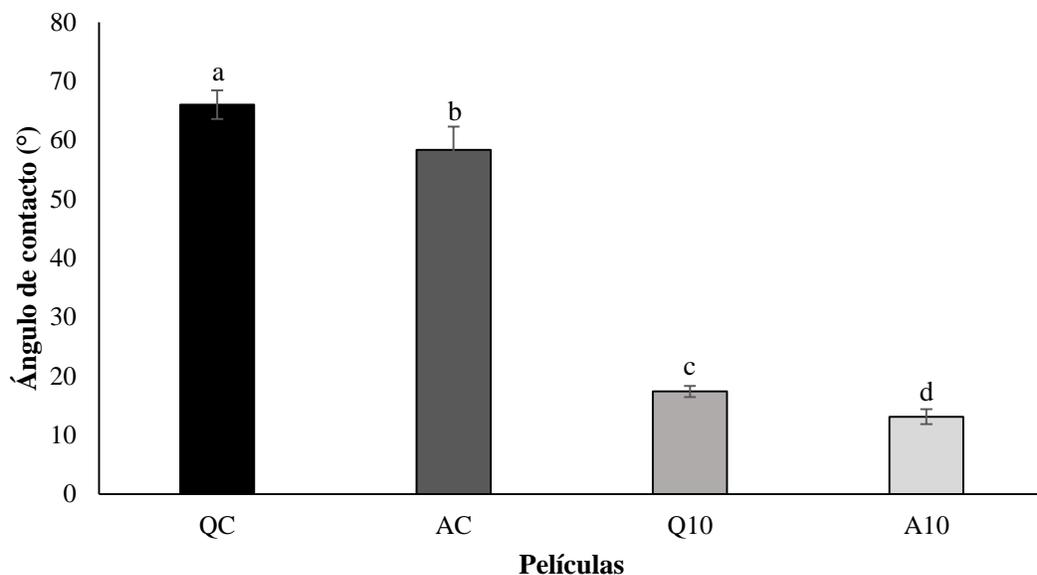
**Figura 6.** Micrografías SEM de la superficie de las películas de Alginato (A) y Quitosano (Q) utilizado en la formulación de las películas.



**Figura 7.** Micrografías SEM de la superficie del propóleo líquido utilizado en la formulación de las películas.

## 5. Ángulo de contacto (AC)

El ángulo de contacto es un indicador que se utiliza para medir el grado de hidrofobicidad de la superficie de la película. Normalmente, la superficie de las películas elaboradas en base a polímeros como alginato y quitosano es hidrófilo. En este análisis, cuando el ángulo de contacto es pequeño ( $\theta < 90^\circ$ ), la superficie tiene características hidrofílicas; mientras que un ángulo de contacto mayor ( $\theta > 90^\circ$ ) implica una superficie hidrofóbica (Wang *et al.*, 2017; Dou *et al.*, 2018). En cuanto a las películas analizadas, se observaron diferencias significativas para el ángulo de contacto (Figura 8). Si bien, todas presentaron un ángulo menor a  $90^\circ$ , se pudo observar que las películas control presentaron mayor tendencia a la hidrofobicidad de la superficie, con valores de  $66,02^\circ$  para QC y  $58,35^\circ$  para AC. Por otra parte, al incorporar propóleo a las películas, la hidrofobicidad disminuyó, lo cual a su vez impidió seguir aumentando la concentración de este, ya que la gota se absorbía muy rápido imposibilitando la realización de la medición en las demás concentraciones.



**Figura 8.** Ángulo de contacto de las películas QC, AC, Q10 y A10. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=10$ )  $\pm$  D.E.

### Recubrimiento seleccionado

Dado los resultados de la caracterización de las películas, el recubrimiento que se seleccionó para la aplicación en paltas fue el de quitosano con 10 mL de propóleo (Q10) según los resultados de las distintas variables analizadas. Es por esto que los tratamientos aplicados fueron: paltas sin recubrir correspondiendo al control (C), fruta recubierta con quitosano (Q), quitosano + propóleo (Q+P) y la Cera Shel-life® “avocado”.

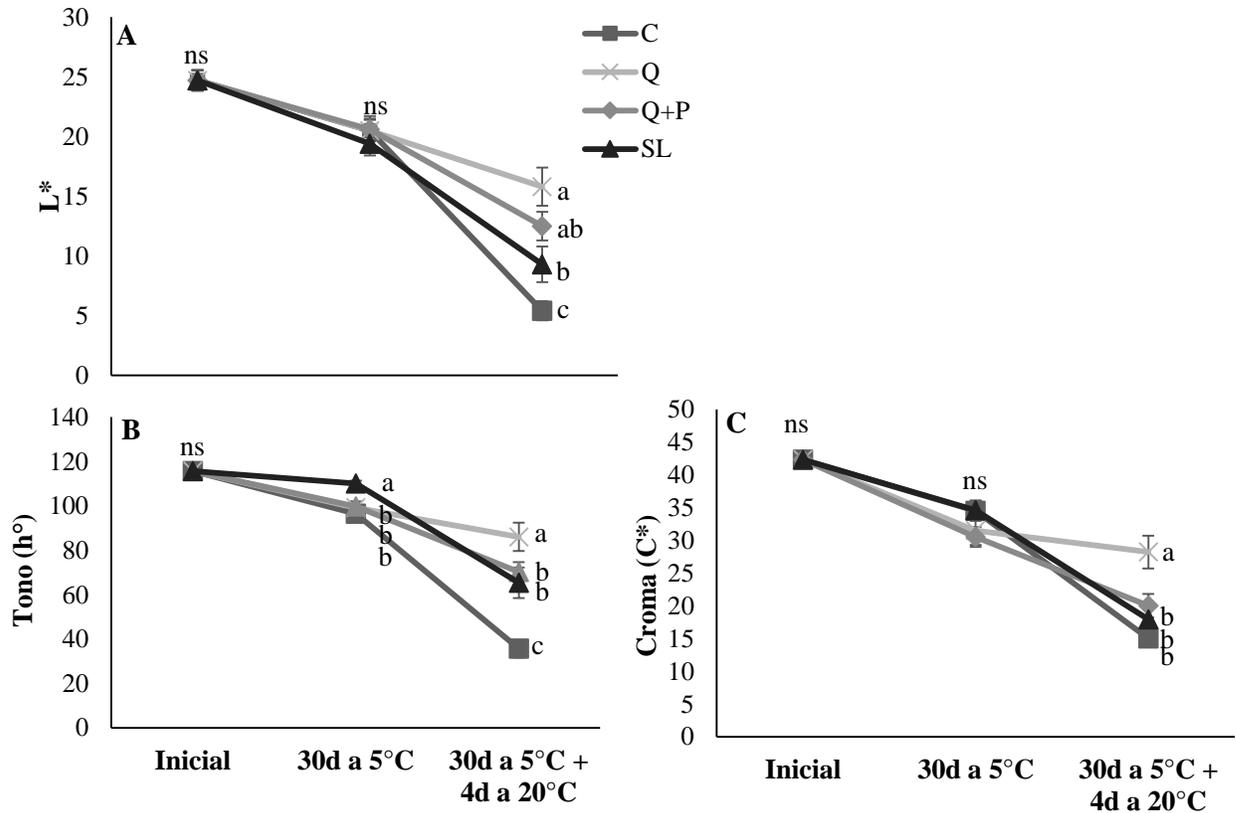
### Recubrimiento en paltas

#### 1. Color piel y pulpa

La evaluación del color de la piel de las paltas se muestra en la Figura 9 y en las Figuras 10 y 11 se muestra el aspecto visual de las paltas en los periodos de almacenamiento. La luminosidad, tono y croma disminuyeron gradualmente durante el almacenamiento tanto en fruta recubierta como sin recubrir. La mayor disminución en la luminosidad (Figura 9A) se observó en la fruta no recubierta seguida de la fruta recubierta con la cera comercial (SL), comportamiento similar para los demás parámetros del color. Sin embargo, para el parámetro *de tono* luego de 30 días a 5°C no hubo diferencia significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre la fruta control y aquella recubierta con Q y Q+P, teniendo valores entre 96,5 y 99,7°, correspondientes a coloraciones amarillo-verdoso, lo cual se observa en la Figura 10. En cuanto al almacenamiento de los 30 días a 5°C + 4 días a 20°C, presentó mayor variación entre tratamientos, con la menor disminución en el control, tomando tonalidades más oscuras, en

concordancia con el valor obtenido en el parámetro  $L^*$ , representando la coloración de una fruta madura. Cabe destacar que el tratamiento que mantuvo una coloración más verde (según los parámetros de color) luego del periodo simulado de comercialización fue la fruta recubierta con quitosano.

Por otro lado, el color de la pulpa de las paltas (Cuadro 5) no se presentaron diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros de  $L^*$  y  $C^*$  para los 30d a 5°C. Además, los tratamientos entre ambos almacenamientos no tuvieron gran variación en los parámetros del color.

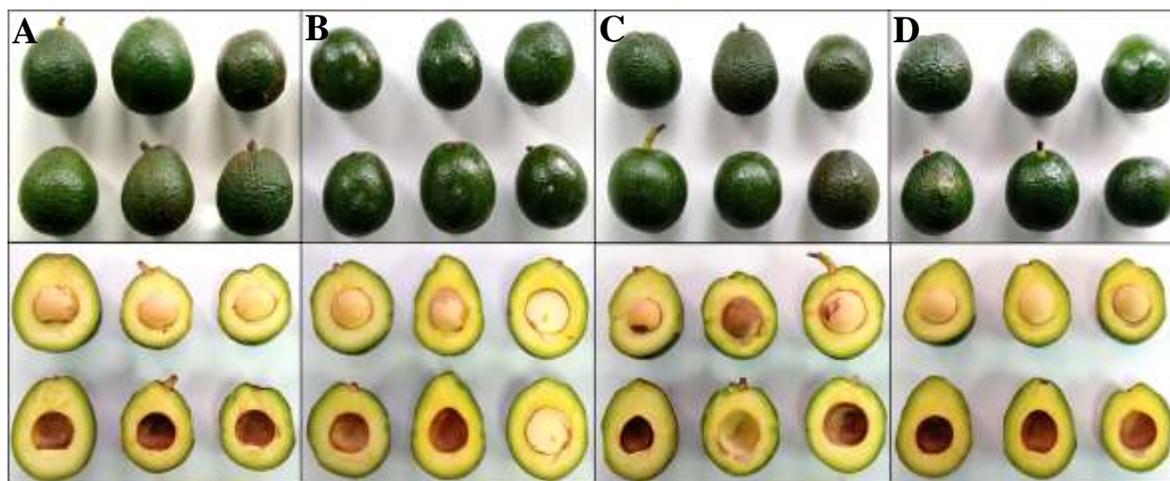


**Figura 9.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre los parámetros del color  $L^*$  (A),  $h^\circ$  (B) y  $C^*$  (C) de la piel en paltas cv. Hass almacenadas a 5°C durante 30 días y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada periodo de almacenamiento, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). ns: no significativo para el componente de color. Los valores corresponden a la media ( $n=24$ )  $\pm$  E.E.

**Cuadro 5.** Parámetros del color de pulpa en paltas control (C) y recubiertas con quitosano (Q), quitosano + propóleo (Q+P) y cera (SL) durante el almacenamiento a 30d a 5°C y 30d a 5°C + 4d a 20°C.

Almacenamiento	Tratamientos			
	Control	Quitosano	Quitosano + Propóleo	Cera SL
<i>L*</i>				
30d a 5°C	73,5 ± 5,8 ns	74,4 ± 5,0	75,2 ± 4,1	72,8 ± 8,5
30d a 5°C + 4d a 20°C	72,0 ± 3,4 bc	74,6 ± 4,6 a	70,8 ± 4,5 c	73,7 ± 3,5 ab
<i>Croma (C*)</i>				
30d a 5°C	45,1 ± 2,9 ns	45,5 ± 3,6	45,0 ± 3,1	46,5 ± 3,9
30d a 5°C + 4d a 20°C	42,8 ± 3,7 c	44,6 ± 3,9 bc	46,7 ± 2,9 a	46,5 ± 3,8 ab
<i>Tono (°)</i>				
30d a 5°C	97,1 ± 2,1 a	95,5 ± 3,7 a	96,5 ± 3,0 a	92,9 ± 4,7 b
30d a 5°C + 4d a 20°C	95,9 ± 2,5 ns	95,1 ± 2,9	95,5 ± 2,5	94,4 ± 3,2

Letras distintas en sentido horizontal indican diferencias significativas entre los tratamientos, para cada almacenamiento según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=24$ ) ± D.E.



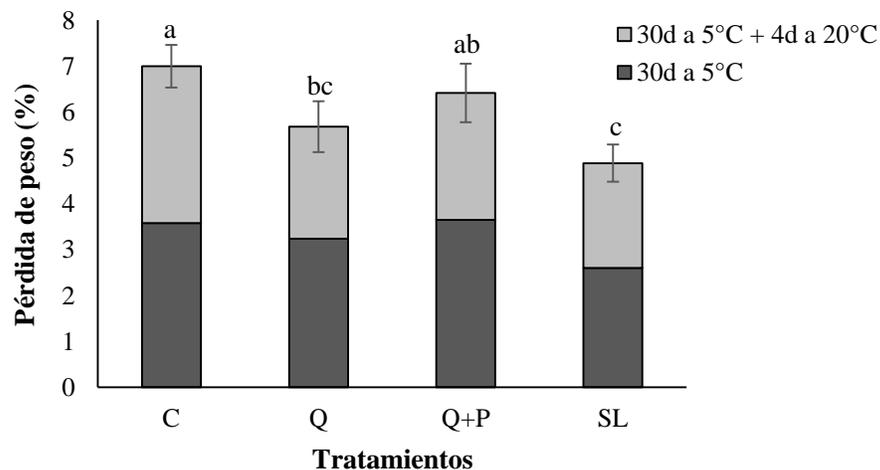
**Figura 10.** Apariencia visual de la piel y pulpa de paltas cv. Hass almacenadas durante 30 días a 5°C. A: Control; B: Quitosano; C: Quitosano + propóleo; D: Cera Shel-life®.



**Figura 11.** Apariencia visual de la piel y pulpa de paltas cv. Hass almacenadas durante 30 días a 5°C + 4 días a 20°C. A: Control; B: Quitosano; C: Quitosano + propóleo; D: Cera Shel-life®.

## 2. Pérdida de peso

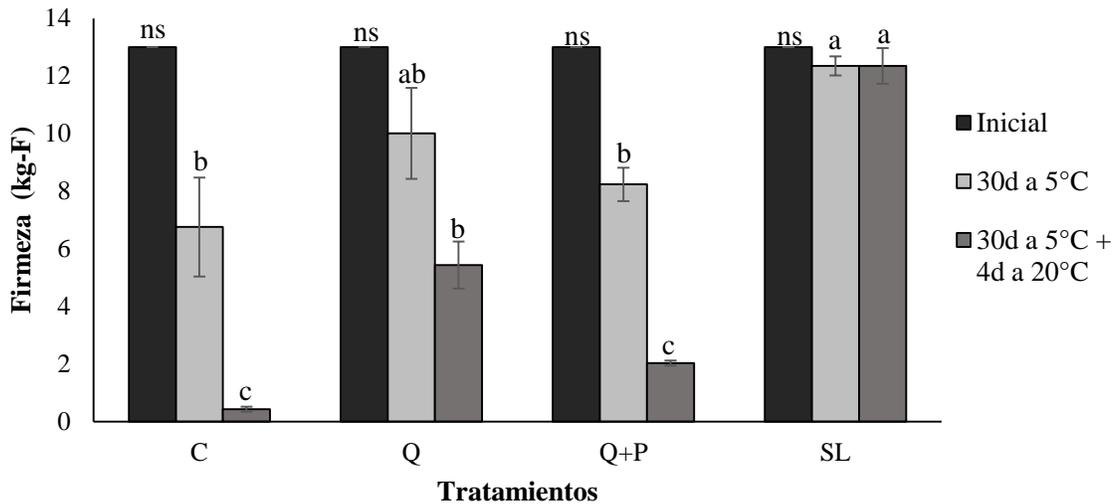
El efecto de los recubrimientos sobre la pérdida de peso de paltas cv. Hass se muestra en la Figura 12. Esta varió en función del periodo de almacenamiento y el tipo de recubrimiento. Sin embargo, la pérdida de peso siempre fue mayor en el control que en las frutas recubiertas, así también la mayor pérdida de peso se observó durante el periodo simulado de transporte (30 días a 5°C). Específicamente, presentaron valores de 5,7, 6,4 y 4,9% en la pérdida de peso de los frutos tratados con las formulaciones de quitosano, quitosano + propóleo y cera SL, respectivamente, en comparación con el grupo control, que tuvo una reducción del 7,0% luego de ambos almacenamientos.



**Figura 12.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la pérdida de peso en paltas cv. Hass almacenados a 5°C durante 30 días y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=12$ )  $\pm$  D.E.

### 3. Firmeza

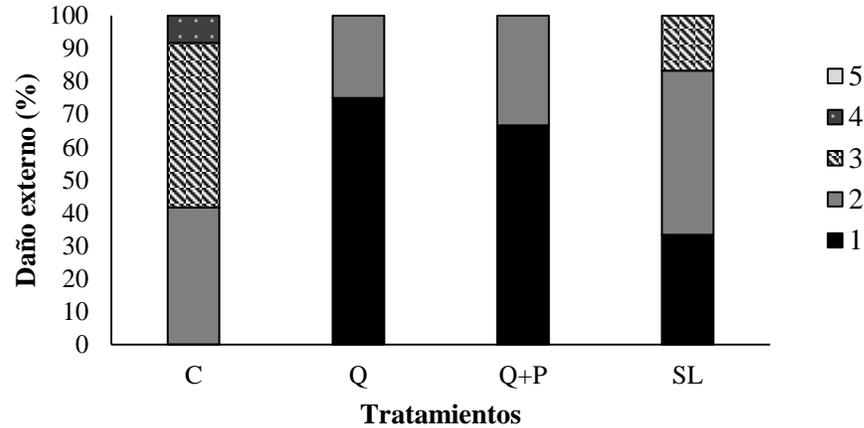
El efecto de los recubrimientos sobre la firmeza de la pulpa de paltas cv. Hass se muestra en la Figura 13. Esta se vio afectada significativamente ( $p \leq 0,05$ ) entre el periodo de almacenamiento y el tipo de recubrimiento. La pérdida de firmeza aumentó gradualmente en relación al tiempo y condición de almacenamiento. Al final del periodo de almacenamiento a 4 días a 20°C la fruta sin recubrir tenía la firmeza más baja con un valor de 0,4 kg-f. Por otro lado, se observó que el tratamiento que tuvo una mejora significativa en la mantención de la firmeza, luego de los 30 días a 5°C + 4 días a 20°C, fue la cera para paltas (SL) con un valor de 12,3 kg-f. En cuanto a los recubrimientos con quitosano presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) luego de 4 días a 20°C con una firmeza de 5,4 kg-f (Q) y 2,0 kg-f (Q+P).



**Figura 13.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la Firmeza en paltas cv. Hass durante la caracterización inicial, 30 días a 5°C de almacenamiento y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada periodo de almacenamiento, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). ns: no significativo para el componente de firmeza. Los valores corresponden a la media ( $n=12$ )  $\pm$  E.E.

### 4. Daño externo

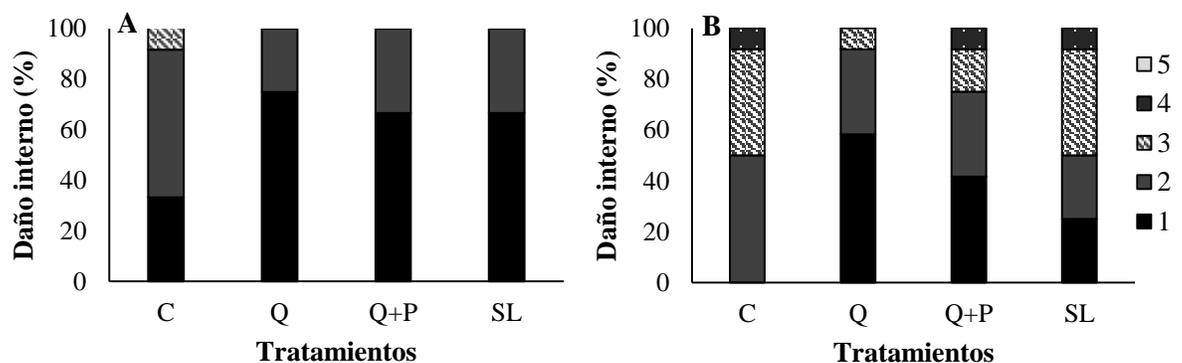
Los principales daños observados en los frutos fueron: manchas negras sólidas, lesiones superficiales. El daño externo se muestra en la Figura 14, el cual solo se analizó para el almacenamiento de 30 días a 5°C, dado que en la madurez de consumo la epidermis de la fruta se vuelve más oscura y, como tal, el daño externo se oculta y se vuelve imposible de medir (Mendieta *et al.*, 2016). Se observó que aquella fruta sin recubrir tuvo mayor presencia de deterioro, presentando un 50,0% de fruta con daño moderado y un 8,3% de daño moderadamente severo. Así también, se observó que las paltas recubiertas con la cera (SL) presentaron el mayor porcentaje de daño leve (50,0%). Por otro lado, los tratamientos formulados con quitosano (Q y Q+P) fueron los que presentaron mayor porcentaje de sin ocurrencia, con valores de 75,0% y 66,7% respectivamente.



**Figura 14.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de daño externo en paltas cv. Hass después de un período simulado de transporte (30 días a 5°C). Determinado por examen visual utilizando una escala hedónica de 1 a 5 (1: sin ocurrencia, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: severo). Los valores corresponden a la media (n=12).

## 5. Daño interno

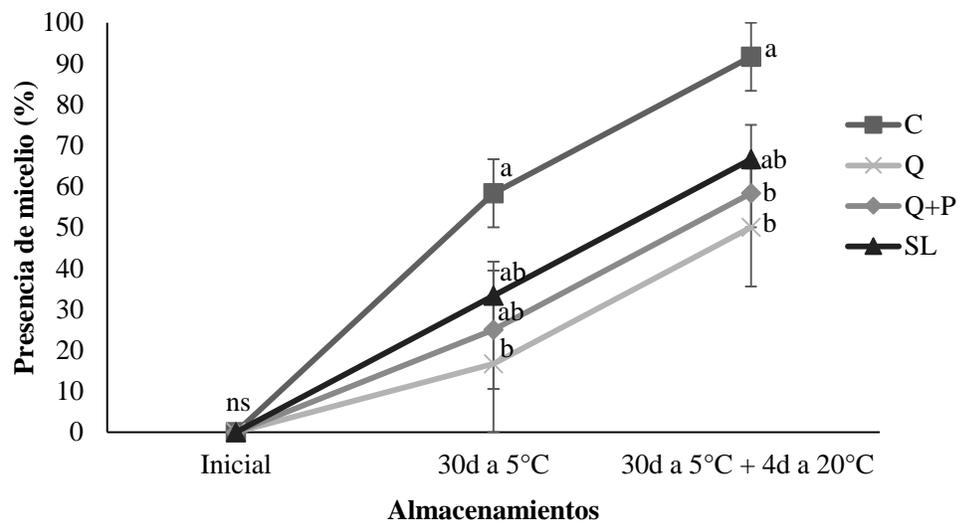
El efecto de los recubrimientos sobre el daño interno de paltas cv. Hass se muestra en la Figura 15. Durante el almacenamiento en frío (Figura 15A) se observó que todos los tratamientos con recubrimiento presentaron mayor porcentaje de fruta sin daño, siendo Q aquel con menor incidencia, con un valor de 75,0%. Por otro lado, en el almacenamiento simulado de comercialización (Figura 15B) los tratamientos con quitosano (Q y Q+P) fueron los que mantuvieron mayor porcentaje de fruta sin ocurrencia de daño, con valores de 58,3 y 41,7% respectivamente. Sin embargo, en este periodo de almacenaje la fruta sin recubrir no presentó fruta sin daño interno.



**Figura 15.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de daño interno en paltas cv. Hass durante 30 días a 5°C (A) y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días (B). Determinado por examen visual utilizando una escala hedónica de 1 a 5 (1: sin pardeamiento, 2: leve, 3: moderado, 4: moderadamente severo y 5: pardeamiento intenso). Los valores corresponden a la media (n=12).

## 6. Presencia de micelio

La presencia de micelio observado en los frutos fue principalmente en la zona del pedúnculo. En la Figura 16 se observa el efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la presencia de micelio en paltas cv. Hass para ambos periodos de almacenamiento. Se observó que en ambos periodos hubo presencia de fruta contaminada, sin embargo, luego de los 30d a 5°C la fruta sin recubrimiento presentó mayor incidencia de hongos significativamente ( $p \leq 0,05$ ), correspondiente a un 58,3%. Asimismo, luego de los 30d a 5°C + 4d a 20°C la fruta que presentó mayor contaminación fue el control con un 91,7%, seguido de la fruta recubierta con cera (SL) con un 66,7% de fruta afectada. Por otro lado, la fruta que presentó menor presencia de micelio fue aquella recubierta con quitosano (Q) y quitosano + propóleo (Q+P) con valores de 50,0% y 58,3%.



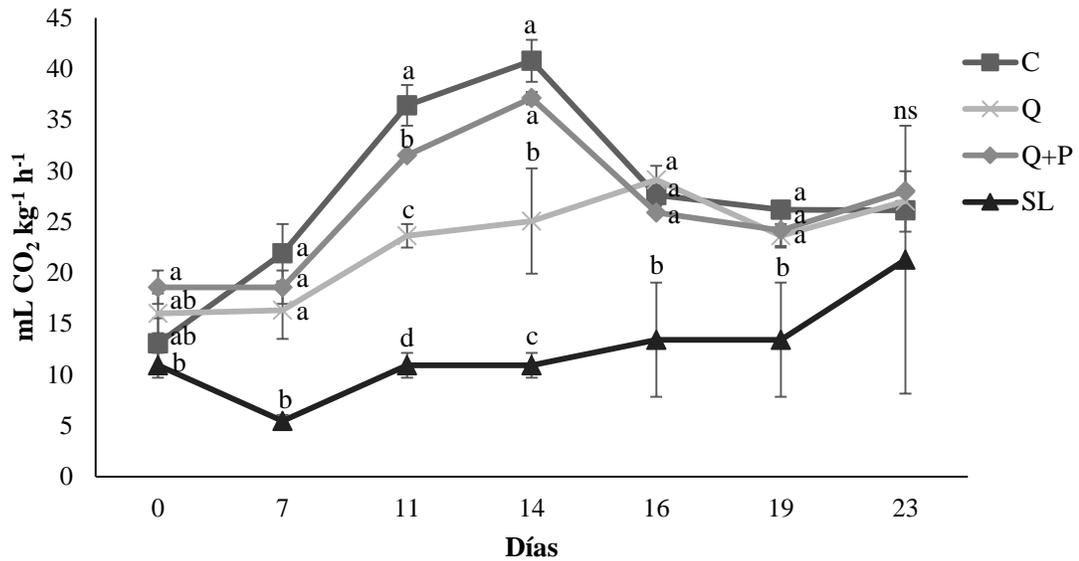
**Figura 16.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre el porcentaje de presencia de micelio en paltas cv. Hass durante 30 días a 5°C y luego transferidos a temperatura ambiente (20°C) durante 4 días. Determinado por examen visual. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada periodo de almacenamiento, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). ns: no significativo para el componente de firmeza. Los valores corresponden a la media ( $n=12$ )  $\pm$  E.E.

## 7. Tasa de respiración

En la Figura 17, se presenta el efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la emisión de CO<sub>2</sub>. Se observó que la fruta no recubierta y la fruta recubierta con el tratamiento Q+P presentaron una curva similar al comportamiento general de esta fruta climatérica, donde en una primera etapa presentaron una tasa respiratoria muy baja, es decir, poca producción de CO<sub>2</sub> y a medida que fue madurando fue aumentando la respiración, hasta alcanzar un máximo climatérico el día 14 con niveles de 41 y 37 mL CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> respectivamente, alza climatérica que se relaciona con el ablandamiento. Seguido de una disminución en la respiración correspondiente a una etapa postclimaterio sinónimo de disminución de la respiración.

Por otro lado, la fruta recubierta con quitosano (Q) presentó una emisión de CO<sub>2</sub> mas constante y con un peak mucho menor que los tratamientos control y Q+P. Sin embargo, la fruta recubierta con la cera (SL) presentó una menor tasa de respiración con valores significativos ( $p \leq 0,05$ ) en relación a los demás tratamientos, lo cual se podría relacionar al menor ablandamiento encontrado, menor pérdida de peso y a la mayor firmeza luego de ambos periodos de almacenamiento.

Al final del periodo analizado, se observó que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, comportamiento que se atribuyó a la presencia de pudrición peduncular presente en los frutos (Apéndice 4), dado esa condición se dejó de analizar la fruta.



**Figura 17.** Efecto de los recubrimientos y la fruta control sobre la Emisión de CO<sub>2</sub> de paltas cv. Hass durante 23 días a 10°C. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para cada periodo de almacenamiento, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). ns: no significativo para el componente de tasa respiratoria. Los valores corresponden a la media ( $n=3$ )  $\pm$  E.E.

## DISCUSIÓN

### 1. Caracterización de las películas

#### 1.1. Color

Se ha indicado que los parámetros de color de las películas poliméricas dependen de la naturaleza de los aditivos utilizados en su formulación (Arrieta *et al.*, 2014; Maniglia *et al.*, 2019). Se observó que los valores de luminosidad ( $L^*$ ) de las películas disminuyeron, mientras que los valores de  $a^*$  aumentaron a medida que la concentración de propóleo aumentó. Se exhibió mayor transparencia y brillo en las películas control, pero a medida que aumentó la concentración de propóleo las películas se volvieron opacas. Fabra *et al.* (2009) también informó esta pérdida de brillo y transparencia en películas de caseinato de sodio, en la medida que aumentaba el contenido de cera de abejas en relación a las películas control. Esta pérdida se podría atribuir a la presencia de irregularidades en la superficie de las películas (Ward y Nussinovitch, 1996; Pastor *et al.*, 2010). Asimismo, Pastor *et al.* (2010) destacó que la disminución del brillo en línea con el aumento en el contenido de extractos de propóleo podría explicarse por un aumento en la rugosidad de la superficie de las películas compuestas. Por otra parte, Quintavalla y Vicini (2002) informaron que la adición de agentes antimicrobianos a las películas de polímeros podría influir en algunas de sus propiedades físicas, en particular la transparencia y el color.

El aumento de la concentración de propóleo generó películas de color amarillo-anaranjado, reflejado en los valores de *tono*, los cuales disminuyeron al ir aumentando la fracción de masa de propóleo, dando coloraciones amarillo-anaranjado, lo que era de esperarse debido a la coloración del propóleo (amarillo-amarronado). Este cambio en el color también fue informado por Pastor *et al.* (2010), Bodini *et al.* (2013), y Velickova *et al.* (2013). El propóleo presenta una composición química variable y compleja, uno de los principales compuestos bioactivos hallados en el propóleo son los flavonoides, donde se encuentran en gran concentración los flavonoles, los cuales presentan estas coloraciones amarillas-marrón (Kumazawa *et al.*, 2004; Zabaïou *et al.*, 2017). Bodini *et al.* (2013) también destacó que hubo cambios significativos en el nivel de polifenoles en función del aumento en la concentración del extracto etanol-propóleo. Por otro lado, Pastor *et al.* (2010) destaca que el cambio de color de las películas de amarillo-anaranjado es consecuencia de sustancias coloreadas presente en extractos de propóleo como los carotenoides.

De Oliveria Filho *et al.* (2019) destacó que aquellas películas de coloraciones más oscuras, rojizas y amarillentas con baja transmisión de luz visible, pueden ser más ventajosas para el envasado de alimentos que son sensibles a la luz, la oxidación de lípidos y la acción de los microorganismos.

#### 1.2. Espesor

El espesor es un parámetro importante que afecta las propiedades físicas de las películas, como la opacidad, la permeabilidad al vapor de agua y las propiedades mecánicas (Galus y Lenart., 2013; Kanmani y Lim, 2013 y Shahrampour *et al.*, 2019). Debido a que el espesor

determina la distancia que el permeato (vapor de agua y gases) debe recorrer para difundir de un lado a otro de la película (Navarro-Tarazaga, 2007).

Como se indicó en los resultados la adición de propóleo generó un aumento en el espesor de las películas, esto ha sido reportado por Correa-Pacheco *et al.* (2019) en películas de nanopartículas de propóleo-quitosano donde aumentaron su espesor en la medida que se agregaba propóleo a las diferentes formulaciones.

Según Hazrati *et al.* (2021) el espesor de las películas está influenciado en parte por el tipo o concentración de plastificante, considerando que el propóleo tiene como vehículo el propilenglicol, el aumento del espesor en las películas también pudo estar influenciado tanto por el aumento de soluto en conjunto con la acción del plastificante. En este contexto, Fonseca *et al.* (2018) observó que el espesor de películas de almidón plastificadas con glicerol era menor que el de películas plastificadas con sorbitol, lo que indica que las diferencias en el espesor de la película de almidón podrían atribuirse al tipo de plastificante. Por otra parte, Galus y Lenart (2013) y Shahrpour *et al.* (2019) indicaron que este parámetro también depende del método de preparación y las condiciones de secado de las películas.

En este sentido, la diferencia entre ambos polímeros, no solo se podría atribuir al aumento del propóleo, sino también a la interacción intermolecular de éste con el polímero, comportamiento que estaría estrechamente relacionado con los resultados obtenidos en las propiedades mecánicas.

### **1.3. Propiedades mecánicas**

Las propiedades mecánicas de las películas de alginato, tuvieron un comportamiento esperable, en la medida que se aumentó la concentración de propóleo, la elongación aumentó. Esto se debe a que el propóleo tiene como vehículo un plastificante, el propilenglicol. Los plastificantes son moléculas de baja volatilidad que se agregan a los materiales biopoliméricos para permitir la modificación de las propiedades funcionales de las películas, han sido utilizados ampliamente en el desarrollo de biopelículas ya que aumentan su extensibilidad, flexibilidad, elasticidad, ductilidad y propiedades mecánicas (Suderman *et al.*, 2018). Bodini *et al.* (2013) informó que la adición de extracto de etanol-propóleo en las películas actuó como un agente plastificante, donde generó un aumento de la movilidad de la matriz del polímero, que a su vez, promovió la reducción de la resistencia a la tracción y el aumento de la elongación de la película. Este comportamiento se debe a que el plastificante reduce los enlaces intermoleculares entre las cadenas del polímero (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2008). Esto explica la disminución de la resistencia a la tracción, generando películas menos resistentes en la medida que aumentó el propóleo en las películas (Figura 5).

Por otra parte, Rebaza *et al.* (2016) destacó que la incorporación de una fase dispersa causa una disminución en los parámetros de carga (%E y ETR), así también han informado Brindle y Krochta, (2008), Fabra *et al.* (2008), Monedero *et al.* (2009), Sánchez-González *et al.* (2009) y Vargas *et al.* (2009). Esto se vio reflejado en las películas de quitosano-propóleo, en la medida que aumentó la concentración de propóleo, a partir de 20 mL, las películas se volvieron menos elásticas y con una menor resistencia. En la Figura 6, se observó el aspecto de estas películas al ir aumentando la concentración, las cuales mostraron un aspecto rugoso,

heterogéneo e irregular, afectando estas propiedades. Pastor *et al.* (2010) destacó que la dispersión del extracto etanol-propóleo en la matriz polimérica puede generar áreas de discontinuidad, reduciendo la resistencia de la matriz a la fractura y llevando a una menor resistencia a la tracción y elasticidad. Bodini *et al.* (2013) a su vez, también informó que al aumentar la concentración extracto etanólico de propóleo disminuyó la compacidad de la matriz polimérica. Varios autores han reportado que la respuesta mecánica de las películas se ve afectada principalmente por su grado de cristalinidad, interacción compuesto de polímero-composición activo, contenido de humedad, entre otros (Rebaza *et al.*, 2016).

Recientemente se ha descrito que la resistencia a la tracción y la elongación aumentan para las películas a base de quitosano que contienen extracto de propóleos (Mujtaba *et al.*, 2019). Sin embargo, esto sólo se vio reflejado en la elasticidad para la película Q10, el resto tuvo una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ). Autores como Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) también reportaron algo similar, donde la elongación de las películas aumentó cuando las concentraciones de propóleo alcanzaron hasta un 10%, pero disminuyeron significativamente cuando se añadió 20% de propóleo. Este comportamiento podría atribuirse a la formación cristalina de componentes de propóleo excesivos en la matriz de quitosano, lo que conduce a una reducción en la flexibilidad de la película (Pastor *et al.*, 2010). También es posible que las interacciones entre los componentes del propóleo a alta concentración y el quitosano produzcan un efecto de reticulación, que disminuye el volumen libre y la movilidad molecular del polímero de quitosano, causando una disminución en el alargamiento (Bodini *et al.*, 2013; Siripatrawan y Vitchayakitti, 2016). Por otro lado, Suyatma *et al.* (2005) mencionó que esto se puede explicar debido a que el plastificante presente en el propóleo mejora la ductilidad del quitosano, y las curvas típicas de tensión-deformación de las películas plastificadas tienen las características de los materiales dúctiles, excepto en películas sobre un 5% de plastificante ya que se exhibe como un polímero frágil y muestra un efecto antiplastificante. En la mayoría de los casos, el alargamiento de las películas plastificadas disminuye con el tiempo de almacenamiento, lo que podría deberse a la recristalización de quitosano y la pérdida de humedad y plastificante de la matriz de la película. Esto explicaría la disminución de las propiedades mecánicas en aquellas películas de quitosano con mayor concentración de propóleo. Por otro lado, varios autores también indican que la resistencia a la tracción de las películas a base de quitosano es directamente proporcional al peso molecular y al grado de desacetilación del mismo (Nunthanid *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2002; Ziani *et al.*, 2008; Kerch y Korkhov, 2011; Mujtaba *et al.*, 2019).

#### **1.4. Caracterización de microestructura de película por microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Se llevaron a cabo observaciones de microscopía electrónica de barrido para obtener una mejor comprensión de la estructura microscópica de las películas (Galus y Lenart, 2013). La estructura final de la película depende de la disposición de los diferentes componentes y su evolución durante el secado de esta, afectada por las interacciones entre estos factores (Pastor *et al.*, 2010).

En general, las micrografías de la superficie de las películas AC y QC (Figura 6) fueron homogéneas. Esto revela que las cadenas de polímero estaban distribuidas de manera uniforme para formar la película durante el secado (Haq *et al.*, 2016), lo que se encuentra en

conformidad con lo descrito por varios autores (Pinotti *et al.*, 2007, Vargas *et al.*, 2009; Abugoch *et al.*, 2011). Sin embargo, se puede observar el efecto de la incorporación de propóleo en la microestructura, al ir aumentando la concentración del mismo genera un aumento en la porosidad de la matriz, dando lugar a un aspecto heterogéneo, rugoso e irregular, lo que coincide con lo descrito por otros autores como Pastor *et al.* (2010), Bodini *et al.* (2013) y De Oliveira Filho *et al.* (2019). Pastor *et al.* (2010) reportó microestructuras similares en cortes transversales de películas basadas en hidroxipropilmetilcelulosa, en las que la adición de extracto de etanol-propóleo generó que la estructura fuera más irregular y con zonas cristalinas en comparación con las películas formuladas sin extracto, las cuales presentaron un aspecto más continuo y homogéneo. De acuerdo con Maniglia *et al.* (2019) estas irregularidades en la superficie pueden ser responsables de una menor resistencia mecánica.

Por otro lado, Xu *et al.* (2019) informaron que la compactabilidad de las películas disminuyó después de incorporar un plastificante, lo que se debió a que las interacciones (por ejemplo, enlaces de hidrógeno e interacciones electrostáticas), entre las cadenas de polímeros fueran interrumpidas por los plastificantes. Esto podría explicar la heterogeneidad y porosidad que se aprecia en las películas al aumentar la concentración de propóleo.

### 1.5. Ángulo de contacto (AC)

El uso de esta técnica permite la investigación de la hidrofobicidad de la superficie así como de la humectabilidad de esta (Karbowski *et al.*, 2006). En este sentido, se observó que todas las películas analizadas tuvieron un ángulo de contacto menor a  $90^\circ$  (Figura 8). Si bien, el propóleo es un material lipófilo, por lo que se esperaría un comportamiento hidrófobo, la adición de propóleo debería de haber aumentado la hidrofobicidad de la formulación de las películas, sin embargo generó una disminución del 24% aproximadamente en el valor del ángulo de contacto, significando mayor tendencia hidrofílica y por tanto, mayor humectación de la superficie.

Comportamientos similares han obtenido otros autores al utilizar formulaciones de propóleos suspendidas en alcoholes o plastificantes, por su naturaleza hidrofílica. Correa-Pacheco *et al.* (2019) indicaron en películas de extracto etanólico de propóleo a diferentes concentraciones, que las películas fueron hidrofóbicas cuando presentaban 10% de EEP, pero aquella con 20% de EEP fueron más hidrofílica. Según El-hefian *et al.* (2011), parece existir una concentración óptima de propóleo y extractos de propóleo en las formulaciones que influye en la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos hidrófilos de propóleos y quitosano, cambiando la naturaleza de la superficie de la película de hidrófila a hidrófoba.

Autores como Jayasekara *et al.* (2004); Rbihi *et al.* (2020) y Krainer y Hirn, (2021) destacaron que ciertos factores como la heterogeneidad y rugosidad de la superficie pueden afectar el comportamiento de humectabilidad, así también el tiempo, la temperatura y las reacciones líquido-sólido. En ese sentido, Jayasekara *et al.* (2004) observó en películas formuladas con quitosano en base a alcohol polivinílico que eran flexibles y homogéneas a escala macroscópica, pero a escala microscópica parecía haber pequeños parches de componentes individuales, indicando que la modificación de la superficie alteró algunas de las características de la película, modificando la hidrofobicidad. En las micrografías

realizadas se observó el efecto de la incorporación de propóleo en la superficie de las películas control, pasando de ser lisas y homogéneas a ser más heterogéneas y presentar un aumento en la porosidad de la matriz, el cual se hace más evidente en la medida que se aumenta la concentración de propóleo.

De acuerdo a Karbowskiak *et al.* (2006) estos cambios de propiedades superficiales podrían atribuirse en primer lugar a la naturaleza hidrófila de las moléculas añadidas a películas como tensioactivos o a plastificantes como glicerol, y a una red menos densa con la presencia de otras moléculas, también informó que la adición de plastificantes podría generar una reducción de las interacciones polímero-polímero con un aumento de la movilidad de su cadena. La plastificación depende del grado de interacción entre las cadenas de polímero y las moléculas de agua adsorbidas. Estos reducen las fuerzas de interacción entre las cadenas de polímeros, aumentando la movilidad molecular, mejorando la flexibilidad de la película y modificando la permeabilidad a los gases. Esto explicaría la tendencia hidrofílica de las películas, considerando que el propóleo utilizado contiene propilenglicol como plastificante. Comportamiento similar mostró Karbowskiak *et al.* (2006) en películas comestibles a base de carragenina con adición de glicerol y grasas.

## **2. Recubrimiento en paltas**

### **2.1. Color piel y pulpa**

La medición del color de la piel puede proporcionar una indicación de la maduración y su variabilidad en las paltas cv. Hass (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005). La piel de las paltas antes del almacenamiento tenían un color verde claro (ángulo de tono =  $115,6^\circ$ , donde amarillo puro =  $90^\circ$  y verde puro =  $180^\circ$ ). En el periodo simulado de comercialización (4 días a  $20^\circ\text{C}$ ), hubo diferencias significativas entre los tratamientos en el valor luminosidad, croma y tono del color de la piel. Los tratamientos de quitosano y quitosano con propóleo retrasaron la disminución del brillo en mayor proporción que la fruta control y la cera SL, lo que se puede deber a la naturaleza del quitosano que otorga más luminosidad, a diferencia de la cera que si bien tiene un color café claro (Apéndice 5), al secarse presentaba un atributo más opaco. Esto coincide con lo señalado por Jeong *et al.* (2003) quienes utilizaron la aplicación de una cera en combinación con 1-MCP en paltas, destacaron que la fruta encerada tuvo un valor de  $L^*$  y un valor de  $C^*$  significativamente más bajos que la fruta no encerada. Por otro lado, varios autores (Maftoonazad y Ramaswamy, 2008; Aguirre-Joya *et al.*, 2017) informaron que la luminosidad ( $L^*$ ) de paltas mejoró mediante la aplicación de recubrimientos bioactivos, si bien disminuye el valor  $L^*$  en todos los tratamientos, pero se mantiene una diferencia significativa entre la fruta recubierta y control, con una mayor pérdida de brillo en las paltas control.

Los cambios en el ángulo de tono constituyeron la principal alteración de las coordenadas de color de la fruta, generando variaciones en las tonalidades del verde claro a verde oscuro hasta violáceo, en el caso del control. La disminución en el ángulo de tono se mantuvo sin diferencias significativas para la fruta recubierta con cera (SL) y con quitosano + propóleo, los cuales ambos tratamientos presentaron coloraciones que tendían al verde oscuro-amarillo.

En cuanto al parámetro  $C^*$ , su disminución se reflejó en la menor intensidad del color verde-amarillo. Los menores cambios de color en la fruta recubierta pueden estar relacionados con el efecto del recubrimiento en la creación de atmósferas modificadas dentro de la fruta. La presencia de  $\text{CO}_2$  en la atmósfera de almacenamiento es un factor importante para prevenir la degradación de la clorofila (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005).

Bouchez, (2003) informó que el uso de una capa de quitosano en las manzanas redujo el cambio de color. Por otro lado, Geraldine *et al.* (2008) informaron que la utilización de recubrimientos comestibles a base de agar, quitosano y ácido acético en ajo logró disminuir el aumento de color.

En relación al color de la pulpa, el valor  $L^*$  disminuyó con el tiempo de almacenamiento, y dado que es una medida del color en el eje claro-oscuro, este valor descendente indica que la pulpa de la fruta se estaba volviendo menos brillante. Los valores de luminosidad de la fruta recubierta fueron en general más alto que la fruta control, sin embargo, la fruta recubierta con quitosano y propóleo tuvo la mayor disminución a la salida del periodo simulado de comercialización. En cuanto al tono, todos los tratamientos estuvieron en tonalidades verdes-amarillo con valores de 94,4 a 95,9° luego de 4 días a 20°C. En general, todos los parámetros de color en pulpa mantuvieron una leve disminución entre periodos de almacenamiento.

## 2.2. Pérdida de peso

En general, todos los recubrimientos presentaron disminución en la pérdida de peso, sin embargo, la mayor pérdida fue siempre en el control que en las frutas recubiertas, lo que indica que los recubrimientos funcionaron eficientemente como barreras al vapor de agua. Aspecto que coincide con Tesfay y Magwaza, (2017) quienes demostraron que los recubrimientos de polisacáridos como el quitosano y la carboximetilcelulosa podían retrasar la pérdida de peso en paltas.

Sin embargo, entre los recubrimientos el tratamiento con cera (SL) fue quien tuvo la menor pérdida de peso, seguida del quitosano. De acuerdo a Kester y Fennema, (1986) las diferencias entre tratamientos podrían deberse a la naturaleza del recubrimiento comestible, recubrimientos hidrófilos mostrarían menor resistencia a la pérdida de agua que los recubrimientos lipófilos. Propiedad que coincidiría con los resultados obtenidos, así también fue reportado por diversos autores (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005; Tesfay *et al.*, 2017; Kubheka *et al.*, 2020).

Por otro lado, se pudo observar el papel protector del recubrimiento con propóleo, pero no tuvo mejores valores que el quitosano y la cera SL, comportamiento similar se observó en un estudio realizado por Marino *et al.* (2018), informaron que la menor pérdida de peso se produjo en las frutas tratadas con quitosano, seguida de la combinación de quitosano con propóleo, a pesar de que estudios realizados por Pastor *et al.* (2010) revelaron una reducción significativa en la permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos cuando se incorporó extracto de propóleo. Esto podría deberse a las diferencias en la extensibilidad de los

recubrimientos sobre la piel del fruto y al grado posterior de uniformidad de éste (Vargas *et al.*, 2006; Villalobos-Carvajal *et al.*, 2009; Pastor *et al.*, 2011).

En todos los tratamientos, la pérdida de peso fue mayor durante el almacenamiento en frío (30d a 5°C). Comportamiento similar tuvieron Tesfay y Magwaza, (2017), donde la mayor pérdida de peso se observó durante los primeros diez días de almacenamiento postcosecha. De hecho, se podría esperar que la mayor parte de la pérdida de humedad y, por lo tanto, la pérdida de peso ocurriera durante el enfriamiento inicial de la fruta (Bower y Magwaza, 2004). Por otro lado, Aguirre-Joya *et al.* (2017), indicaron que durante el almacenamiento en frío, las paltas recubiertas con un films bioactivo y biodegradable perdieron más peso que en condiciones de comercialización, pero se lo atribuyeron al mayor tiempo de experimentación, ya que las condiciones de refrigeración permiten evaluar los tratamientos durante más días en comparación con los días de comercialización.

### 2.3. Firmeza

La firmeza de las paltas disminuyó durante los almacenamientos tanto para frutos recubiertos como para el control, sin embargo, se observó que la cera (SL) tuvo efecto beneficioso sobre la retención de firmeza, si bien no se sabe con exactitud su formulación, cierto porcentaje esta formulado por aceites vegetales, obteniendo así menor permeabilidad al O<sub>2</sub> y mayor retención de CO<sub>2</sub> dentro de la película, retrasando el proceso fisiológico de madurez. La menor firmeza se obtuvo en la fruta control, se ablandaron a una velocidad mayor y maduraron completamente luego de 4 días a 20°C.

Los valores obtenidos de firmeza están de acuerdo con los resultados de la pérdida de peso. Cuanto mayor es la pérdida de agua, menor es la turgencia del fruto y, por tanto, menores los valores de resistencia a la presión. En este sentido, la propiedad de barrera al vapor de agua de los recubrimientos tiene un efecto positivo en el mantenimiento de la textura de la fruta (Sánchez-González *et al.*, 2011). Asimismo, varios autores (Maftoonazad y Ramaswamy 2005; Aguirre-Joya *et al.*, 2017; Kubheka *et al.*, 2020) demostraron que la pérdida de humedad no solo está relacionada con la pérdida de peso, sino que también se correlaciona con el ablandamiento de la fruta. El ablandamiento de la palta es el resultado de la pérdida de integridad de la membrana causada por la pérdida de peso y la actividad enzimática que hidroliza la estructura de la pared celular (Pesis *et al.*, 1978). La estructura de la membrana de la palta está formada principalmente por celulosa y hemicelulosa, además de pectinas; la hidrólisis y despolimerización de estas estructuras por enzimas como la poligalacturonasa y la pectinametilsterasa da como resultado el ablandamiento de la fruta (Bower y Cutting, 1988). Las concentraciones bajas de oxígeno y altas concentraciones de dióxido de carbono reducen las actividades de estas enzimas y permiten la retención de la firmeza de frutas y verduras durante el almacenamiento (Salunkhe *et al.*, 1991).

Autores como Jeong *et al.* (2003) también encontraron que las frutas sin recubrimiento se ablandaron rápidamente y completaron la maduración dentro de los 7 días de almacenamiento a 20°C, mientras que la fruta tratada con 1-MCP y cera SL retuvo la firmeza durante un período más prolongado. Así también, Marino *et al.* (2018) informó que se redujo la firmeza al final de 7 días de almacenamiento en frutos de palta tratados con quitosano al 1,5% y quitosano con propóleo al 1,5%, los cuales presentaron mayor valores de firmeza en

comparación con la fruta control. Además, destacaron la formación de una barrera semipermeable en las paltas con quitosano, la cual permitió mantener la firmeza tanto al reducir la pérdida de peso como por el retraso de los procesos de maduración de la fruta, de igual forma observaron Ali *et al.* (2011) y Silva *et al.* (2018).

#### **2.4. Daño externo**

Los trastornos fisiológicos ocurren cuando las paltas cv. Hass se almacenan durante más de 4 a 6 semanas aproximadamente (Woolf *et al.*, 2020). Durante el periodo de almacenamiento de 30 días a 5°C, el daño externo fue menor en los frutos recubiertos que en el control, sin embargo, se observó mayor porcentaje de fruta sin daño en los tratamientos de quitosano (75,0%) y quitosano con propóleo (66,7%). En un estudio realizado por Kahramanoğlu *et al.* (2018) descubrieron que tanto los tratamiento con aceite de semilla negra como con propóleo mantuvieron la calidad visual al retardar la pérdida de peso, prevenir el moho, y el daño por frío.

Si bien todos los tratamientos presentaron algún nivel de daño externo, cabe destacar que la mayor incidencia en la fruta control y en la fruta recubierta con cera SL se pudo deber a que particularmente las paltas fueron cosechadas luego de precipitaciones en periodo de verano. De acuerdo a Woolf *et al.* (2020) el deterioro de la fruta puede ser un problema importante, particularmente cuando se cultiva en condiciones de mayor precipitación o niebla. Estas condiciones ambientales probablemente resultarán en una presión de descomposición significativamente mayor, esto estaría directamente relacionado con la presencia de micelio presente en paltas luego de pasar un periodo simulado de comercialización.

Por otro lado, el posible daño por frío podría haberse visto en caso de existir grandes fluctuaciones en la temperatura de almacenamiento, según Woolf *et al.* (2020) el buen manejo de la temperatura es un factor crítico para la calidad del fruto de palta. La temperatura óptima es de 4 a 6°C, y temperaturas inferiores a esta pueden provocar lesiones por frío externo (daños en la piel). Mientras que temperaturas más altas o tiempos de almacenamiento prolongados provocan lesiones por frío interno (decoloración de la carne) y ablandamiento prematuro. Sin embargo, este trastorno se descartó debido que el daño por frío en paltas está asociado con una mayor pérdida de agua (pérdida de peso) (Woolf *et al.*, 2003), por ende, la menor pérdida de agua en el almacenamiento también se ha asociado con una menor incidencia de trastornos fisiológicos (Bower *et al.*, 1990; Woolf *et al.*, 2003), los cuales no concuerdan con los resultados obtenidos en la pérdida de peso y firmeza. Además, la fruta luego de 4 días a 20°C presentó notable deterioro por presencia de micelio en aquellos tratamientos con mayor incidencia de daño externo.

El hecho de que los recubrimientos con quitosano y quitosano con propóleo hayan presentado menor incidencia de daño se puede deber a las propiedades del quitosano como antibacteriano de amplio espectro y a las propiedades del propóleo como antibacteriano y antifúngico (Torlak y Sert, 2013). Así también destaca Saidi *et al.* (2021) que las matrices de recubrimientos comestibles también pueden transportar compuestos activos y proporcionar

ventajas adicionales como protección contra el deterioro y patógenos, además de mejorar las propiedades sensoriales y mejorar los valores nutricionales.

## 2.5. Daño interno

El daño interno de la pulpa de paltas se determinó mediante prueba visual para corroborar la ausencia o presencia de pulpa gris. Todos los frutos presentaron cambios en su apariencia visual externa e interna, pero las paltas con quitosano sufrieron un cambio menor en comparación con otros tratamientos, especialmente en comparación con las paltas control y recubiertas con cera SL. La mayor incidencia de daño interno se observó en el almacenamiento de 4 días a 20°C, donde la fruta con menor porcentaje de daño fue aquella recubierta con quitosano, seguido del quitosano con propóleo, aspecto que coincide con lo observado en el daño externo.

Los recubrimientos de quitosano exhiben propiedades formadoras de película (Sivakumar *et al.*, 2005), creando una atmósfera modificada alrededor del producto que mejora su vida útil, apariencia general y al mismo tiempo reduce la pérdida de peso de la fruta durante el almacenamiento (Ali *et al.*, 2011; Romanazzi *et al.*, 2017; Obianom *et al.*, 2019). Autores como Obianom *et al.* (2019), observaron este comportamiento en recubrimientos de quitosano al 1,5%, donde se retuvo significativamente la calidad general de paltas, al tiempo que redujo la descomposición postcosecha después de 28 días de almacenamiento en frío, y luego de estar 5 días a 18°C para simular el estado de conservación del mercado.

Según Saucedo-Pompa *et al.* (2009) la utilización de antioxidantes en combinación con tecnologías como recubrimientos y películas comestibles contribuyen en inhibir el pardeamiento de las frutas. Ruíz-Cruz (2002) demostró el efecto positivo de agregar diferentes antioxidantes sobre la inhibición del pardeamiento de piña recién cortada. No obstante, Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) destacaron que las posibles razones de la disminución de la actividad del extracto de propóleo incorporado en las películas de quitosano, podría deberse a una pérdida parcial de compuestos fenólicos que han interactuado estrechamente con los grupos funcionales del quitosano en la matriz de la película evitando la expresión de la acción antimicrobiana, o puede deberse a una liberación más lenta/controlada de compuestos activos de la película de quitosano.

Por otro lado, Lemmer y Kruger (2003) informaron que la incidencia de pulpa gris ocurre durante el almacenamiento en frío de la fruta debido al proceso de maduración, sin embargo, los resultados obtenidos mostraron la mayor presencia de pulpa gris en paltas almacenadas a 20°C, lo cual se podría asociar con la senescencia del fruto. Durante la maduración de la fruta, la enzima polifenoloxidasa (PPO) actúa sobre la formación de imperfecciones como el desorden de la pulpa gris en las paltas. Se recomienda que la fruta se almacene en condiciones de bajo contenido de etileno, ya que recientemente se ha demostrado que el etileno está involucrado en el desarrollo de este trastorno (Pesis *et al.*, 2002). Por otra parte, el tiempo de cosecha puede considerarse un factor clave que determina el desarrollo de trastornos fisiológicos (García-Rojas *et al.*, 2012), en este sentido, al igual que los resultados obtenidos en el daño externo, la incidencia de daño interno se podría explicar de igual manera por el momento y condición de cosecha de las paltas, observando así mayor cambio en la apariencia

en aquella fruta control y la fruta recubierta con cera SL, la cual podría no presentar buenas propiedades filmogénicas y no contar con propiedades de inhibición de microorganismos como los recubrimientos con quitosano.

## 2.6. Presencia de micelio

La presencia de micelio se manifestó principalmente en el pedúnculo y en menor cantidad como pudrición corporal. Se observó que en ambos almacenamientos hubo presencia de fruta contaminada, sin embargo, luego de 30 días a 5°C + 4 días a 20°C la fruta que presentó mayor contaminación fue el control con un 91,7%, seguido de la fruta recubierta con cera (SL) con un 66,7% de fruta afectada. Se observó un comportamiento similar obtenido en las variables de daño externo e interno, siendo el recubrimiento de quitosano aquel con mejor resultado para esta variable.

Según Woolf *et al.* (2020) las pudriciones del extremo del tallo pueden ser un problema más importante, ya que una infección tiende a hacer que una mayor parte de la pulpa sea café y el pardeamiento vascular se asocia a menudo con este tipo de ‘caries’, que decolora aún más grandes porciones de la pulpa. Los miembros del género *Botryosphaeriaceae* son la causa principal de pudrición del tallo en la palta, aunque otros hongos también pueden causar síntomas similares. Por otro lado, también destacó que las pudriciones corporales provocadas por *Colletotrichum gloeosporioides* (causante de la antracnosis), son un problema importante en condiciones de mayor precipitación y a menudo se asocia con una maduración más lenta (vida útil más larga) y períodos de almacenamiento prolongados. La incidencia de este hongo en el estudio se pudo deber a las precipitaciones presentes a los días antes de cosecha.

La antracnosis se caracteriza por presentar lesiones oscura y hundidas, circulares elipsoidales, con grandes cantidades de esporas formando masas compactas de color salmón, naranja o rosadas. La entrada del hongo al fruto puede producirse antes de la maduración y manifestar los daños cuando éste madura (Nesher *et al.*, 2008; Trinidad-Ángel *et al.*, 2017). En relación a este estudio, al observar la presencia de hongos se llevó al laboratorio de Fitopatología aquellas paltas infectadas para su identificación, obteniendo la presencia de 3 géneros, *Colletotrichum sp.*, *Penicillium sp.* y *Cladosporium sp.* (Henríquez, 2021)<sup>1</sup>. Se observó la presencia de antracnosis en frutos control y con cera para paltas (Apéndice 6). Si bien, la posible formulación de la cera (SL) contenga aceites vegetales, este tipo de recubrimientos a base de lípidos y ceras proporcionan una buena barrera al vapor de agua (concuera con los resultados obtenidos en pérdida de peso, firmeza y la tasa de respiración), sin embargo, se caracterizan por una falta de homogeneidad en su aplicación, formación de grietas, malas propiedades mecánicas y mala adherencia del producto (Zhao, 2019). Además son frágiles e inestables cuando están sujetos a cambios de temperatura (desde el almacenamiento en frío hasta las condiciones ambientales), por lo tanto, los polisacáridos, tensioactivos y otras sustancias funcionales se combinan con estos recubrimientos para mejorar el rendimiento del revestimiento a base de cera (Zhao, 2019).

---

<sup>1</sup> Henríquez, José Luis. Profesor de Fitopatología de Cultivos y Fitopatología de Postcosecha. Departamento Sanidad Vegetal. Facultad de Cs. Agronómicas, Universidad de Chile.

Por otro lado, los recubrimientos de quitosano han demostrado tener propiedades antibacterianas y antifúngica, pudiendo mejorar la apariencia de los alimentos e inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y de deterioro (Alvarez *et al.*, 2013). Bill *et al.* (2014) investigó el efecto antifúngico *in vitro* de la goma arábica (10%), el aloe vera (2%) y el quitosano (1%) solos o en combinación con aceite esencial de tomillo (1%) y observó que el quitosano y aceite de tomillo, mostraron efectos fungicidas positivos en el crecimiento de *C. gloeosporioides*. Así también, Obianom *et al.* (2019) demostraron que el quitosano al 1,5% redujo significativamente la incidencia de pudrición del tallo (20%) y antracnosis (30%) tanto en paltas inoculadas como naturalmente infectadas. Autores como Salvador *et al.* (1999) informaron que el quitosano como inhibidor del crecimiento de los microorganismos que causan la antracnosis y la pudrición del pedúnculo, se manifiesta desde la concentración de 0,25% hasta 2% de quitosano.

Una de las razones del carácter antimicrobiano del quitosano es su grupo amino cargado positivamente que interactúa con las membranas celulares microbianas cargadas negativamente (es decir, proteínas, fosfolípidos), lo que lleva a la fuga de componentes proteicos y otros componentes intracelulares de los microorganismos interfiriendo así con el crecimiento y metabolismo normal de las células de hongos (Dutta *et al.*, 2009; De Oliveira y De Oliveira Junior, 2020). Por otro lado, se ha informado en la literatura que el quitosano puede inhibir o acelerar el crecimiento bacteriano. Un factor importante que afecta la actividad antibacteriana es la concentración de quitosano, existe un valor de concentración crítico en el que la eficacia del quitosano disminuye en lugar de tener un efecto antibacteriano (Correa-Pacheco *et al.*, 2019). Es probable que estas variaciones en los métodos de preparación den lugar a diferencias en el grado de desacetilación (Tsai *et al.*, 2002), el número de grupos amino protonados ( $\text{NH}_2$ ) presentes en el quitosano aumenta con el aumento de los grados de desacetilación, lo que influye en la actividad antimicrobiana (Elsabee y Abdou, 2013).

Si bien, el quitosano tuvo cierto comportamiento antifúngico, se esperaba que la adición de un compuesto activo como el propóleo aumentara aún más esta propiedad. Autores como Siripatrawan y Vitchayakitti (2016) informaron que es posible que la interacción entre los polifenoles del propóleo y el quitosano provocaron una disminución del contacto entre las células bacterianas y las moléculas polifenólicas y esto podría conducir a una menor actividad antibacteriana y antifúngica. Además, el propóleo también se compone de ceras, aceites esenciales y diversos compuestos orgánicos, la interacción química entre los compuestos fenólicos y dichos constituyentes químicos pueden dificultar la difusión o liberación de compuestos fenólicos antimicrobianos a la matriz de la película para inhibir microorganismos.

## **2.7. Tasa respiratoria**

Los resultados obtenidos mostraron que la fruta recubierta tuvo una menor tasa de respiración en relación al control, el cual presentó el mayor peak el día 14 de almacenamiento en frío con  $40,8 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , así también, se observó que no tuvo diferencias significativas con el tratamiento quitosano + propóleo, teniendo en general un comportamiento similar al control, con su mayor alza de  $\text{CO}_2$  también el día 14 con  $37,1 \text{ mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . En ambos

tratamientos se observó un aumento gradual en la tasa de respiración durante el almacenamiento postcosecha, siguiendo el comportamiento que tiene una fruta climatérica como la palta. La respiración de las paltas sigue tres etapas climatéricas características: preclimaterio de mínima respiración, climatérico de máxima respiración y una etapa posclimaterio de disminución de la respiración. Es durante las etapas preclimatérica y climatérica donde ocurren muchos de los cambios asociados con la maduración (Pérez *et al.*, 2004).

Por otro lado, la fruta recubierta con la cera SL mostró la mayor disminución en emisión de CO<sub>2</sub>, resultados que se relacionarían a su comportamiento con la pérdida de peso y firmeza. Según Zhao, (2019) los recubrimientos en base cera comestible generan una atmósfera modificada al crear una barrera semipermeable contra el oxígeno, el dióxido de carbono, la humedad y el movimiento de solutos, controlando así los intercambios de humedad, gases y solutos con el medio ambiente (Zhao, 2019). Autores como Johnston y Banks (1998) informaron que de seis diferentes recubrimientos de superficie utilizados en palta 'Hass' para estudiar las características de intercambio de gases a 20°C, la "cera de paltas" proporcionó el mayor nivel de beneficio (reducción de la pérdida de humedad y mayor brillo). Por otra parte, Wu *et al.* (2002) también observaron una disminución de la tasa respiratoria de CO<sub>2</sub> en frutas recubiertas con películas de características hidrofóbicas.

En cuanto al comportamiento de la fruta recubierta con quitosano, se observó una disminución significativa en la emisión de CO<sub>2</sub> en relación al control (hasta el día 16 que tuvo el peak de respiración). Este polímero se caracteriza por formar una película semipermeable que regula el intercambio de gases y reduce las pérdidas por transpiración; por tanto, retrasa la maduración de la fruta (de Oliveira y de Oliveira Junior, 2020). Además de la inhibición del CO<sub>2</sub> resultante del recubrimiento de quitosano, también se reduce la producción de etileno de las frutas. Muchos estudios han informado que el recubrimiento de quitosano generalmente reduce las tasas de respiración y las pérdidas de agua en diferentes frutas, entre ellas pepino, tomates, pimientos, etc (El Ghaouth *et al.*, (1991); El Ghaouth *et al.*, (1992); de Oliveira y de Oliveira Junior, 2020). Si bien, las películas de quitosano tienen una permeabilidad selectiva a los gases (CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>) y buenas propiedades mecánicas, el hecho de que estas películas sean altamente permeables al vapor de agua limita su uso, normalmente es deseable una baja permeabilidad al vapor de agua para evitar procesos de deshidratación durante el almacenamiento de la fruta (Elsabee y Abdou, 2013). La adición de materiales lipídicos a los recubrimientos hidrófilos a veces puede mejorar sus propiedades de barrera contra la humedad (Amarante y Banks, 2001).

Por otra parte, el recubrimiento en base a quitosano-propóleo tuvo un comportamiento similar al control, lo cual no se esperaba dada la adición de propóleo, otorgando así propiedades más similares a una cera o lípidos. Según Bertan *et al.* (2005) la adición de lípidos implica un aumento de la permeabilidad al oxígeno debido a la naturaleza hidrofoba de los lípidos. Sin embargo, Siripatrawan y Vitchayakitti (2016), informaron que la adición de un extracto de propóleo posiblemente dio como resultado un aumento de las interacciones entre los monómeros de quitosano, endureciendo las interacciones de cadena a cadena del polímero y, en consecuencia, condujo a una disminución de la permeabilidad al oxígeno. Por otro lado, según Elsabee y Abdou, (2013) la permeabilidad a los gases de las películas y

recubrimientos comestibles dependen de varios factores como la integridad de la película, la relación entre las zonas cristalina y amorfa, la relación hidrófilo-hidrófobo y la movilidad de la cadena polimérica; la interacción entre el polímero formador de película y la presencia de un plastificante u otros aditivos también son factores importantes en la permeabilidad de la película (Garcia *et al.*, 2000).

En relación al peak observado al final del periodo analizado estaría directamente relacionado con la presencia de hongos en la fruta. Se ha demostrado que la respiración es una de las primeras funciones que se ve afectada cuando las frutas se infectan con patógenos y aumenta con la gravedad de la enfermedad. El aumento de la frecuencia respiratoria aparece poco después de la infección, ciertamente se vuelve obvio en el momento de la aparición de los síntomas visibles y continúa aumentando durante la multiplicación y propagación del patógeno (Nourian *et al.*, 2002; Maftoonazad *et al.*, 2007). Resultados similares presentó Taslima *et al.* (2020) en frutos de cítricos, las heridas, la pudrición y el marchitamiento severo estimularon la respiración y la producción de etileno.

## CONCLUSIONES

Respecto a la formulación y evaluación de recubrimientos, la mezcla de quitosano con 10 mL de propóleo presenta las mejores propiedades formadoras de películas, dentro de las cuales destaca el alto porcentaje de elongación.

La aplicación de un recubrimiento polimérico a base de propóleo permite extender la vida útil de paltas cv. Hass. Este recubrimiento presentó, respecto a la fruta sin recubrir, inferior daño externo e interno, una disminución en el pardeamiento interno y menor incidencia fúngica. Sin embargo, se requiere realizar otras investigaciones para optimizar su aplicación en paltas y, a su vez, extender su aplicación a otras frutas y alimentos.

Los recubrimientos más recomendados para paltas cv. Hass son la cera comercial (SL) y quitosano (Q) ya que, la cera mostró el mayor control de la tasa de respiración, menor pérdida de peso y mayor firmeza luego de ambos periodos de almacenamiento. En cambio, el quitosano mostró menor variación de color, la menor incidencia de daño externo, interno y menor presencia de micelio.

Por lo tanto, la aplicación de estos recubrimientos en productos alimenticios es una alternativa prometedora para aumentar la vida útil de dichos productos en el futuro.

**LITERATURA CITADA**

- Abugoch, L., C. Tapia, M. Villamán, M. Yazdani-Pedram, and M. Díaz-Dosque. 2011. Characterization of quinoa protein–chitosan blend edible films. *Food Hydrocolloids* 25(5): 879-886.
- Aguirre-Joya, J., J. Ventura-Sobrevilla, G. Martínez-Vazquez, X. Ruelas-Chacón, R. Rojas, R. Rodríguez-Herrera, and C. Aguilar. 2017. Effects of a natural bioactive coating on the quality and shelf life prolongation at different storage conditions of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass. *Food Packaging and Shelf Life* 14:102-107.
- Aguilar-Méndez, M., E. Martín-Martínez, S. Tomás, A. Cruz-Orea, and M. Jaime-Fonseca. 2008. Gelatine–starch films: Physicochemical properties and their application in extending the post-harvest shelf life of avocado (*Persea americana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(2):185-193.
- Ali, A., M. Muhammad, K. Sijam, and Y. Siddiqui. 2011. Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food chemistry*, 124(2):620-626.
- Alvarez, M., A. Ponce, and M. Moreira. 2013. Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. *LWT-Food Science and Technology* 50(1):78-87.
- Amarante, C. and N. Banks. 2002. Ripening behaviour, postharvest quality, and physiological disorders of coated pears (*Pyrus communis*). *New Zealand journal of crop and horticultural science*, 30(1):49-59.
- Ancos, B., D. González-Peña, C. Colina-Coca, C. Sánchez-Moreno. 2015. Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 16(1):8-17.
- Arrieta, M., M. Peltzer, J. López, M. del Carmen Garrigós, A. Valente, and A. Jiménez. 2014. Functional properties of sodium and calcium caseinate antimicrobial active films containing carvacrol. *Journal of Food Engineering* 121:94-101.
- Bartoli, A., and J. Angel. 2008. Manual técnico del cultivo de aguacate Hass (*Persea americana* L.). Fundación Hondureña de Investigación Agrícola 1-29.
- Bertan, L., P. Tanada-Palmu, A. Siani, and C. Grosso. 2005. Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. *Food hydrocolloids*, 19(1):73-82.
- Bill, M., D. Sivakumar, L. Korsten, and A. Thompson. 2014. The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection* 64:159-167.
- Bodini, R., P. Sobral, C. Fávoro-Trindade, and R. Carvalho. 2013. Properties of gelatin-based films with added ethanol–propolis extract. *Food Science and Technology* 51(1):104-110.

Bouchez, M. 2003. Efecto de cubiertas de quitosano con características hidrofóbicas en la vida de anaquel de zanahorias mínimamente procesadas. Tesis Licenciatura. Ingeniería de Alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Escuela de Ingeniería, Universidad de las Américas Puebla, México.

Bower, J., A. Truter, and J. Cutting. 1990. Container atmosphere, as influencing some physiological browning mechanisms in stored Fuerte avocados. In Symposium on Tropical Fruit in International Trade 269:315-322

Bower, J. and J. Cutting. 1988. Avocado fruit development and ripening physiology. Horticultural reviews 10(1982):229-271.

Bower, J. and L. Magwaza. 2004. Effect of coatings and packaging on external and internal quality with emphasis on "cold injury". South African Avocado Growers' Association Yearbook 27:35-39.

Brindle, L. J. Krochta. 2008. Physical properties of whey proteinhydroxypropylmethylcellulose blend edible films. Journal of food Science E: Food Engineering and Physical Properties 73(9):446-545.

Campos, C., L. Gerschenson, and S. Flores. 2011. Development of edible films and coatings with antimicrobial activity. Food Bioprocess Technology 4(6):849-875.

Cavaco, A., C. Cruz, A. Ferreira, M. Guia, M. Antunes, and M. Miguel. 2008. Pigments, protein and activity of antioxidant enzymes in propolis collected at various sites of Algarve. Avances en maduración y post-recolección de frutas y hortalizas 286-293.

Correa-Pacheco, Z., S. Bautista-Baños, M. de Lorena Ramos-García, M. del Carmen Martínez-González, and J. Hernández-Romano. 2019. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticle films. Progress in Organic Coatings 137:105326.

De Oliveira, A. and E. De Oliveira Junior. 2020. Antifungal and filmogenic properties of micro-and nanostructures of chitosan and its derivatives. In *Nanomycotoxicology* 397-421.

De Oliveira Filho, J., J. Rodrigues, A. Valadares, A. de Almeida, T. de Lima, K. Takeuchi, C. Fernandez, H. De Figueiredo, E. Da Silva, F. Henrique, and M. Egea. 2019. Active food packaging: Alginate films with cottonseed protein hydrolysates. Food hydrocolloids 92:267-275.

Dou, L., B. Li, K. Zhang, X. Chu, and H. Hou. 2018. Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. International journal of biological macromolecules 118:1377-1383.

Dutta, P., S. Tripathi, G. Mehrotra, and J. Dutta. 2009. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. Food Chemistry 114(4):1173-1182.

El Ghaouth, A., J. Arul, R. Ponnampalam, and M. Boulet. 1991. Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumber and bell pepper fruits. *Journal of food processing and preservation*, 15(5):359-368.

El Ghaouth, A., R. Ponnampalam, F. Castaigne, and J. Arul. 1992. Chitosan coating to extend the storage life of tomatoes. *HortScience*, 27(9):1016-1018.

El-Hefian, E., M. Nasef, and A. Yahaya. 2012. Preparation and characterization of chitosan/agar blended films: Part 1. Chemical structure and morphology. *E-journal of Chemistry* 9(3):1431-1439.

Elsabee, M., and E. Abdou. 2013. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering:C* 33(4):1819-1841.

Fabra, M., P. Talens, and A. Chiralt. 2009. Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. *Food Hydrocolloids* 23(3):676-683.

Fabra, M., P. Talens, A. Chiralt. 2008. Tensile properties and water vapor permeability. Tensile properties and water vapor permeability of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures. *Journal of Food Engineering* 85(3):393-400.

Fan, Y., Y. Xu, D. Wang, L. Zhang, J. Sun, L. Sun, and B. Zhang. 2009. Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria × ananassa*) preservation quality. *Postharvest Biology and Technology* 53(1):84-90.

FAO. 2003. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Santiago, Chile. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/006/Y4893S/y4893s06.htm> (Consultado en Julio de 2018).

Farre, R., I. Frasquet, and A. Sanchez. 2004. Propolis and human health. *Ars Pharmaceutica* 45(1):21-43.

Fonseca, L., A. Henkes, G. Bruni, L. Viana, C. de Moura, W. Flores, and A. Galio. 2018. Fabrication and characterization of native and oxidized potato starch biodegradable films. *Food Biophysics*, 13(2):163-174.

Fontes, L., S. Sarmiento, y M. Spoto. 2007. Características sensoriais e microbiológicas de maçãs minimamente processadas recobertas com películas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 27(1):91-98.

Galus, S., and A. Lenart. 2013. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering* 115(4):459-465.

Gao, W., J. Zhu, X. Kang, B. Wang, P. Liu, B. Cui, and A. Abd El-Aty. 2021. Development and characterization of starch films prepared by extrusion blowing: the synergistic plasticizing effect of water and glycerol. *LWT*, 111820.

Garcia, M., M. Martino and N. Zaritzky. 2000. Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. *Journal of food science* 65(6):941-944.

García-Rojas, M., O. Gudenschwager, B. Defilippi, and M. González-Agüero. 2012. Identification of genes possibly related to loss of quality in late-season 'Hass' avocados in Chile. *Postharvest biology and technology* 73:1-7.

Geraldine, R., N. Soares, D. Botrel, and L. de Almeida Gonçalves. 2008. Characterization and effect of edible coatings on minimally processed garlic quality. *Carbohydrate polymers* 72(3):403-409.

Gol, N., P. Patel, and T. Rao. 2013. Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biology and Technology* 85:185-195.

Hazrati, K., S. Sapuan, M. Zuhri, and R. Jumaidin. 2021. Effect of plasticizers on physical, thermal, and tensile properties of thermoplastic films based on *Dioscorea hispida* starch. *International Journal of Biological Macromolecules*. 183:219-228

Jayasekara, R., I. Harding, I. Bowater, G. Christie, and G. Lonergan. 2004. Preparation, surface modification and characterisation of solution cast starch PVA blended films. *Polymer testing* 23(1): 17-27.

Jeong, J., D. Huber, and S. Sargent. 2003. Delay of avocado (*Persea americana*) fruit ripening by 1-methylcyclopropene and wax treatments. *Postharvest Biology and Technology* 28(2):247-257.

Johnston, J. and N. Banks. 1998. Selection of a surface coating and optimization of its concentration for use on 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 26(2):143-151.

Juliano, C., C. Pala, and M. Cossu. 2007. Preparation and characterization of polymeric films containing propolis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 17(3):177-181.

Kahramanoğlu, İ., M. Aktaş, and Ş. Gündüz. 2018. Effects of fludioxonil, propolis and black seed oil application on the postharvest quality of "Wonderful" pomegranate. *PLoS One*, 13(5):e0198411.

Kanmani, P., and S. Lim. 2013. Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food chemistry* 141(2):1041-1049.

Karbowiak, T., F. Debeaufort, D. Champion, and A. Voilley, A. 2006. Wetting properties at the surface of iota-carrageenan-based edible films. *Journal of colloid and interface science* 294(2):400-410.

Kerch, G., and V. Korkhov. 2011. Effect of storage time and temperature on structure, mechanical and barrier properties of chitosan-based films. *European Food Research and Technology* 232(1):17-22.

- Kester, J. and O. Fennema. 1986. Edible films and coatings: a review. Food technology (USA).
- Krainer, S., and U. Hirn. 2021. Contact angle measurement on porous substrates: Effect of liquid absorption and drop size. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 619:126503.
- Kubheka, S., S. Tesfay, A. Mditshwa, and L. Magwaza. 2020. Evaluating the Efficacy of Edible Coatings Incorporated with Moringa Leaf Extract on Postharvest of 'Maluma' Avocado Fruit Quality and Its Biofungicidal Effect. *HortScience* 55(4):410-415.
- Kumazawa, S., H. Goto, T. Hamasaka, S. Fukumoto, T. Fujimoto, and T. Nakayama. 2004. A new prenylated flavonoid from propolis collected in Okinawa, Japan. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 68(1):260-262.
- Lemmer, D. and F. Kruger. 2003. Laboratory based evaluation of 1-methylcyclopropene (1-MCP): with five South African commercial export avocado cultivars. In *Proceedings of the Fifth World Avocado Congress, Malaga, Spain* 611-616
- Maftoonazad, N., and H. Ramaswamy. 2008. Effect of pectin-based coating on the kinetics of quality change associated with stored avocados. *Journal of food processing and preservation*, 32(4):621-643.
- Maftoonazad, N., H. Ramaswamy, M. Moalemiyan and A. Kushalappa. 2007. Effect of pectin-based edible emulsion coating on changes in quality of avocado exposed to *Lasiodiplodia theobromae* infection. *Carbohydrate Polymers*, 68(2):341-349.
- Maftoonazad, N. and H. Ramaswamy. 2005. Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT-Food Science and Technology* 38(6):617-624.
- Mancini, F., and T.H. McHugh. 2000. Fruit-alginate interactions in novel restructured products. *Molecular Nutrition and Food Research*, 44(3):152-157.
- Maniglia, B., D. Laroque, L. de Andrade, B. Carciofi, J. Tenório, and C. Andrade. 2019. Production of active cassava starch films; effect of adding a biosurfactant or synthetic surfactant. *Reactive and Functional Polymers* 144:104368.
- Marino, A., J. Junior, K. Magalhães, and B. Mattiuz. 2018. Chitosan-propolis combination inhibits anthracnose in 'Hass' avocados. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 681-687.
- Mendez, D., J. Quintero, H. Váquiro, J. Solanilla. 2014. Alginato de sodio en el desarrollo de películas comestibles. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 5(2):89-113.
- Mendieta, B., J. Olaeta, R. Pedreschi, and P. Undurraga. 2016. Reduction of cold damage during cold storage of Hass avocado by a combined use of pre-conditioning and waxing. *Scientia Horticulturae*, 200:119-124.

- Monedero, F., M. Fabra, P. Talens, A. Chiralt. 2009. Effect of oleic acid-beeswax mixtures on mechanical, optical and water barrier properties of soy protein isolate based films. *Journal of Food Engineering* 95:509–515.
- Mujtaba, M., R. Morsi, G. Kerch, M. Elsabee, M. Kaya, J. Labidi, and K. Khawar. 2019. Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International journal of biological macromolecules*, 121:889-904.
- Navarro-Tarazaga, 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. Tesis doctorado. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- NCh1151.Of76. 1999. Norma Chilena Oficial: Láminas y películas plásticas – Determinación de las propiedades de tracción. 13.
- Nesher, I., S. Barthoom, and A. Sharon. 2008. Cell cycle and cell death are not necessary for appressorium formation and infection in the fungal plant pathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *BMC. Biology* 6(9):1-11.
- Nourian, F., A. Kushalappa, and H. Ramaswamy. 2002. Physical, physiological and chemical changes in potato as influenced by *Erwinia carotovora* infection. *Journal of food processing and preservation* 26(5):339-359.
- Nunthanid, J., S. Puttipipatkachorn, K. Yamamoto, and G. Peck. 2001. Physical properties and molecular behavior of chitosan films. *Drug development and industrial pharmacy* 27(2): 143-157.
- Obianom, C., G. Romanazzi, and D. Sivakumar. 2019. Effects of chitosan treatment on avocado postharvest diseases and expression of phenylalanine ammonia-lyase, chitinase and lipoxygenase genes. *Postharvest biology and technology* 147:214-221.
- Olivas, G., and G. Barbosa-Cánovas. 2008. Alginate–calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT-Food science and technology* 41(2):359-366.
- Pastor, C., L. Sánchez-González, A. Marcilla, A. Chiralt, M. Cháfer, and C. González-Martínez. 2010. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content. *Carbohydrate Polymers* 82(4):1174-1183.
- Park, S., K. Marsh, and J. Rhim. 2002. Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science* 67(1):194-197.
- Perdones, A., L. Sánchez-González, A. Chiralt, and M. Vargas. 2012. Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest biology and technology* 70:32-41.

- Pérez, K., J. Mercado, and H. Soto-Valdez. 2004. Note. Effect of storage temperature on the shelf life of Hass avocado (*Persea americana*). *Food science and technology international* 10(2):73-77.
- Pesis, E., M. Ackerman, R. Ben-Arie, O. Feygenberg, X. Feng, A. Apelbaum, R. Goren, and D. Prusky. 2002. Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24(2):171-181.
- Pesis, E., Y. Fuchs, and G. Zauberman. 1978. Cellulase activity and fruit softening in avocado. *Plant Physiology* 61(3):416-419.
- Pinotti, A., M. García, M. Martino, and N. Zaritzky. 2007. Study on microstructure and physical properties of composite films based on chitosan and methylcellulose. *Food Hydrocolloids* 21(1):66-72.
- Quintavalla, S., and L. Vicini. 2002. Antimicrobial food packaging in meat industry. *Meat science* 62(3):373-380.
- Rbihi, S., A. Aboulouard, L. Laallam, and A. Jouaiti. 2020. Contact Angle Measurements of Cellulose based Thin Film composites: wettability, surface free energy and surface hardness. *Surfaces and Interfaces*, 21:100708.
- Rebaza, R., L. Amaya, A. Gutiérrez, R. Haro, M. Tumbajulca, F. Valera, Y. Vargas, G. Barraza-Jauregui, J. León, y J. Sánchez-González. 2016. Aplicación del propóleo en envasado activo. *Agroindustrial Science* 6(2):239-252.
- Rhim, J. 2004. Physical and mechanical properties of water resistant sodium alginate films. *LWT-Food Science and Technology* 37(3):323-330.
- Romanazzi, G., E. Feliziani, S. Baños, and D. Sivakumar. 2017. Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical reviews in food science and nutrition* 57(3):579-601.
- Ruíz-Cruz, S. (2002). Uso de agentes antioxidantes y envasado en atmósferas modificadas para mantener la calidad de rodajas de piña fresca (Doctoral dissertation, MSc Thesis, CIAD, AC Hermosillo, Sonora, Mexico). Salvador, L., S. Miranda, N. Aragón, and V. Lara. 1999. Recubrimiento de quitosán en aguacate. *Journal of the Mexican Chemical Society* 43(1):18-23.
- Saidi, L., D. Duanis-Assaf, O. Galsarker, D. Maurer, N. Alkan, and E. Poverenov. 2021. Elicitation of fruit defense response by active edible coatings embedded with phenylalanine to improve quality and storability of avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology* 174:111442.
- Sánchez-González, L., C. Pastor, M. Vargas, A. Chiralt, C. González-Martínez, and M. Cháfer. 2011. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and

without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest biology and technology* 60(1): 57-63.

Sánchez-González, L., M. Vargas, C. González-Martínez, A. Chiralt, and M. Cháfer. 2009. Characterization of edible films based on hydroxypropylmethylcellulose and tea tree essential oil. *Food Hydrocolloids* 23(8):2102-2109.

Saucedo-Pompa, S., R. Rojas-Molina, A. Aguilera-Carbó, A. Saenz-Galindo, H. de La Garza, D. Jasso-Cantú, and C. Aguilar. 2009. Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International* 42(4):511-515.

Shahrampour, D., M. Khomeiri, S. Razavi, and M. Kashiri. 2019. Development and characterization of alginate/pectin edible films containing *Lactobacillus plantarum* KMC 45. *LWT*:108758.

Silva, W., G. Silva, D. Santana, A. Salvador, D. Medeiros, I. Belghith, N. Martins da Silva, M. Menezes and G. Misobutsi. 2018. Chitosan delays ripening and ROS production in guava (*Psidium guajava* L.) fruit. *Food Chemistry* 242:232-238.

Sivakumar, D., Y. Sultanbawa, N. Ranasingh, P. Kumara and R. Wijesundera. 2005. Effect of the combined application of chitosan and carbonate salts on the incidence of anthracnose and on the quality of papaya during storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(4):447-452.

Siripatrawan, U., and W. Vitchayakitti. 2016. Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocolloids* 61:695-702.

Salunkhe, D., H. Bolin, and N. Reddy. 1991. Storage, processing, and nutritional quality of fruits and vegetables. Volume I. Fresh fruits and vegetables (No. Ed. 2). CRC press.

Suyatma, N., L. Tighzert, A. Copinet, and V. Coma. 2005. Effects of hydrophilic plasticizers on mechanical, thermal, and surface properties of chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(10):3950-3957.

Tesfay, S., L. Magwaza, N. Mbili, and A. Mditshwa. 2017. Carboxyl methylcellulose (CMC) containing moringa plant extracts as new postharvest organic edible coating for Avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Scientia Horticulturae*, 226:201-207.

Tesfay, S. and L. Magwaza. 2017. Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, chitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Food Packaging and Shelf Life* 11:40-48.

Tharanathan, R. and F Kittur. 2003. Chitin the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews Food Science and Nutrition* 43:61-67.

Torlak, E., and D. Sert. 2013. Antibacterial effectiveness of chitosan–propolis coated polypropylene films against foodborne pathogens. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60:52-55.

Trinidad-Ángel, E., F. Ascencio-Valle, J. Ulloa, J. Ramírez-Ramírez, J. Ragazzo-Sánchez, M. Calderón-Santoyo, and P. Bautista Rosales. 2017. Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en aguacate Nayarit, México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19):3953-3964.

Tsai, G, W. Su, H. Chen, and C. Pan. 2002. Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments. *Fisheries science* 68(1):170-177.

Valenzuela, C., L. Abugoch, and C. Tapia. 2013. Quinoa protein–chitosan–sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. *LWT-Food Science and Technology* 50(2):531-537.

Valenzuela, C., C. Tapia, L. López, A. Bungler, V. Escalona, and L. Abugoch. 2015. Effect of edible quinoa protein-chitosan based films on refrigerated strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality. *Electronic Journal of Biotechnology* 18:406-411.

Vargas, M., A. Albors, A. Chiralt, and C. González-Martínez. 2009. Characterization of chitosan–oleic acid composite films. *Food Hydrocolloids* 23(2):536-547.

Vargas, M., A. Albors, A. Chiralt, and C. González-Martínez. 2006. Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings. *Postharvest biology and technology*, 41(2):164-171.

Velickova, E., E. Winkelhausen, S. Kuzmanova, V. Alves, and M. Moldão-Martins. 2013. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *Food Science and Technology* 52(2):80-92.

Villalobos-Carvajal, R., P. Hernández-Muñoz, A. Albors, and A. Chiralt. 2009. Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactants applied to fresh cut carrot slices. *Food Hydrocolloids* 23(2):526-535.

Wang, K., K. Wu, M. Xiao, Y. Kuang, H. Corke, X. Ni, and F. Jiang. 2017. Structural characterization and properties of konjac glucomannan and zein blend films. *International journal of biological macromolecules*, 105:1096-1104.

Ward, G., and A. Nussinovitch. 1996. Gloss properties and surface morphology relationships of fruits. *Journal of Food Science* 61(5):973-977.

Woolf, A., C. Requejo-Tapia, K. Cox, R. Jackman, A. Gunson, M. Arpaia, and A. White. 2005. 1-MCP reduces physiological storage disorders of ‘Hass’ avocados. *Postharvest Biology and Technology* 35(1):43-60.

- Woolf, A., K. Cox, A. White and I. Ferguson. 2003. Low temperature conditioning treatments reduce external chilling injury of 'Hass' avocados. *Postharvest Biology and Technology*, 28(1):113-122.
- Woolf, A., M. Arpaia, B. Defilippi, and J. Bower. 2020. Subtropical fruits: Avocados. In *Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce* 389-397.
- Wu, Y., C. Weller, F. Hamouz, S. Cuppett, and M. Schnepf. 2002. Development and application of multicomponent edible coatings and films: A review.
- Xu, J., R. Xia, L. Zheng, T. Yuan, and R. Sun. 2019. Plasticized hemicelluloses/chitosan-based edible films reinforced by cellulose nanofiber with enhanced mechanical properties. *Carbohydrate polymers* 224:115164.
- Yahia, E. y A. Woolf. 2011. Avocado (*Persea americana* Mill.). p. 125-185. In: Yahia, E. (Ed). *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits: açai to citrus*. Vol. 2. Woodhead Publishing. Sawston, Cambridge, UK.
- Zabaiou, N., A. Fouache, A. Trousson, S. Baron, A. Zellagui, M. Lahouel, and J. Lobaccaro. 2017. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids* 207:214-222.
- Zhao, Y. 2019. Edible coatings for extending shelf-life of fresh produce during postharvest storage. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability* 2:506-510
- Ziani, K., J. Oses, V. Coma, and J. Maté. 2008. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. *Food Science and Technology* 41(10):2159-2165.

## APÉNDICE

**Apéndice 1.** Efecto de los recubrimientos en el contenido de materia seca en paltas cv. Hass durante la caracterización inicial, 30 días a 5°C de almacenamiento y luego transferidos 4 días a temperatura ambiente (20°C).

Tratamientos	Materia seca (%)		
	Inicial	30d a 5°C	30d a 5°C + 4d a 20°C
C	24,9 ns	25,1 ns	29,0 ns
Q	24,9	29,6	26
Q+P	24,9	24,4	25,3
SL	24,9	24,2	25,9

ns: no significativo para el componente de materia seca, según la prueba de LSD Fisher ( $p \leq 0,05$ ). Los valores corresponden a la media ( $n=12$ )  $\pm$  D.E.

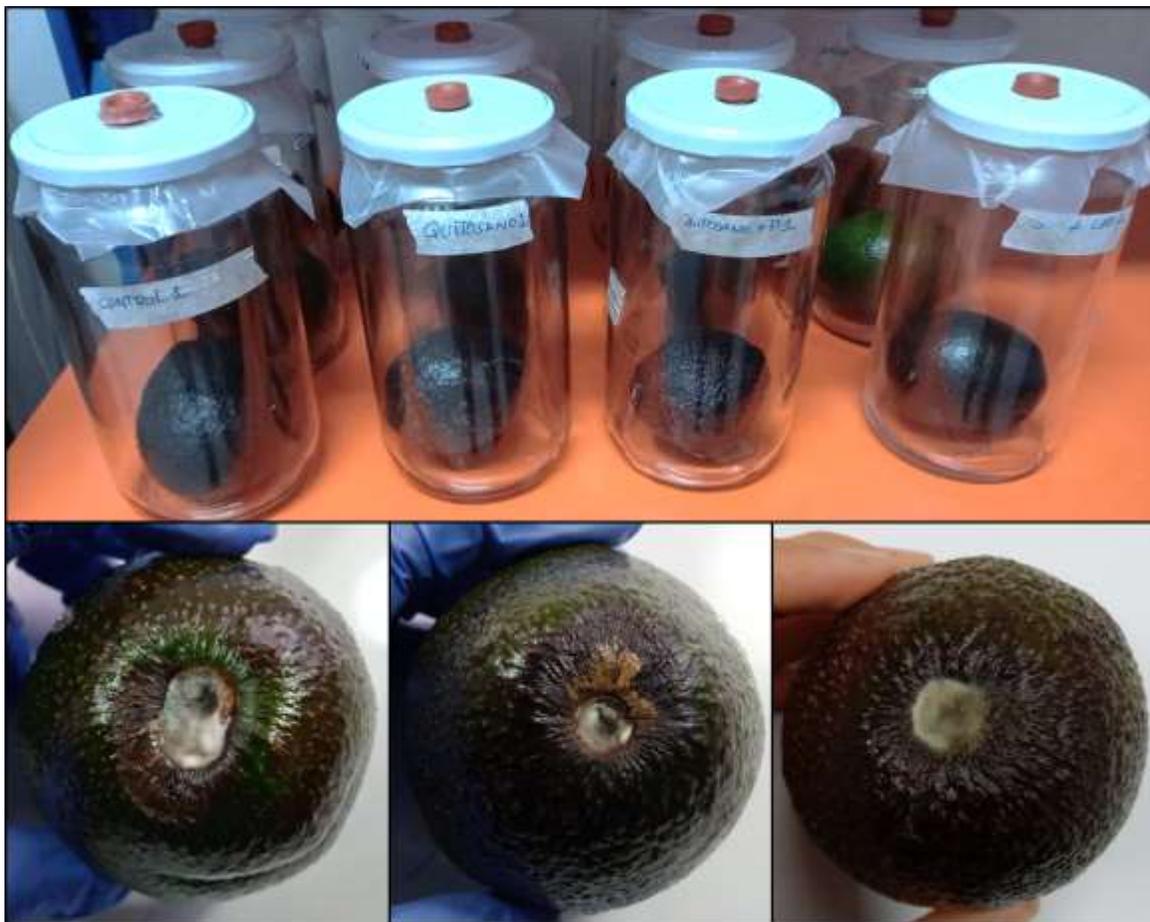
**Apéndice 2.** Medición de materia seca (A) y firmeza (B) en frutos de palta cv. Hass durante la caracterización inicial.



**Apéndice 3.** Montaje del ensayo 2. (A) Desinfección con hipoclorito de sodio; (B) aplicación y secado de recubrimientos en paltas.



**Apéndice 4.** Presencia de pudrición peduncular en frutos de palta cv. Hass al estar almacenados a 10°C durante la medición de la tasa de respiración de los distintos tratamientos.



**Apéndice 5.** Apariencia líquida y coloración de la cera para paltas Shel-life® (SL).



**Apéndice 6.** Presencia de Antracnosis en frutos de paltas cv. Hass recubiertos con cera (SL) y frutos sin recubrir.



**Control**

**Cera (SL)**