

Aceite esencial de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) como agente antifúngico en recubrimientos comestibles aplicados a zapallo (*Cucurbita maxima*) mínimamente procesado

Essential oil turmeric (*Curcuma longa*) antifungal agent as in edible coatings applied to pumpkin minimally processed

July Alexandra Campo Velasco Pedro Vanegas Mahecha y Margarita María Andrade-Mahecha*

Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Ingeniería, Cra. 32 No. 12-00 Chapinero, Palmira, Valle del Cauca, Colombia
(*E-mail: mmandradem@unal.edu.co)
<http://dx.doi.org/10.19084/RCA16130>

Recibido/received: 2016.10.06
Recibido en versión revisada/received in revised form: 2017.02.06
Aceptado/accepted: 2017.03.08

RESUMEN

La cúrcuma (*Curcuma longa* L.), es una planta de origen asiático, cuyos compuestos volátiles presentan interés por su efecto antimicrobiano. Diferentes estudios han reportado la incorporación de aceites esenciales en recubrimientos comestibles aplicados a vegetales para su conservación. El objetivo de este estudio fue evaluar el aceite esencial de rizomas de cúrcuma como agente antifúngico en un recubrimiento comestible aplicado en zapallo mínimamente procesado. El efecto antifúngico sobre *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. fue evaluado *in vitro*. Posteriormente, se aplicó un recubrimiento comestible a base de almidón de achira (*Canna indica* L.) conteniendo aceite esencial de cúrcuma en zapallo mínimamente procesado. Los parámetros de calidad (pH, acidez, firmeza, pérdida de peso, contenido de β -caroteno y color) se evaluaron a los días 0, 4, 8, 12 y 15 de almacenamiento a temperaturas de $6\pm 2^\circ\text{C}$. Los resultados indicaron que el aceite de cúrcuma presentó alta inhibición sobre *Cladosporium* sp. (41,6%) y *Penicillium* sp. (60,3%). La aplicación del recubrimiento comestible, presentó mejores resultados, en firmeza (78,73 N), contenido de β -caroteno ($6,123 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y parámetros de color. Mostrando que el tratamiento con recubrimiento mantuvo la calidad del zapallo mínimamente procesado por 15 días. Estos resultados demuestran el potencial del aceite esencial de rizomas de cúrcuma como agente conservante natural en el desarrollo de recubrimientos comestibles.

Palabras clave: cúrcuma, antifúngico, recubrimiento comestible, zapallo, almidón, achira.

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma longa* L.), is a plant of Asian origin, whose volatile compounds are interested in its antimicrobial effect. Different studies have reported the incorporation of essential oils in edible coatings applied to vegetables for their conservation. The objective of this study was to evaluate the essential oil of turmeric rhizomes as antifungal agent in an edible coating applied in minimally processed squash. The antifungal effect on *Penicillium* sp. and *Cladosporium* sp. was evaluated *in vitro*. Subsequently, an edible coating based on achira starch (*Canna indica* L.) was applied containing turmeric essential oil in minimally processed squash. Quality parameters (pH, acidity, firmness, weight loss, β -carotene content and color) were evaluated at storage days 0, 4, 8, 12 and 15 at temperatures of $6\pm 2^\circ\text{C}$. The results indicated that turmeric oil showed high inhibition on *Cladosporium* sp. (41.6%) and *Penicillium* sp. (60.3%). The application of the edible coating presented better results, in firmness (78.73 N), content of β -carotene ($6,123 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and color parameters. Showing that the coating treatment maintained the quality of the minimally processed pumpkin for 15 days. These results demonstrate the potential of the essential oil of turmeric rhizomes as a natural preservative in the development of edible coatings.

Keywords: turmeric, antifungal, edible coating, pumpkin, achira starch.

INTRODUCCIÓN

Algunos aceites esenciales de plantas aromáticas y medicinales presentan notable bioactividad y un efecto inhibidor sobre bacterias, hongos, virus, protozoos, insectos y plantas, atrayendo la atención de la industria farmacéutica, cosmética y de alimentos, por sus posibles aplicaciones (Kalemba y Kunicka, 2003; Burt, 2004). Dado que los aceites esenciales despiertan gran interés por su disponibilidad y la baja toxicidad que pueden causar, en comparación con los antibióticos, es importante evaluar el efecto que pueden tener contra microorganismos patógenos en alimentos (Burt, 2004). El aceite extraído de rizomas de *Curcuma longa* reporta actividad sobre hongos y bacterias (Martínez *et al.*, 2012).

Diferentes estudios se han enfocado en desarrollar alternativas de protección para alimentos, empleando películas y recubrimientos con actividad antimicrobiana. Algunas investigaciones incluyen el uso de aceites esenciales para tal fin (Martínez *et al.*, 2013). Estudios orientados al uso de recubrimientos comestibles a base de polisacáridos, proteínas y/o lípidos, entre otros (Bosquez, 2003; Tapia *et al.*, 2007; Ávila y López, 2008; Rojas-Grau *et al.*, 2009; Duan *et al.*, 2011; Hassani *et al.*, 2012), han demostrado el potencial de estos recubrimientos para mantener las características de calidad y prolongar la vida útil del producto inhibiendo la migración de oxígeno, CO₂, humedad y otros solutos (Chiumarelli y Hubinger, 2012; Sonti, 2003). Los recubrimientos comestibles pueden ser aplicados de forma directa sobre la superficie del alimento; estudios recientes sobre el desarrollo de recubrimientos comestibles a base de plátano, amaranto, achira y otros materiales de origen biológico, han despertado interés debido a que estas materias primas se encuentran en abundancia, son de bajo costo y de gran aplicabilidad (Pelissari *et al.*, 2013). El almidón es uno de los biopolímeros más usados en la elaboración de recubrimientos (Tharanathan, 2003) aplicados en frutas y hortalizas mínimamente procesadas con el propósito de prolongar las características de calidad del alimento, las cuales pueden sufrir deterioro durante el almacenamiento. El zapallo (*Cucurbita maxima*) es un fruto con potencial para ser sometido a un procesamiento mínimo, teniendo en cuenta su peso, que dependiendo de la variedad

puede oscilar entre 3 y 6 kg, y su comercialización se realiza en trozos grandes, provocando pérdidas por deterioro microbiano y enzimático. Debido a ello, aplicar un procesamiento mínimo contribuiría a disminuir estas pérdidas. El objetivo de este estudio fue desarrollar un recubrimiento comestible a base de almidón de achira (*Canna indica* L.) conteniendo aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma como agente antifúngico para ser aplicado en zapallo mínimamente procesado, evaluando las características de calidad del producto durante un período almacenamiento de 15 días a 6±2°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación de hongos

Los ensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Sanidad Vegetal y Microbiología Agrícola (Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira). Muestras de zapallo mínimamente procesado se colocaron en ambiente húmedo (60% HR) hasta que se evidenció la presencia de hongos, con la aparición de manchas oscuras y blancas en la superficie de la muestra. Las observaciones se hicieron con microscopio (Olympus CX21F, Filipinas) objetivo 40×. Seguidamente, se realizó la identificación morfológica de los hongos presentes, usando como medios específicos Agar CYA y Agar Malta, los cuales se prepararon de acuerdo a la metodología propuesta por Allende *et al.* (2013). Las cepas fueron sembradas e incubadas a 28°C en incubadora (Dies, K-115, Colombia) por siete días para determinar las características macro morfológicas (color de la colonia, diámetro de crecimiento, coloración del reverso de la colonia) y micro morfológicas (presencia de conidios, filias, ramificación, conidióforos, y esclerocios). Los resultados fueron evaluados según el Manual de Hongos Filamentosos Comunes de Piontelli (2011).

Determinación de la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de cúrcuma

La determinación de la actividad antifúngica *in vitro*, se realizó en base a la evaluación del crecimiento del micelio mediante el método de dilución en agar (Sahin *et al.*, 2004). Fueron preparadas tres

diluciones del aceite esencial con concentraciones de 500, 256 y 128 $\mu\text{L.L}^{-1}$, mezclando alícuotas de la solución inicial con diferentes volúmenes de agua destilada hasta completar 1 ml. Las soluciones diluidas a diferentes concentraciones, se depositaron en matraces de 125 ml, adicionando 70 ml de la solución del agar-aceite esencial, seguido de agitación antes de verter en cajas Petri. Posteriormente, una muestra del micelio de *Penicillium* de 72 horas de incubación, se colocó en el centro de cada caja de Petri, para posterior incubación a 25°C. Una muestra control sin aceite fue incluida en el análisis. El diámetro del micelio, se midió diariamente hasta que éste alcanzó las paredes de la caja de Petri en la muestra control. El ensayo se realizó por triplicado y el porcentaje de inhibición se determinó mediante la ecuación 1 propuesta por Manici *et al.* (1997).

$$\% \text{ Inhibición} = \left[1 - \left(\frac{\text{Diámetro micelio tratado}}{\text{Diámetro micelio control}} \right) \right] * 100 \text{ Manici et al. (1997) (Ec. 1)}$$

Para *Cladosporium* sp., se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente. Un diseño factorial 3x2, completamente al azar fue utilizado para evaluar el efecto de la concentración del aceite en las cepas de hongos estudiadas. Los factores de estudio (variables dependientes) fueron concentración de aceite esencial y cepas de hongos y la variable respuesta fue el % de inhibición de los hongos (Tabla 1). Los resultados fueron analizados empleando el programa estadístico SAS® 9,1 (USA, 2015).

Desarrollo del recubrimiento comestible

El recubrimiento comestible se desarrolló siguiendo la metodología propuesta por Andrade-Mahecha (2012) y Andrade-Mahecha *et al.* (2012b)

con algunas modificaciones. Almidón de achira caracterizado por Andrade-Mahecha *et al.* (2012a), fue empleado como biopolímero para la elaboración del recubrimiento en una concentración de 3% p/p (g almidón/100 g de solución), celulosa micro cristalina como material de refuerzo (MCC) 5% p/p (g de MCC/100 g de almidón seco), glicerol como agente plastificante 25% p/p (g de glicerol/100 g de almidón seco), aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma (*Curcuma longa*) fue empleado como agente anti fúngico 0,5% p/p (g/100 g de solución) y Tween 40 como tenso activo 0,2% p/p (g de Tween/100 g de aceite esencial). Almidón y celulosa se colocaron en agitación por 30 minutos, luego se sometió a calentamiento a una temperatura de 65±5°C durante 15 minutos. Después de transcurrido este tiempo, se adicionó glicerol a la mezcla, manteniendo agitación cons-

tante durante 15 minutos, se enfrió la solución a 60°C y se adicionó la mezcla de Tween 40 y aceite esencial. La solución formadora del recubrimiento se agitó durante 10 minutos más y finalmente se enfrió hasta 20±5°C para aplicarlo, en el zapallo.

Evaluación de la actividad anti fúngica in situ

Se elaboró una suspensión de esporas a partir de tres cajas de Petri por cada hongo (*Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp.), de 72 horas de incubación a una concentración de 1x10⁶ esporas por ml (Alvarado, 2009). La aplicación del recubrimiento comestible se realizó por inmersión. Seguidamente, los cubos de zapallo recubiertos se colocaron en rejillas y se secaron por una corriente de aire forzado en cabina de flujo laminar (Flow 85 V, Colombia) a 20°C

Tabla 1 - Variables de proceso bioensayo *in vitro* aceite esencial de cúrcuma longa en dos cepas de hongos

| Variable independiente | Nivel | Variable de Respuesta |
|--|-------|-------------------------------|
| Concentración aceite esencial <i>Cúrcuma longa</i> | A,B,C | % de inhibición de los hongos |
| Cepas de hongos | 1,2 | |

A: 500 $\mu\text{L.L}^{-1}$; B: 256 $\mu\text{L.L}^{-1}$; C: 128 $\mu\text{L.L}^{-1}$; 1: *Penicillium* sp.; 2: *Cladosporium* sp.

Tabla 2 - Variables de evaluación del ensayo *in situ* para aceite esencial de *Curcuma longa* incorporado en un recubrimiento comestible como anti fúngico

| Variable independiente | Nivel | Variable de Respuesta |
|--------------------------|-------|----------------------------------|
| Recubrimiento comestible | A,B | Pérdida de peso, % de infección. |
| Cepas de hongos | 1,2 | |

A: con recubrimiento; B: sin recubrimiento; 1: *Penicillium* sp.; 2: *Cladosporium* sp.

durante 20 minutos. Posteriormente, la suspensión de esporas de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. se inoculó por aspersión. Los cubos de zapallo se colocaron en empaques de PET y se almacenaron a 5°C y 85% HR durante cuatro días con un peso promedio por bandeja de 50 g de producto. Se evaluó el porcentaje de infección y la pérdida de peso. El procedimiento se realizó por triplicado y fueron también evaluadas muestras control (sin aplicación del recubrimiento).

Se realizó un análisis de varianza ANOVA y se empleó un diseño factorial 2x2 por bloques completos al azar para evaluar el efecto del recubrimiento comestible con incorporación de aceite esencial de cúrcuma en cubos de zapallo mínimamente procesado. Los factores de estudio (variables dependientes) fueron recubrimiento comestible y cepas de hongos y las variables respuesta fueron pérdida de peso y porcentaje de infección (Tabla 2). Los resultados obtenidos en el presente estudio se analizaron por medio del programa estadístico SAS ® 9.1 (USA, 2015).

Porcentaje de infección

Durante cuatro días de incubación, se registró diariamente el número de cubos infectados, teniendo en cuenta que el 100% correspondía al número total de cubos evaluados en cada hongo. Se almacenaron seis cubos por bandeja, el ensayo se realizó por triplicado.

Pérdida de peso

Las bandejas conteniendo cubos de zapallo, se pesaron de forma individual en balanza de precisión (Mettler Toledo, PB1502, Switzerland), durante los días del experimento (cuatro días), para obtener la pérdida de peso del zapallo durante el ensayo en porcentaje.

Efecto de la aplicación del recubrimiento conteniendo aceite extraído de rizomas de cúrcuma en zapallo mínimamente procesado

Para el desarrollo de esta investigación se utilizó zapallo variedad Bolo verde cultivado en Palmira (Valle del Cauca, Colombia) a 1100 msnm. Los cubos de 2x2 cm, fueron previamente desinfectados empleando solución de hipoclorito de sodio a 100 ppm. Posterior a ello, el recubrimiento comestible fue aplicado por inmersión, permitiendo un tiempo de secado de 20 minutos a temperatura de 20±5°C, antes de ser empacado en bandejas de poliestireno expandido recubiertas con película de PVC (espesor de 12,5 µm). Los análisis fisicoquímicos se realizaron en los días 0, 4, 8, 12 y 15 del periodo de almacenamiento del producto a temperatura de 6±1°C.

pH y acidez

El pH se determinó siguiendo la norma NTC 4592 (Icontec, 1999a) con un pH metro digital (SCHOTT CG-842, Alemania). La acidez se determinó de acuerdo a la norma NTC 4623 (Icontec, 1999b) mediante titulación con hidróxido de sodio 0,1 N y se expresó en porcentaje de ácido cítrico.

Evaluación de firmeza

La firmeza del producto se determinó con un penetrometro Force Dial (FDK 30 Italia), midiendo la fuerza necesaria para introducir un cilindro de punta de 8 mm de diámetro sobre la superficie de los cubos de zapallo. Los resultados se expresaron newton (N) (Dutta *et al.*, 2006).

Sólidos Solubles Totales

Para la determinación de sólidos solubles totales (SST) se tomó una gota de la muestra macerada y se

depositó sobre el prisma del refractómetro digital (Pocket Atago Pal-1, Japón) previamente calibrado. Los resultados se reportaron en °Brix (AOAC, 1995).

Determinación de β -caroteno

Fueron macerados 0,5 g de pulpa de zapallo con acetona fría al 80%. La suspensión resultante se filtró con papel Whatman No.2, para tomar una alícuota estándar del extracto obtenido. Finalmente, la absorbancia se midió en un espectrofotómetro (Thermo Scientific Genesys 10S UV VIS, China) a 480 y 560 nm. Para estimar la concentración de carotenos en mg.kg^{-1} , se utilizó la ecuación 2 reportada por Fish (2012).

$$[\beta - \text{caroteno}]_{\text{mg.kg}^{-1}} = (28,6)A_{480} - (38)A_{560} \text{ (Ec. 2)}$$

$$[B - \text{caroteno}] = \text{mg.kg}^{-1}$$

A_{480} = absorbancia a 480 nm

A_{560} = absorbancia a 560 nm.

Color

Los parámetros de color se determinaron utilizando un colorímetro Konica Minolta (modelo CR400, Francia), tomando como sistema de referencia un iluminante D65 y el observador estándar de 2.º, obteniendo las coordenadas de color L^* (luminosidad), a^* (cromaticidad (-) verde a (+) rojo) y b^* (cromaticidad (-) azul a (+) amarillo). Se realizaron tres mediciones en la zona ecuatorial de cada cubo de zapallo. Posteriormente, la diferencia total de color (ΔE) se determinó mediante la ecuación 3.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2} \text{ (Ec. 3)}$$

Dónde: L , a y b corresponden a los parámetros de color CIElab de las muestras en el día 15 y L_0 , a_0 , y b_0 corresponden a coordenadas de referencia de color L , a y b de las muestras del día 0 (con y sin recubrimiento comestible), para determinar la diferencia total del color.

El efecto de la variable aplicación del recubrimiento, sobre algunas propiedades de zapallo mínimamente procesado fue analizado utilizando un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias por medio de la prueba de rango múltiple de Duncan mediante el programa estadístico SAS 9.1 ® (2015 USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Identificación morfológica de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp.*

Se evidenció la presencia de *Penicillium* sp. (Figura 1) y *Cladosporium* sp. (Figura 2). Se determinó que la cepa de *Penicillium*, tiene similitud con *Penicillium decumbens*, hongo cosmopolita del suelo, la vegetación y los alimentos que pertenece al subgénero *Aspergilloides*. Las características de crecimiento de *Penicillium* sp. en los medios específicos fueron color de las colonias verde grisáceo, reverso de la colonia amarillo, conidióforos lisos, hifa aérea, conidios verdes oscuros (Figura 1). En cuanto a *Cladosporium* sp. (Figura 2), presentó conidias solitarias, ligeramente pigmentadas de diferentes formas (globosas, limoniformes, subglobosas).

Determinación de la actividad antifúngica in vitro

El seguimiento de la actividad antifúngica *in vitro* para *Cladosporium* sp. y *Penicillium* sp., se llevó a cabo hasta el día 6 y 10 respectivamente. En la Figura 3a se puede observar el efecto inhibitorio del aceite esencial extraído del rizoma de cúrcuma, sobre *Cladosporium* sp, empleando una concentración de $500 \mu\text{L.L}^{-1}$ a la cual se obtuvo un menor crecimiento del micelio, el porcentaje de inhibición a esta concentración fue de 41,6% en promedio (Tabla 3). Respecto al *Penicillium* sp. (Figura 3b), el menor crecimiento del micelio se obtuvo a la misma concentración ($500 \mu\text{L.L}^{-1}$), presentado un porcentaje de inhibición promedio de (60,3%) (Tabla 3).

Diferentes autores han reportado que las propiedades antimicrobianas y antifúngicas de la *Curcuma longa*, se encuentran asociadas a compuestos sesquiterpenicos y monoterpenicos (Scartezzini y Speroni, 2000; Chattopadhyay *et al.*,

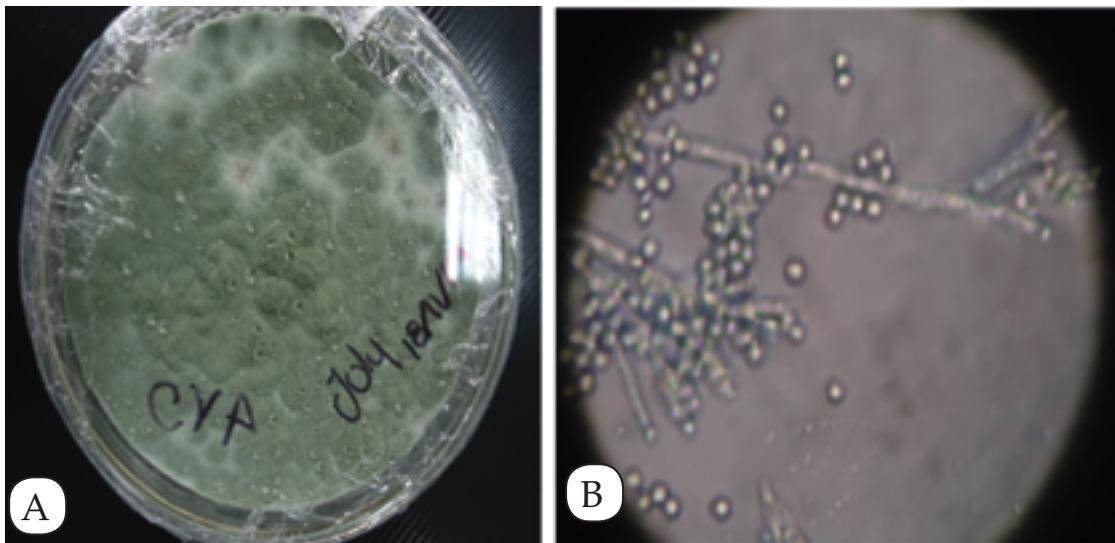


Figura 1 - *Penicillium* sp. a) cepas en agar malta aisladas de zapallo mínimamente procesado; b) cepas observadas en microscopio objetivo 40 X.

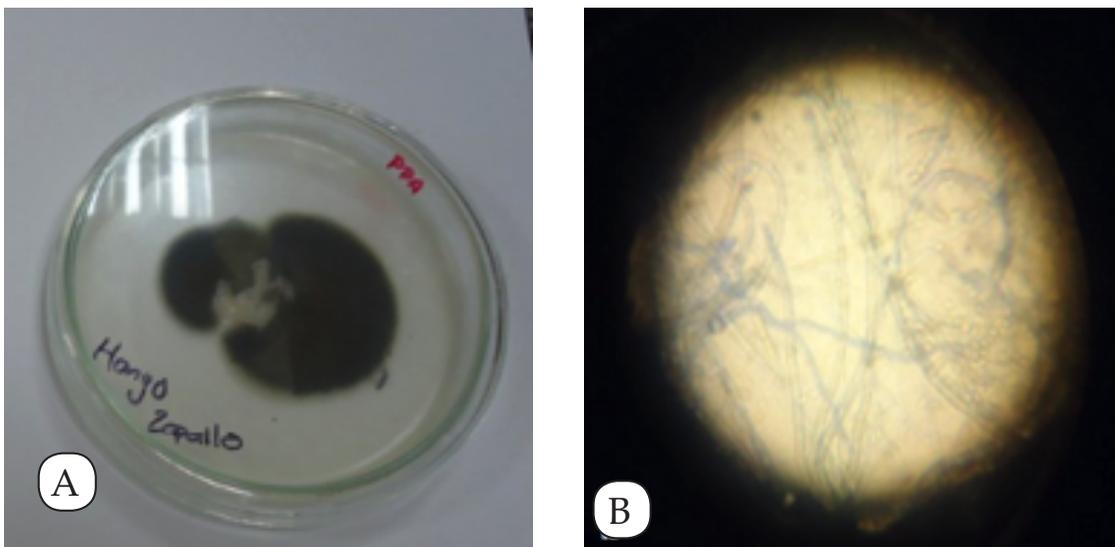


Figura 2 - *Cladosporium* sp. a) cepas en agar malta aisladas de cubos de zapallo mínimamente procesado; b) cepas observadas en microscopio objetivo 40 x.

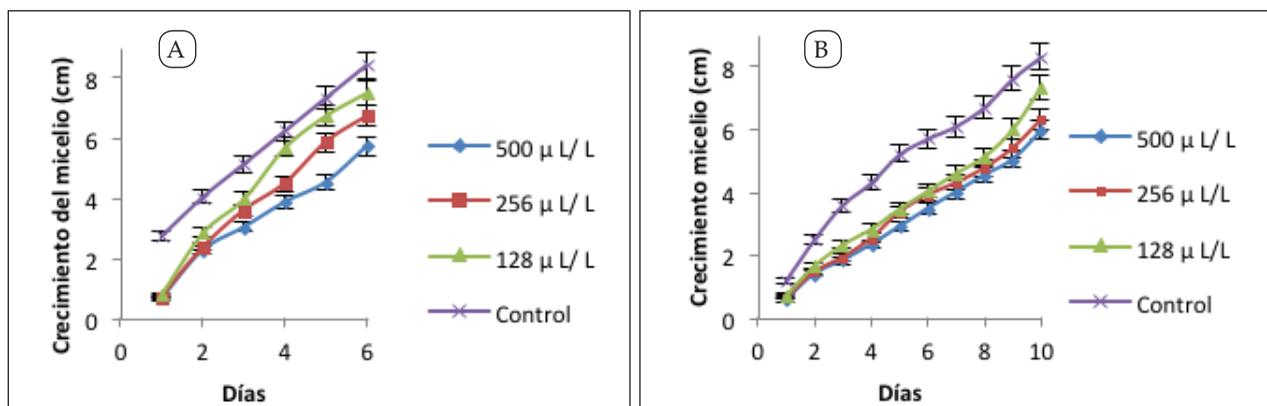


Figura 3 - Crecimiento del micelio empleando diferentes concentraciones de aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma: a) *Cladosporium* sp. b) *Penicillium* sp.

Tabla 3 - Porcentaje de inhibición de diferentes concentraciones de aceite extraído de rizoma de cúrcuma como compuesto antifúngico sobre cepas de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. durante el almacenamiento

| Concentración | <i>Penicillium</i> sp. (%) | <i>Cladosporium</i> sp. (%) |
|-------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 500 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ | 60,3 ^a | 41,6 ^a |
| 256 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ | 52,2 ^b | 29,1 ^b |
| 128 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ | 43,7 ^b | 24,2 ^b |

Letras minúsculas diferentes en una misma columna, indican diferencia estadísticamente significativa, según prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

2004). Respecto a aplicaciones como antifúngico, no se encontraron reportes específicos contra los hongos objeto del presente estudio, sin embargo se ha comprobado el efecto contra otras especies de hongos. Ferreira *et al.* (2013), evaluaron el efecto del aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma contra la producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* a concentraciones de 5% v/v, encontrando que inhibió la capacidad de producción de la toxina en un 99%. Balbi *et al.* (2006), evaluaron el efecto *in vitro* del aceite extraído de rizomas contra *Alternaria solani* aislada de tomate a cuatro concentraciones diferentes, encontrando que a 4% v/v se inhibió el crecimiento micelial y la germinación de esporas. Estas investigaciones confirmaron que el efecto antifúngico del aceite esencial extraído de cúrcuma se encuentra asociado al alto contenido en sesquiterpenos.

En el presente estudio, los resultados de la comparación de medias obtenidas por el método de rango múltiple de Duncan (Tabla 4), evidenciaron una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) de mayor % de inhibición para el aceite de rizomas, respecto al control para ambas cepas de hongos. Se presentaron interacciones entre el aceite esencial de rizomas de cúrcuma respecto al porcentaje de inhibición para ambas cepas.

Tabla 4 - % de inhibición de aceite extraído de rizoma de cúrcuma como compuesto anti fúngico sobre cepas de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp.

| Tratamiento | Porcentaje de inhibición |
|-------------------|-------------------------------|
| Aceite de rizomas | 47,83 \pm 0,78 ^a |
| Control | 1,30 \pm 0,34 ^b |

Letras minúsculas diferentes en una misma columna, indican diferencia estadísticamente significativa, según prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

Determinación de la actividad antifúngica in situ

Porcentaje de infección

En las muestras infectadas se evidenció que después de 48 horas de almacenamiento, la enfermedad causada por los hongos empezó a avanzar más rápidamente en los cubos de zapallo. Al final del tiempo de almacenamiento (Día 4), las muestras con recubrimiento inoculadas con *Penicillium* sp. alcanzaron un porcentaje de infección del 76% y las inoculadas con *Cladosporium* sp. del 71%. Las muestras control alcanzaron un 85% de infección cuando fueron inoculadas con *Penicillium* sp. y del 100% cuando fueron inoculadas con *Cladosporium* sp., después de 96 horas de incubación (Tabla 5). Este resultado indicó que el recubrimiento actuó como anti fúngico, retardando el progreso de la enfermedad en el zapallo mínimamente procesado. Los resultados presentados en la Tabla 5, evidencian una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$), entre las muestras con recubrimiento y las muestras control.

Pérdida de peso

Durante los cuatro días de almacenamiento, el zapallo perdió peso a causa de la infección ocasionada por los hongos evaluados. Se observó que la muestra control inoculada con los hongos (*Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp.) presentó mayor

Tabla 5 - Análisis comparativo del efecto del recubrimiento comestible conteniendo aceite esencial de rizoma de cúrcuma sobre el porcentaje de infección (%) en zapallo mínimamente procesado inoculado con esporas de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. almacenadas a $6 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 4 días

| Tratamiento | <i>Penicillium</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|
| Con recubrimiento | 76,67 ^b ±0,31 | 71,09 ^b ± 0,26 |
| Control | 85,16 ^a ±1,04 | 99,71 ^a ± 2,16 |

Letras minúsculas diferentes en una misma columna, indican diferencia estadísticamente significativa, según prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

pérdida de peso durante el almacenamiento en comparación con el tratamiento con recubrimiento. Aunque la pérdida de peso no es un fenómeno aislado del desarrollo de la enfermedad que produce el hongo, es posible determinar que el recubrimiento permitió mantener la calidad del zapallo mínimamente procesado, reduciendo las alteraciones fisiológicas y como consecuencia, extendiendo su vida útil. En la prueba de rango múltiple de Duncan (Tabla 6), se observa que existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre el tratamiento con recubrimiento y la muestra control.

Evaluación del efecto de la aplicación del recubrimiento conteniendo aceite extraído de rizomas de cúrcuma en zapallo mínimamente procesado

El seguimiento a las muestras con recubrimiento se realizó hasta el día 15, y sin recubrimiento hasta el día 12 de almacenamiento debido a que ya presentaban alteración microbiológica. Todas las muestras se conservaron a temperatura de $6 \pm 1^\circ\text{C}$.

pH

En la Figura 4a se presentan los resultados de pH en las muestras de zapallo con recubrimiento

comestible y las muestras control durante los días de almacenamiento. Fue posible observar una leve disminución en los valores de pH que no fué estadísticamente significativa ($p < 0,05$). La disminución fue mayor para las muestras sin recubrimiento, con tendencia a mantenerse, lo cual fué relacionado con el incremento en la actividad respiratoria de la muestra y asociado a los procesos enzimáticos que ocurren de hidrólisis de almidones y azúcares (Del Valle y Palma, 1997; Figueroa *et al.*, 2013).

Acidez

En la Figura 4b se presentan los resultados de acidez (%). Las muestras control presentaron mayor acidez respecto a las muestras con recubrimiento durante los primeros cuatro días de almacenamiento. Sin embargo, posterior a esto, el % acidez fue incrementado hasta alcanzar el 0,9% para ambas muestras al final del periodo de almacenamiento.

Sólidos Solubles Totales

En la Figura 4c se muestran los resultados obtenidos para sólidos solubles totales, expresados en °Brix. Al contrario de lo que ocurre en los vegetales mínimamente procesados, en los primeros 8 días de almacenamiento se observó una disminución de 0,3 °Brix en el contenido de Sólidos Solubles

Tabla 6 - Análisis comparativo del efecto del recubrimiento comestible conteniendo aceite esencial de rizoma de cúrcuma sobre la pérdida de peso (%) en zapallo mínimamente procesado inoculado con esporas de *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. almacenadas a $6 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 4 días

| Tratamiento | <i>Penicillium</i> sp. | <i>Cladosporium</i> sp. |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|
| Con recubrimiento | 41,18 ^b ±0,13 | 41,20 ^b ± 0,68 |
| Control | 51,03 ^a ±0,98 | 49,13 ^a ± 1,12 |

Letras minúsculas diferentes en una misma columna, indican diferencia estadísticamente significativa, según prueba de rango múltiple de Duncan ($p < 0,05$).

Totales, como consecuencia del proceso respiratorio del zapallo. Sin embargo, no se presentó diferencia significativa para el tratamiento con recubrimiento frente a la muestra control. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Silva *et al.* (2009) y Sasaki *et al.* (2006), quienes relacionan este hecho a la respiración que es una descomposición oxidativa de los compuestos en moléculas más simples: CO₂, H₂O y energía.

Contenido de β-caroteno

El contenido de β-caroteno determinado en el presente estudio, es inferior al reportado por otros autores. Supriya (2009) y Gopalan *et al.* (2004) reportaron contenidos de 9,15 mg.kg⁻¹ y 9,1 mg.kg⁻¹ respectivamente. Esta diferencia se puede asociar a condiciones agronómicas como variedad del fruto, condiciones ambientales, entre otros. En el presente estudio se observó una leve reducción en el contenido de β-caroteno durante el almacenamiento (Figura 4f). Las muestras de zapallo mínimamente procesadas con recubrimiento presentaron contenidos de β-caroteno significativamente mayores a las muestras control (Tabla 7). Algunos autores han reportado una retención en el contenido de β-caroteno en zapallo y otros vegetales durante el almacenamiento bajo refrigeración asociado a una reducción del metabolismo del material biológico (Sasaki *et al.*, 2014). Sin embargo, otros autores han evidenciado que los carotenoides son sensibles a la isomerización y la oxidación durante el procesado y almacenamiento (Rodríguez-Amaya, 2001).

Color

La luminosidad para las muestras con recubrimiento varió entre 66-72, sin embargo no presentó diferencias significativas respecto a las muestras control (Figura 5). Este resultado concuerda con lo reportado por Cortez-Vega *et al.* (2014), quienes

evidenciaron que el uso del recubrimiento redujo el deterioro del aspecto visual de cubos de zapallo.

Los valores para el parámetro a* de las muestras sometidas a tratamiento con recubrimiento, oscilaron en un rango entre 17-20, el cual se mantuvo; pero para la muestra control el valor de a* decreció, lo que puede indicar un pardeamiento oxidativo de la muestra, puesto que al someter el material biológico a un mínimo procesamiento, se aumenta la susceptibilidad a la oxidación, mientras que en el fruto entero los pigmentos y compuestos se encuentran protegidos (Ribeiro y Seravalli, 2004). Sin embargo, en términos generales no se presentaron diferencias estadísticamente significativas (p< 0,05) entre los tratamientos.

Los valores de la coordenada b* para las muestras con recubrimiento almacenadas bajo refrigeración durante 15 días, oscilaron entre 50 y 44, observándose un leve amarillamiento de los cubos de zapallo. Sin embargo, no se presentó diferencia significativa con las muestras control. Incendayi *et al.* (2009) utilizaron diferentes tratamientos con impregnación de ácido cítrico y empaques en atmósfera modificada. Los autores reportaron diferencias significativas (p<0,05) entre la luminosidad y el parámetro a*, sin embargo para el parámetro b* no encontraron diferencias significativas (p< 0,05).

La Figura 5d, evidencia un aumento del ΔE para ambas muestras durante el almacenamiento. El valor para ΔE, que se conoce como una combinación de las coordenadas CIElab, es un parámetro colorimétrico de gran aplicación para evaluar la percepción del color (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005). La diferencia entre las muestras con recubrimiento y las muestras control es mayor, por lo que se reconoce que existe un efecto beneficioso del recubrimiento sobre la reducción en los cambios de color.

Tabla 7 - Análisis comparativo del efecto de los tratamientos sobre parámetros de calidad en zapallo mínimamente procesado a los 12 días de almacenamiento

| Tratamiento | pH | Acidez (%) | °Brix | Firmeza(N) | β-caroteno (mg/kg) | Peso (%) |
|-------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Con recubrimiento | 5.784±0,27 ^a | 0.640±0,25 ^a | 8.083±0,11 ^a | 78,72±0,09 ^a | 6,126±0,76 ^a | 5,104±2,5 ^a |
| Control | 5.837±0,41 ^a | 0.627±0,28 ^a | 7.944±0,16 ^a | 78,35±0,06 ^b | 5,709±0,48 ^b | 4,571±3,05 ^a |

Letras minúsculas diferentes en una misma columna, indican diferencia estadísticamente significativa (p<0,05), según prueba de rango múltiple de Duncan.

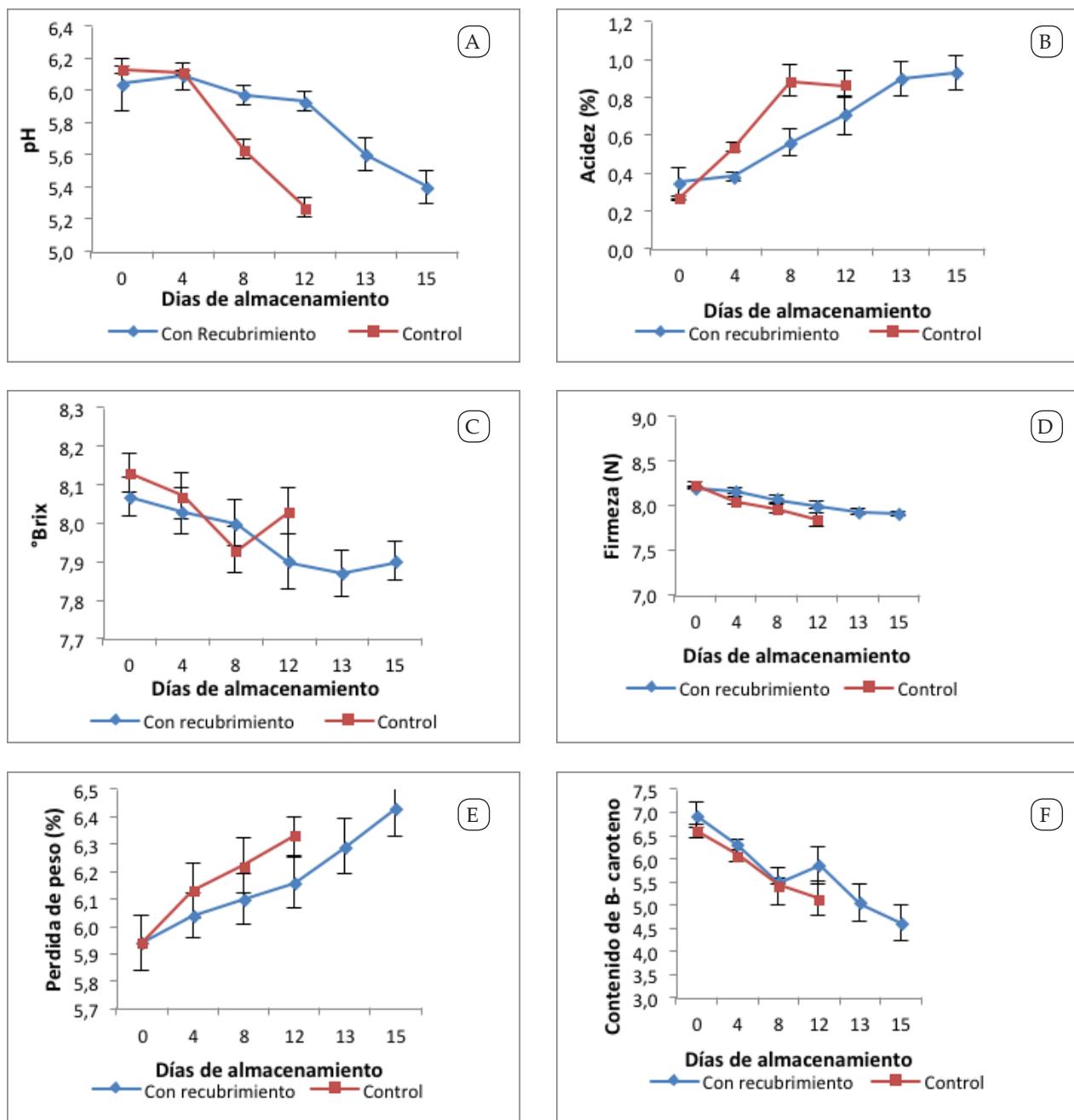


Figura 4 - Efecto de la aplicación de recubrimiento conteniendo aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma sobre los parámetros de calidad de zapallo mínimamente procesado durante 15 días de almacenamiento a $6 \pm 1^\circ\text{C}$. a) pH; b) Acidez; c) °Brix; d) Firmeza; e) Pérdida de peso; f) Contenido de β -caroteno.

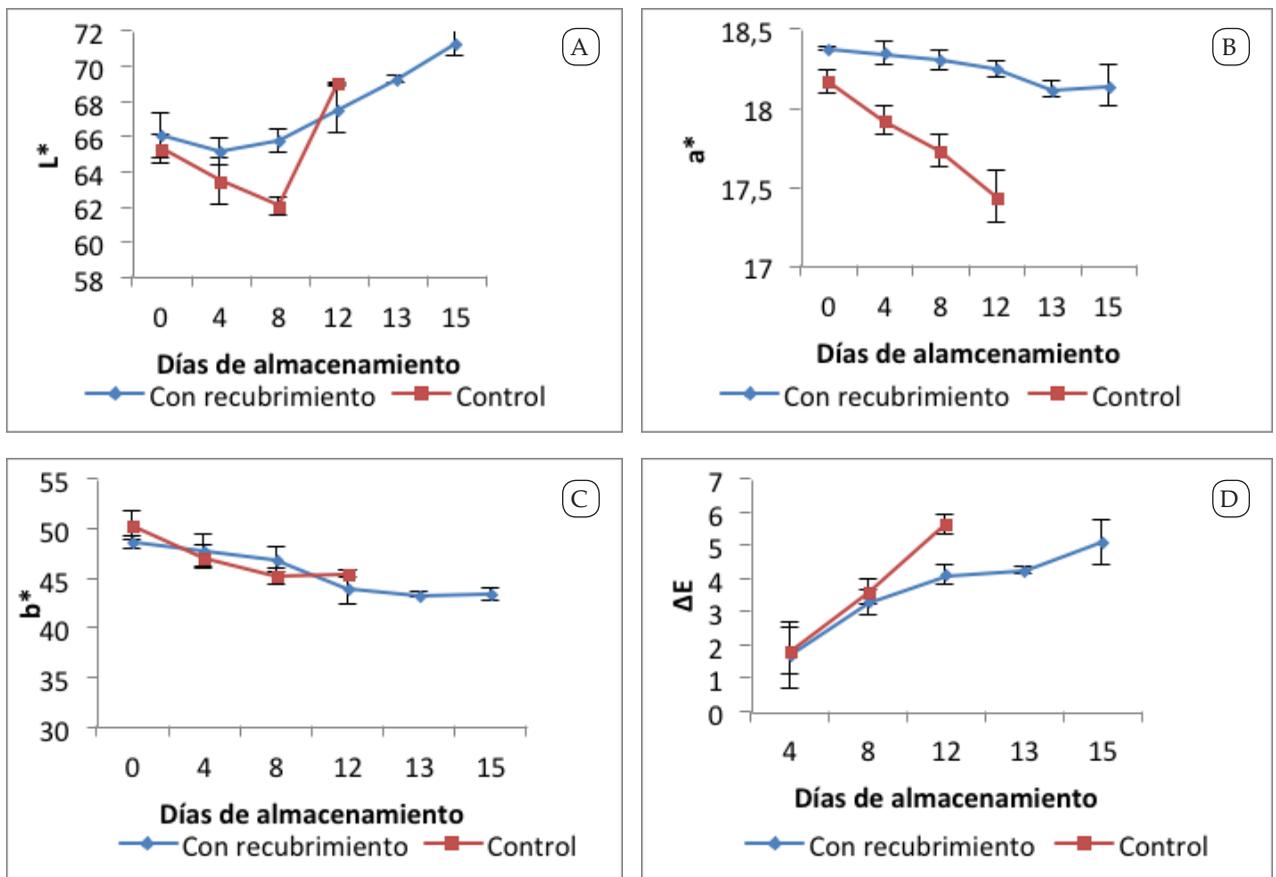


Figura 5 - Efecto del recubrimiento sobre parámetros de color en zapallo mínimamente procesado durante el tiempo de almacenamiento (15 días a $6 \pm 1^\circ\text{C}$): a) Luminosidad; b) a^* ; c) b^* y d) Diferencia total del color (ΔE).

CONCLUSIONES

Cepas de *Cladosporium* sp. y *Penicillium* sp., fueron identificadas en zapallo mínimamente procesado. La actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial extraído de rizomas presentó una inhibición significativa frente a *Cladosporium* sp. (41,6%) y *Penicillium* sp. (60,3%) cuando se empleó a concentraciones de $500 \mu\text{L.L}^{-1}$. El recubrimiento comestible a base de almidón de achira conteniendo 0,5% p/p de aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma, aplicado en cubos de zapallo mínimamente procesado *in situ* retardó el desarrollo de alteraciones ocasionadas por los hongos *Penicillium* sp. y *Cladosporium* sp. La eficacia de este tratamiento se evidenció en la disminución de la pérdida de peso del producto, en el mantenimiento de la firmeza (78,73 N), el contenido de β -caroteno ($6,126 \text{ mg.kg}^{-1}$)

y los parámetros de color, mostrando que la aplicación del recubrimiento comestible conteniendo aceite esencial extraído de rizomas de cúrcuma permite conservar cubos de zapallo mínimamente procesado durante 15 días y tiene un gran potencial para ser usado como conservante natural en alimentos.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen al proyecto Desarrollo de un Sistema Agroindustrial Rural Competitivo para una Bioregión del Valle del Cauca, por el apoyo financiero y a la Facultad de Ingeniería y Administración de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira por el apoyo técnico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Allende, R.; Picos, P.; Márquez, I.; Carrillo, J.; García, R. & León, J. (2013) – Identificación morfológica y molecular de *Penicillium oxalicum* causante de pudrición de tallos y frutos de tomate. *Revista Mexicana de Fitopatología*, vol. 31, n. 1, p. 13-19.
- Alvarado, A. (2009) – *Efecto anti fúngico in vitro e in situ del quitosano y aceites esenciales sobre Rizophus stolonifer (Ehrenb.: F) Vuill.* Tesis de maestría. Instituto Politécnico Internacional. Yautepec. México.
- Andrade-Mahecha, M.M. (2012) – *Microcompósitos, nanocompósitos e coberturas a base de materiais biodegradáveis obtidos do Biri (Canna indica L.)*. Tesis doctoral, Universidad Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, SP, Brasil, 284 p.
- Andrade-Mahecha, M.M.; Tapia-Blacido, D.R. & Menegalli, F. (2012a) – Physical–chemical, thermal, and functional properties of achira (*Canna indica* L.) flour and starch from different geographical origin. *Starch*, vol. 64, n. 5, p. 348-358. <http://dx.doi.org/10.1002/star.201100149>
- Andrade-Mahecha, M.M; Tapia-Blacido, D.R & Menegalli, F. (2012b) – Development and optimization of biodegradable films based on achira flour. *Carbohydrate Polymers*, vol. 88, n. 2, p. 449-458. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.024>
- AOAC. (1995) – *Official Methods of Analysis*. 16th Ed., Association of Official Analytical Chemists. Virginia, ISBN 0-935584-54-4.
- Ávila-Sosa, R. & López-Malo, A. (2008) – Aplicación de sustancias antimicrobianas a películas y recubrimientos comestibles. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, vol. 2, n. 2, p. 4-13.
- Balbi-Peña, M.; Becker, A.; Stangarlin, J.R.; Franzener, G.; Lopes, M.C. & Scwhan-Estrada, K.R.F. (2006) – Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina: II. Avaliação in vivo. *Fitopatologia Brasileira*, vol. 31, n. 4, p. 401-404. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000400012>
- Bath S. (2013) – Minimal processing and preservation of fruits and vegetables by active packaging. *International Journal of Herbal Medicine*, vol. 1, n. 2, p. 131-138.
- Bosquez, E. (2003) – *Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (Citrus latifolia Tanaka)*. Tesis Doctoral Universidad Autónoma Metropolitana, México. 147 p.
- Burt, S. (2004) – Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 94, n. 3, p. 223-253. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Chattopadhyay, I.; Biswas, K.; Bandyopadhyay, U. & Banerjee, R. (2004) – Turmeric and curcumin: Biological actions and medicinal applications. *Current Science*, vol. 87, n. 1, p. 44-53.
- Cortez-Vega, R.; Brose, I.; Prentice, C. & Dellinghaus, C. (2014) – Influence of different edible coatings in minimally processed pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch). *International Food Research Journal*, vol. 21, n. 5, p. 2017-2023.
- Chiumarelli, M. & Hubinger, M. (2012) – Stability, Solubility, Mechanical and Barrier Properties of Cassava Starch – Carnauba Wax Edible Coatings to Preserve Fresh-cut Apples. *Food Hydrocolloids*, vol. 28, n. 1, p. 59-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.12.006>
- Del Valle, J. & Palma, M. (1997) – Preservación II: Atmosferas controladas y modificadas. In: Aguilera, J.M. (Ed.) – *Temas en tecnología de alimentos*. Instituto Politécnico Nacional. México D.F., México, p. 89-130.
- Duan, J.; Wu, R.; Strik, B. & Zhao, Y. (2011) – Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under commercial storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 59, p. 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.006>
- Dutta, D.; Dutta, A.; Raychaudhuri, U. & Chakraborty, R. (2006) – Rheological characteristics and thermal degradation kinetics of beta carotene in pumpkin puree. *Journal of Food Engineering*, vol. 76, n. 4, p. 538-546. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.056>
- Ferreira, F.D.; Kemmelmeier, C.; Arrotéia, C.; Costa, C.L. da; Mallmann, C.A.; Janeiro, V.; Ferreira, F.M.D.; Mossini, S.A.G.; Silva, E.L. & Machinski Jr., M. (2013) – Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*, vol. 136, n. 2, p. 789-793. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.003>

- Figuerola, J.; Salcedo, J.; Aguas, Y.; Olivero, R. & Narváez, G. (2013) – Recubrimientos comestibles en la conservación de mango y aguacate, y perspectiva, al uso de propóleo en su formulación. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, vol. 3, n. 2, p. 386-400.
- Fish, W. (2012) – Refinements of the attending equations for several spectral methods that improved quantification of β -carotene and/or lycopene in selected foods. *Postharvest Biology and Technology*, vol. 66, p. 16-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.08.007>
- Gopalan, G.; Ramasanti, B. & Balasubramanian, S. (2004) – *Nutritive value of Indian Foods*. Indian Council of Medical Research. New Delhi. <http://www.icmr.nic.in/pricepubl/content/1>.
- Habibunisa, T.; Baskaran, R.; Prasad, R. & Shivaiah, K.M. (2001) – Storage behaviour of minimally processed pumpkin (*Cucurbita maxima*) under modified atmosphere packaging conditions. *European Food Research and Technology*, vol. 212, n. 2, p. 165-169. <http://dx.doi.org/10.1007/s002170000211>
- Hassani, F.; Garousi, F. & Javanmard, M. (2012) – Edible coating based on whey protein concentrate-rice bran oil to maintain the physical and chemical properties of the kiwifruit (*actinidia deliciosa*). *Trakia Journal of Sciences*, vol. 10, n. 1, p. 26-34.
- ICONTEC. (1999a) – *Productos, frutas y verduras determinación del pH – NTC 4592*. ICONTEC.
- ICONTEC. (1999b) – *Productos, frutas y verduras determinación de la acidez titulable – NTC 4623*. ICONTEC.
- Incendayi, B.; Tamer, C.E.; Yonel, S.P. & Çopur, O.U. (2009) – A research on the dessert produced from modified atmosphere packaged pumpkins. *International Journal Food Agriculture and Environment*, vol. 7, n. 2, p. 149-154.
- Kader, A. (1992) – Índices de madurez, factores de calidad, normalización e inspección de productos hortícolas. Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. México D.F., México.
- Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003) – Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 10, n. 10, p. 813-829. <http://dx.doi.org/10.2174/0929867033457719>
- Maftoonazad, N. & Ramaswamy, H. (2005) – Postharvest shelf – life extension of avocados using methyl cellulose – based coating. *LWT – Food Science and Technology*, vol. 38, n. 6, p. 617-624. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.007>
- Manici, L.; Lazzeri, L. & Palmieri, S. (1997) – *In vitro* fungi toxic activity of some glucosinolates and their enzyme derived products toward plant pathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 45, n. 7, p. 2768-2773. <http://dx.doi.org/10.1021/jf9608635>
- Martínez, W.; Alvis, A. & Arrazola, G. (2012) – *Evaluación de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de dos extractos de plantas aromáticas limoncillo (Cymbopogon citratus) y cúrcuma (Curcuma longa) y su aplicación en una matriz alimenticia*. Universidad de Córdoba Colombia.
- Martínez, I.; Partal, P.; Garcia, M.; Guerrero, G. & Gallegos, C. (2013) – Development of protein-based bioplastics with antimicrobial activity by thermomechanical processing. *Journal of Food Engineering*, vol. 117, n. 2, p. 247-254. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.02.014>
- Pelissari, F.M.; Andrade-Mahecha, M.M.; Amoral, P.J. & Menegalli, F.C. (2013) – Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa Paradisiaca*). *Food Hydrocolloids*, vol. 30, n. 2, p. 681-690. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.007>
- Piontelli, E. (2011) – *Manual de microhongos filamentosos comunes*. Universidad de Valparaíso, Viña del Mar. Chile.
- Ribeiro, E.P. & Seravalli, E. (2004) – *Química de Alimentos*, 1.^a Ed. Edgard Blücher, São Paulo.
- Rodriguez-Amaya, D.B. (2001) – *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. ILSI Press, Washington DC, USA.
- Rojas-Grau, M.; Soliva-Fortuny, R. & Martín-Belloso, O. (2009) – Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh cut fruits: a review. *Trends in Food Science Technology*, vol. 20, n. 10, p. 438-447. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.002>
- Sahin, F.; Güllüce, M.; Daferera, D.; Sökmen, A.; Sökmen, M.; Polissiou, M.; Agar, G. y Özer, H. (2004) – Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, vol. 15, n. 7, p. 549-557. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2003.08.009>
- Sasaki, C.; Fumi, F.; Saavedra, J.; Gallo, R.; Jacomino, A. & Kluge, R. (2014) – Physiological, qualitative and microbiological changes of minimally processed squash stored at different temperatures. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 15, n. 2, p. 210-220.

- Sasaki, F.F.; del Aguila, J.S.; Gallo, C.R.; Ortega, E.M.M.; Jacomino, A.P. & Kluge, R.A. (2006) – Physiological, qualitative and microbiological changes in minimally processed squash submitted to different cut types. *Brazilian Horticulture*, vol. 24, n. 2, p. 170-174. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362006000200009>
- Scartezzini, P. & Speroni, E. (2000) – Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 17, n. 1-2, p. 23-43. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00213-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00213-0)
- Silva, A.V.C. da; Oliveira, D.S.N.; Yaguiiu, P.; Carnelossi, M.A.G.; Muniz, E.N. & Narain, N. (2009) – Temperature and packaging of minimally processed pumpkin (*Curcubita moschata*). *Food Science and Technology*, vol. 29, n.2, p. 391-394. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000200025>
- Sonti, S. (2003) – *Consumer perception and application of edible Coatings on fresh-cut fruits and vegetables*. Tesis de maestría. Universidad del estado de Louisiana. Estados Unidos. 143 p.
- Supriya V. (2009) – *Bioavailability of B-carotene as influenced by food processing and presence of factors such and spices*. Tesis de Doctorado. Universidad de Mysore. Mysore, India. 321 p.
- Tapia, M.; Rojas, M.; Rodríguez, F.; Ramírez, J.; Carmona, A. y Belloso, M. (2007) – Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. *Journal of Food Science*, vol. 72, n. 4, p. 190-196. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00318.x>
- Tharanathan, R.N. (2003) – Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science Technology*, vol. 14, n. 3, p. 71-78. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00280-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00280-7)