

Evaluación de películas comestibles de quitosano, agar y tomillo para mantener la calidad de frutos de aguacate 'Hass' durante su almacenamiento

Evaluation of edible chitosan, agar and thyme films to maintain the quality of 'Hass' avocado fruits during storage

Tomás J. Madera-Santana¹, Víctor M. Toledo-López², Karla Martínez-Robison¹, Víctor Rejón-Moo³, Judith Fortiz-Hernández^{1*}

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora, 83304, México.

² Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Mérida.

³ Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Mérida, 97310 Mérida, Yucatán, México.

RESUMEN

En este trabajo se elaboraron películas comestibles (PCs) a base de quitosano (Q), agar (A) y tomillo (T), en cuatro diferentes formulaciones (Q, A, QA y QAT). A las PCs se les evaluaron propiedades mecánicas (tensión y elongación a la ruptura), propiedades estructurales (espectroscopía de infrarrojo por FTIR), propiedades térmicas (análisis termogravimétrico), propiedades de transporte (permeabilidad al vapor de agua) y análisis morfológico (microscopía electrónica de barrido). Las PCs de QA y QAT destacaron por su resistencia a la tensión, transparencia, velocidad de transmisión al vapor de agua y permeancia, así como la mayor capacidad antioxidante. Se evaluó el efecto de la aplicación de los recubrimientos comestibles (RCs) de QA y QAT en la calidad de frutos de aguacate "Hass" durante 13 días de almacenamiento a 25 °C. Se evaluaron periódicamente en los frutos las variables de pérdida de peso, tasa de respiración, producción de etileno, apariencia visual y pudriciones. La aplicación de los RCs al fruto redujo su pérdida de peso y extendió su vida de anaquel. Los RCs les confirieron a los frutos una barrera al vapor de agua, reduciendo la pérdida de peso en 40%. Así mismo, se disminuyó la incidencia de pudriciones de los frutos.

Palabras clave: Recubrimientos comestibles, quitosano, tomillo, películas, vida de anaquel.

ABSTRACT

In this work, edible films (PCs) based on chitosan (Q), agar (A) and thyme oil (T) were prepared in four different formulations (Q, A, QA and QAT), and their mechanical properties (tension and elongation at break) and water vapor permeability were evaluated. Infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TGA) and scanning electron microscopy (SEM) were also performed. The QA and QAT PCs stood out for their tensile strength, transparency, water vapor transmission rate and permeance, as well as the highest antioxidant activity. The effect of the application of the edible coatings (RCs) of QA and QAT on the quality of 'Hass' avocado fruit was evaluated during 13 d of storage at 25 °C. The following variables were evaluated periodically: weight loss, respiration rate, ethylene production, visual appearance,

and rotting. The application of RCs to the fruit reduced their weight loss and extended their shelf life. The RCs gave the fruit a barrier to water vapor, reducing weight loss by 40 with respect to the control. In addition, the incidence of fruit rots was reduced.

Keyword: Edible coatings, chitosan, thyme, films, shelf-life.

INTRODUCCIÓN

México es el principal país productor de aguacate a nivel mundial, con un volumen de producción de 206,466 t en el ciclo 2019/2020 (SAGARPA, 2020), cubriendo una superficie de 241,140 ha. El principal cultivar es 'Hass', con el 89% de la producción. El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un fruto con excelente sabor y textura. Además, el aguacate es rico en vitamina E, ácido ascórbico, vitamina B₆, β-caroteno y potasio (Arpaia, 2009); lo que lo convierte en un fruto con alto valor nutricional y sabor.

El aguacate es un fruto climatérico que madura después de cosechado y de alta tasa metabólica con una vida de anaquel corta, completando su madurez entre 5 a 7 días a 25 °C después de la cosecha (Kader y Arpaia, 1999). La aplicación de recubrimientos comestibles (RCs) o biodegradables es un método para extender la vida de almacenamiento del aguacate.

Las películas comestibles (PCs) son una capa fina que se puede utilizar como envase, las cuales al aplicarse sobre los alimentos de interés mediante la inmersión o aspersión forman los RCs; los componentes se formulan en solución como lípidos, proteínas, carbohidratos o mezclas de estos (Ramos-García *et al.*, 2010). Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz polimérica, que forma un recubrimiento alrededor del alimento y forma un mecanismo de barrera entre el fruto o vegetal y el ambiente. La aplicación de RCs permite alargar la vida útil durante el almacenamiento al reducir las pérdidas de humedad y retardar la maduración de los frutos, ya que actúan como barrera al intercambio gaseoso (Maftoonazed y Ramaswamy, 2005). Los RCs también se utilizan para mejorar la integridad o protección de los frutos frente a la manipulación y para aportar brillo a la fruta. Biopolímeros a base de almidón, quitosano,

alginato, agar, etc.; en forma de películas comestibles (PCs) o de RCs se han empleado como alternativa postcosecha de frutos, lo cual es una opción de envase primario ecológico y que no causa daño al medio ambiente por sus características de biodegradabilidad.

El agar (A) es un polisacárido extraído de las algas rojas (*Gracilaria*, *Gelidium* y *Pterocladia*), el cual se compone de residuos alternados de D- y L-galactosa, con enlaces β -1,3 and α -1,4, respectivamente (Campa-Siqueiros *et al.*, 2020). Este biopolímero es biodegradable y biocompatible; además, posee la capacidad de producir películas; para ello, la adición de un plastificante es muy recomendable porque las películas de agar muestran alta resistencia mecánica, aunque con característica elástica (flexibilidad) limitada (Kanmani y Rhim, 2014).

Otro compuesto utilizado en los RCs es el quitosano (Q), el cual es un polisacárido lineal compuesto de glucosamina y unidades N-acetil-glucosamina unidas por enlaces β -(1-4) glucosídico. Es obtenido por desacetilación alcalina de la quitina proveniente de crustáceos (Vargas *et al.*, 2006). Dependiendo del origen de extracción y las condiciones de extracción y desacetilación de la quitina, da como resultado el grado de acetilación y peso molecular del compuesto. La solubilidad, pK, viscosidad, capacidad de gelificación, entre otras propiedades depende de estos parámetros (Peniche *et al.*, 2008). El Q es biocompatible, biodegradable y es un material no tóxico. También tiene otras propiedades biológicas, como capacidad de cicatrizar heridas y actividad antimicrobiana. Buena capacidad de formar películas y puede ser procesada en fibras, geles, microesferas, microcápsulas y micro-nanopartículas (Santos-López *et al.*, 2017; Goycolea *et al.*, 2009). El Q es soluble en la mayoría de las soluciones de ácidos orgánicos (ácido acético, ácido láctico y ácido fórmico) (Badawi y Rabea, 2011). Una característica del Q es que presenta una actividad antimicrobiana de amplio espectro contra bacterias, mohos y levaduras. Diversos autores mencionan que su actividad antimicrobiana depende de varios factores, como es el peso molecular, grado de desacetilación, solubilidad, densidad de carga positiva, modificación química, pH, concentración, característica hidrofílica o hidrofóbica, capacidad quelante y tipo de microorganismo (Badawi y Rabea, 2011; Liu *et al.*, 2020).

Diversos estudios han reportado la aplicación de aceites esenciales o compuestos volátiles en los RCs, señalando que éstos dan buenos resultados en cuanto extender la vida de anaquel y mejorar la calidad de los frutos en postcosecha (Sellamuthu *et al.*, 2013; Al-Tayyar *et al.*, 2020; Pandey *et al.*, 2022). Entre éstos se encuentra el aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*), el cual ha sido utilizado en RCs. Está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, p-cimeno, α -terpineno, limoneno, borneol y linalol. Se ha reportado que el aceite esencial de tomillo es uno de los aceites esenciales con buenas propiedades antimicrobianas, siendo el timol y carvacrol los componentes más activos contra múltiples patógenos transmitidos por alimentos (Altiok *et al.*, 2010; Sellamuthu *et al.*, 2013). También se ha

publicado que este compuesto inhibe la germinación de esporas y el crecimiento y multiplicación celular de bacterias (López-Ambrocio *et al.*, 2016). Los RCs pueden ser un medio para la incorporación de compuestos antimicrobianos, como son ácidos orgánicos, aceites esenciales, ácidos grasos, extractos de semillas de plantas, enzimas y óxidos metálicos han sido usado con efectos antimicrobianos (Kanhamani y Rhim, 2014). Si bien los RCs de Q y aceites esenciales (*Thymus moroderi*, *Thymus piperella*, *cinnamon*, *clove*, etc.) han sido estudiados para su aplicación frutos frescos cortados y para el recubrimiento de éstos, permitiendo la inhibición de microorganismos y una alta actividad antioxidante. Sin embargo, no se tienen reportes en la literatura de la aplicación de un sistema basado en Q, A y T, para recubrimiento comestible de aguacate.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades mecánicas y físicas de PCs a base de mezclas de Agar (A), Quitosano-Agar (QA) y Quitosano-Agar-Tomillo (QAT). Se espera que el agar en combinación con quitosano y tomillo pueda mejorar las propiedades mecánicas de la película comestible y mejorar la adhesión de los RCs con los frutos de aguacate 'Hass' durante su almacenamiento a 25 °C, así como evaluar el efecto de los RCs en la calidad y vida de anaquel de los frutos, con la finalidad de reducir las pérdidas postcosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

El quitosano (Q) de peso molecular medio y grado de acetilación $\geq 75\%$ fue adquirido de Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, MO. USA). El agar (A) grado alimenticio se obtuvo de Agarmex, S.A. (Ensenada, BC. México). El aceite esencial de tomillo (T) grado alimenticio y de producción nacional, se obtuvo de Droguería Cosmopolita, S.A. (Ciudad de México). El material vegetal consistió en frutos de aguacate (*Persea americana* Mill.) 'Hass' adquiridos en el mercado local (Hermosillo, México), en estado de madurez fisiológica, con un color verde, tamaño uniforme, y libre de defectos. Los frutos se lavaron y desinfectaron con una solución de hipoclorito de calcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) a 200 ppm; posteriormente, se secaron y se les aplicaron los recubrimientos.

Preparación de soluciones y recubrimientos.

Se preparó la solución acuosa de A al 1 % w/v, se disolvieron 3 g en 300 mL de agua destilada a una temperatura de 60 °C y en agitación constante por 2 h. En una solución de ácido acético al 1 % se disolvió el Q al 1 % p/v. Se preparó una mezcla de 300 mL con las soluciones obtenidas con anterioridad de Q y A en una proporción 50:50 (QA). Además, se preparó una mezcla de QAT en las mismas proporciones de Q y A (50:50) y a esta solución se le adicionó el aceite de tomillo (1 % v/v).

Por el método de "casting" se prepararon las películas comestibles (PCs), con las soluciones preparadas de estas formulaciones (Q, A, QA y QAT). Las cuales se colocaron 80 mL de la solución en recipientes de plástico y se secaron en

una estufa hasta la evaporación total del solvente (por 24 h a 60 °C), y fueron mantenidas a 25 °C y 24 % de HR para su posterior evaluación.

Caracterización de PCs

A las PCs obtenidas se les realizaron las siguientes determinaciones:

Espesor. El espesor de las diferentes formulaciones de PCs (Q, A, QA y QAT) se midió utilizando un micrómetro Digital Mitutoyo MDC-1^{SB} (Mitutoyo, Japón) en tres zonas diferentes y se calculó el valor medio.

Propiedades ópticas. La transparencia de cada película (PC) se realizó por triplicado, utilizando un espectrofotómetro UV-visible Varian modelo Cary 50Bio (New London, USA) de acuerdo con el procedimiento descrito por Fang *et al.* (2002). El color de la superficie de la película comestible se determinó con un colorímetro Minolta modelo CR300 (Tokio, Japón). La escala utilizada fue la CIE-Lab y los parámetros medidos fueron: luminosidad (L^*), los parámetros de color a^* (rojo a verde), b^* (amarillo a azul) y diferencia de color (ΔE).

Propiedades mecánicas. Las propiedades mecánicas de las diferentes películas formuladas se determinaron mediante el procedimiento de la norma ASTM D882-18, utilizando probetas de 7 x 1 cm². El ensayo a la tensión se realizó en un texturómetro (Texture Technologies Corp., New York, USA), empleando una velocidad de cabezal de 10 mm/min y la distancia de separación de mordazas fue de 30 mm. Se determinaron tres parámetros mecánicos en el estudio: esfuerzo máximo, módulo de elasticidad y elongación a la ruptura.

Espectroscopia de infrarrojo (FTIR). Se utilizaron muestras de las PCs de A, Q, QA, QAT con una dimensión de 1 x 1 cm², espesor de 0.1 mm y se registraron los espectros de IR usando un espectrómetro FT-IR Thermo ScientificTM Nicolet iS-50 (Madison, WI. USA.), empleando la técnica reflectancia total atenuada (ATR-Attenuated Total Reflection). En el caso del aceite esencial de tomillo (T) este fue analizado en estado líquido. Los espectros se registraron de 4000 a 650 cm⁻¹ con una resolución de 4 cm⁻¹, una velocidad de escaneo de 0.475 cm⁻¹/s y 64 escaneos.

Análisis termogravimétrico (TGA). Las PCs fueron analizadas con el equipo TGA-8000 de Perkin Elmer (Boston, MA. USA). El rango de temperatura fue desde temperatura ambiente (25 °C) hasta 700 °C, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min bajo atmósfera de nitrógeno.

Velocidad de transmisión del vapor de agua (VTVA) y la permeancia. La velocidad de transmisión del vapor de agua (VTVA) y la permeancia al vapor de agua de las películas se realizó por triplicado, de acuerdo con el método reportado de la norma ASTM E96/E96M-16 (2016) con ligeras modificaciones.

Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH. Para la extracción de las películas, se siguió la metodología de Genskowsky *et al.* (2015), se pesó 0.2 g de película y se adicionó metanol para ser extraída en un sonicator Branson por 30 min para posteriormente ser cuantificada por el método de DPPH. La capacidad antioxidante se midió

siguiendo la metodología de Brand-Williams *et al.* (1995). La solución del radical DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) se preparó disolviendo 2.5 mg del radical en 100 mL de metanol puro y se ajustó hasta obtener una absorbancia de la mezcla de 0.7 ± 0.02 . Posteriormente, 20 μ L de extracto se mezclaron con 280 μ L de la solución del radical y después de un tiempo de incubación de 30 min a temperatura ambiente y en la oscuridad, se midió la absorbancia a 515 nm en un lector de microplacas. Los resultados se expresaron en miligramos de equivalentes Trolox por 100 g de película (mg ET/100 g) con base a una curva de calibración de Trolox (0.02 - 0.25 mg/mL).

Aplicación de los recubrimientos a los frutos

Los frutos de aguacate seleccionados, lavados y secados se dividieron en tres lotes de 30 frutos cada uno, que corresponden a frutos Control (sin recubrimiento) y dos tratamientos de RCs (QA y QAT). Se colocaron en bandejas de plástico previamente desinfectadas. Después los frutos se recubrieron mediante inmersión en las soluciones de QA y QAT, se dejaron escurrir y secar por aproximadamente 1 h a temperatura ambiente. Posteriormente, los frutos se almacenaron durante 13 d a 25 °C y 60 % de H.R., simulando el tiempo de comercialización.

Evaluación de los frutos con recubrimiento comestible

Pérdida de peso. Se registró el peso inicial de cada fruto en una balanza digital Ohaus (Modelo Scout Pro, NJ, USA) y se realizó un seguimiento diario de esta variable durante el almacenamiento de los frutos. Los resultados se expresaron como el porcentaje del peso perdido. Esta variable se evaluó en 16 frutos por tratamiento.

Tasa de respiración y producción de etileno. En un sistema cerrado, se colocó el fruto en frascos de plástico (1.6 L), los cuales se cerraron herméticamente y se incubaron durante 30 min a una temperatura de 20 °C. Se tomó 1 mL de muestra de espacio de cabeza empleando una jeringa hipodérmica y se inyectó a un cromatógrafo de gases Varian Star 3400 Cx acondicionado con un detector de ionización de flama (FID) y una columna Hayasep N80/100 (2 m X 3.17 mm de diámetro interno, Supelco, Inc.) acoplado a un detector de conductividad térmica (para CO₂) y un detector de ionización de flama (para Etileno). Las condiciones del equipo fueron: temperatura de inyección de 100 °C, temperatura de conductividad térmica de 170 °C y para el detector de ionización de flama de 120 °C. El área de la muestra se comparó con estándares conocidos y se calculó la tasa de producción de CO₂ y etileno, que se reporta en mL CO₂ kg⁻¹h⁻¹ y μ L etileno kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

Evaluación subjetiva de pudriciones. Para la evaluación de pudriciones en la superficie del fruto se usó una escala subjetiva propuesta en el Manual Internacional de calidad de aguacate (Arpaia, 2009), que comprende valores de 0 a 1, donde 0 = sin pudrición (0 %) y 1 = con pudrición (> 0 %). La pudrición de la zona del pedúnculo se evaluó utilizando la misma escala subjetiva (Arpaia, 2009), que comprende valores de 0 a 3, donde 0 = sin daño, 1 = daño ligero (10 %),

1.5 (15 %), 2 = daño moderado (25 %) y 3 = daño severo (≤ 50 %). Se usaron 15 frutos por tratamiento.

Análisis estadístico. Los datos se analizaron con el análisis de la varianza (ANOVA) con un diseño completamente al azar, para el caso de pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno. Cuando hubo significancia, se efectuó comparación de medias por la prueba de rangos múltiples de Tukey, con un nivel de significancia de ($p \leq 0.05$). Todos los datos fueron procesados en el programa NCSS-9 Statistical Software 2017 (Kaysville, UT. USA). Las pruebas mecánicas de las películas se analizaron con el programa Microcal Origin versión 8.0 de Microcal Software.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de las PCs

Propiedades ópticas

Con respecto a las propiedades ópticas, las mezclas de QA y QAT no mostraron diferencias significativas en los valores de L^* , a^* y b^* . Comportamiento similar fue observado en el parámetro ΔE con valores de 10.34 y 9.89, lo cual indica que la adición de Tomillo no cambió el color de las PCs (Tabla 1). La PC de A fue transparente, sin color, mientras que las películas de Q fueron menos transparentes, con ligera coloración amarilla. En lo que respecta a las PCs de QA y QAT, éstas no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en los valores de L^* , b^* y ΔE^* . Respecto al ΔE^* , las PCs presentaron valores de 8.3 a 10.42, presentando un valor mayor las PCs de Q, QA y QAT con valores de 10.42, 10.34 y 9.89, respectivamente, respecto a la PC de A.

La transparencia en la película de Q fue superior al de las otras tres películas (A, QA y QAT) que incluyeron agar en su formulación, se puede atribuir a que el agar es ligeramente opaco (Tabla 1).

La menor transparencia la presentó la PC de QAT lo cual puede deberse a que la adición de aceite de tomillo produjo que la PC tuviera poca opacidad. Esto coincide con lo reportado en algunas investigaciones, donde la adición de aceites esenciales a la matriz polimérica aumenta la opacidad de las mismas (Altiok *et al.*, 2010). Lo anterior se atribuye a la dispersión de las gotas de aceite en la matriz polimérica.

Propiedades mecánicas. En la Tabla 2 podemos observar los resultados de las pruebas mecánicas a tensión de las PCs de quitosano y sus formulaciones. Respecto al esfuerzo máximo, se puede señalar que las PCs de Q y QAT presentaron los valores mayores a 100 MPa ($p < 0.05$). Similares resultados son reportados por Escárcega-Galaz *et al.*, (2018) para PC de

Tabla 2. Propiedades mecánicas de las películas comestibles formuladas*.
Table 2. Mechanical properties of the formulated edible films*.

Tratamiento	Esfuerzo máximo (MPa)	Elongación a la ruptura (%)	Módulo de elasticidad (MPa)
Quitosano (Q)	100.6 \pm 8.6 ^{ab}	5.12 \pm 0.88 ^a	3131.9 \pm 152 ^b
Agar (A)	74.6 \pm 8.1 ^a	6.42 \pm 0.89 ^a	2309.8 \pm 153 ^a
QA	79.8 \pm 8.6 ^a	5.22 \pm 0.96 ^a	3304.1 \pm 164 ^b
QAT	119.7 \pm 10.5 ^b	6.15 \pm 1.07 ^a	3522.8 \pm 167 ^b

Donde A = Agar, Q = Quitosano, T = Tomillo. Media \pm desviación estándar; *Literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

quitosano puro con valores de 101 MPa, 4.73 % y 3834 MPa de esfuerzo máximo, elongación a la ruptura y módulo de elasticidad, respectivamente.

En la PC de QAT, la presencia del aceite de tomillo incrementó el esfuerzo máximo de la PC, aun cuando se trata de un aceite que se incorporó a la matriz de QA. Esto es particularmente importante, debido a que la incorporación de aceites esenciales conduce a la formación de películas de estructura heterogénea, con discontinuidades producidas por separación de fases que comúnmente se forman entre los componentes las PCs (Altiok *et al.*, 2010).

En lo que respecta a la elongación a la ruptura de las PCs formuladas, éstas no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) y presentaron valores en el rango de 5.1 a 6.4 %. Se ha reportado que las películas de Q suelen ser rígidas, inflexibles y quebradizas, por lo que es necesario mejorar sus propiedades con el uso de algún aditivo (Escárcega *et al.*, 2018). Algunos autores reportan una mejora en el % de elongación, con la adición de aceites esenciales de canela o de orégano en PCs a base de biopolímeros como carboximetil celulosa y quitosano. La adición de los aceites esenciales en PCs en cantidades mínimas pueden actuar en los sistemas como agentes plastificantes, debido a que disminuyen la fragilidad de la película causada por las fuerzas intermoleculares de los componentes (Bourtoom, 2008). Sin embargo, al incrementar el contenido de aceites esenciales o plastificantes, conduce a efectos de separación de fases (Madera-Santana *et al.*, 2011), entrecruzamiento por enlaces covalentes de la matriz biopolimérica y el aditivo (Noshirvani *et al.*, 2017). En este trabajo, la cantidad de aceite esencial de tomillo (1 %) permitió la elaboración de PCs basadas en Q y A con buenas propiedades mecánicas, sin separación de fases.

El módulo de elasticidad está relacionado con la rigidez de las películas. Se observa que las PCs que contie-

Tabla 1. Propiedades ópticas de las películas formuladas*.

Table 1. Optical properties of the formulated films*.

Tratamiento	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	Transparencia
A	89.01 \pm 1.2 ^b	-0.54 \pm 0.06 ^c	2.38 \pm 0.1 ^a	8.13 \pm 0.3 ^a	1.48 \pm 0.31 ^b
Q	87.65 \pm 0.3 ^{ab}	-1.36 \pm 0.1 ^{ab}	5.78 \pm 1.0 ^b	10.42 \pm 0.7 ^b	1.98 \pm 0.06 ^b
QA	87.60 \pm 0.6 ^a	-1.40 \pm 0.1 ^a	5.62 \pm 0.3 ^b	10.34 \pm 0.2 ^b	1.56 \pm 0.35 ^b
QAT	87.62 \pm 0.6 ^{ab}	-1.22 \pm 0.1 ^b	5.11 \pm 0.3 ^b	9.89 \pm 0.25 ^b	1.11 \pm 0.13 ^a

Donde A = Agar, Q = Quitosano, T = Tomillo. Media \pm desviación estándar; *Literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

nen Q se caracterizan por presentar los valores mayores de módulo elástico, los cuales son superiores a los registrados en la película de A ($p < 0.05$). La película QAT posee el mayor valor promedio de módulo de elasticidad, en comparación a las PCs formuladas, lo cual indica que la mezcla de los componentes de esta película presenta una sinergia que indica buena cohesión, sin separación de fases, pero reduce en cierto grado la flexibilidad de la película. Sin embargo, dada la aplicación que se les pretende dar a las PCs como es de recubrimientos de frutas y vegetales la formulación de QAT presentó buenas propiedades mecánicas en comparación a las demás formulaciones, ya que presentó mayores valores de esfuerzo máximo y elongación a la ruptura. Es importante señalar que la elongación es la deformación del material, y se considera que es un factor en la selección de las PCs, porque representa la capacidad que posee la película para absorber y disipar el esfuerzo mecánico al que es sometida (Madera-Santana *et al.*, 2011).

Velocidad de transmisión al vapor de agua (VTVA) y permeancia. La VTVA de las PCs de QAT presentó mayores valores ($p < 0.05$), en comparación con las demás PCs (Tabla 3). Estos resultados coinciden con lo reportado por Altiok *et al.* (2010), quienes observaron un aumento de la VTVA de las PC de Q con la adición de aceite de tomillo, atribuyendo dicho incremento a la formación de estructuras de poros con la adición de aceite de tomillo, como se observó en las micrografías de MEB. Respecto a las PCs de A, Q y QA, mantuvieron similares valores de VTVA.

Respecto a la permeancia, la PC de QAT presentó el mayor valor de permeancia ($p < 0.05$) (Tabla 3), lo cual nos indica que la adición de aceite de tomillo aumenta en 14.2 % el transporte del vapor de agua, en comparación con la PC de QA.

Capacidad antioxidante (DPPH)

En el presente estudio se encontró mayor capacidad antioxidante en la PC de QAT, seguidas de las PCs de QA y Q (Tabla 3). Algunos componentes de los aceites esenciales como el timol y carvacrol son compuestos aromáticos, bioactivos y presentan cierta actividad antioxidante.

Se ha reportado actividad antioxidante del quitosano y sus derivados (Kumar *et al.*, 2020); así mismo, se ha reportado que los RCs a base de quitosano pueden reducir el estrés oxidativo, reduciendo la producción de ROS (Especies

Reactivas al Oxígeno) a través de un aumento del sistema de defensa antioxidante. Por ejemplo, frutos de nísperos "loquat" con RC a base de quitosano/nano-sílica tuvo una reducción de alrededor 35 % y 69 % en el contenido de O_2^- y H_2O_2 , respectivamente (Adiletta *et al.*, 2021). Los RCs de QAT presentaron mayor actividad antioxidante, lo cual nos indica que puede evitar el deterioro de la integridad celular y mejorar el sistema de defensa del fruto.

Kumar *et al.* (2020) reportan que hay una mayor capacidad antioxidante al incorporar aceite de tomillo a las PC de Q, debido principalmente a los compuestos como el timol y carvacrol.

Espectrometría de infrarrojo (FTIR)

Los espectros de IR de las PCs de Q se presentan en la Figura 1, donde se pueden observar los espectros de los grupos funcionales del Q. El Q es un copolímero aleatorio derivado de la desacetilación alcalina de la quitina, cuyos componentes han mostrado las bandas características entre 3300 y 3200 cm^{-1} , que corresponden al estiramiento del grupo hidroxilo (O-H), así como al estiramiento asimétrico y simétrico de enlaces N-H en el grupo amino secundario. La región comprendida entre 2930 a 2870 cm^{-1} se observan dos bandas de absorción moderada, que corresponden a las vibraciones de tensión (C-H) de los grupos $-CH_2-$. Jakuboswka *et al.* (2020) mencionan que en los espectros las bandas a 1631 y 1021 cm^{-1} se atribuyen a la vibración de estiramiento de C=O en las amidas (p. ej. banda amida I), mientras que la banda presente a 1540 cm^{-1} corresponde al doblamiento del enlace N-H en la amida y grupo amino protonado (p. ej. $-(NH_2)$, banda amida amida II). En este estudio la banda de amida I y el estiramiento del grupo C=O se observó a 1650 cm^{-1} , mientras que a 1550 cm^{-1} se observaron las señales de amida II y el doblamiento del enlace N-H, lo cual coincide con lo reportado por otros autores (Rinaudo, 2006; Martínez-Robinson *et al.*, 2022). Estas bandas representan la estructura de N-acetil glucosamina, el cual puede ser encontrado en quitosano puro con bajo grado de desacetilación (Escárcega *et al.*, 2018).

En la Figura 1 se presenta el espectro del agar (A). Kanmani y Rhim (2014) reportaron el espectro de agar, con bandas características en la región de 3354 cm^{-1} a 771 cm^{-1} . La banda característica de absorción a 3354 cm^{-1} indica estiramiento de grupos hidroxilo (OH), mientras que la ubicada a 2925 cm^{-1} es atribuida al estiramiento de CH, el cual es asociado con un anillo de la galactosa con átomos de metil-hidrógeno. La banda a 1642 cm^{-1} es debido al estiramiento de la vibración de los péptidos conjugados formado por amida (NH) y grupo acetona.

Después de mezclar a los dos biopolímeros, es posible comparar si una mezcla física de los componentes presenta alguna interacción química, mediante el análisis de las bandas características de los componentes en el espectro FTIR. Estas bandas pueden resultar en la aparición de nuevas o cambios en las bandas existentes (Madera-Santana *et al.*, 2011). Respecto a las mezclas de QA y QAT, los espectros de absorción son muy similares. Esto indica que la incorporación

Tabla 3. Valores de VTVA, permeancia y actividad antioxidante (DPPH) de las películas formuladas*.

Table 3. WVTR, permeance and DPPH values of the formulated films*.

Tratamiento	VTVA (g/m ² h)	Permeancia (g/m ² h mm Hg)	DPPH (mg ET/100 g)
A	42.57 ± 0.17 ^a	2.52 ± 0.01 ^a	0.071 ± 0.022 ^a
Q	44.95 ± 2.66 ^a	2.66 ± 0.02 ^{ab}	1.16 ± 0.067 ^b
QA	43.34 ± 3.9 ^a	2.46 ± 0.22 ^a	1.19 ± 0.022 ^b
QAT	48.19 ± 2.8 ^b	2.81 ± 0.16 ^b	1.73 ± 0.043 ^c

Donde A = Agar, Q = Quitosano, T = Tomillo. *Literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

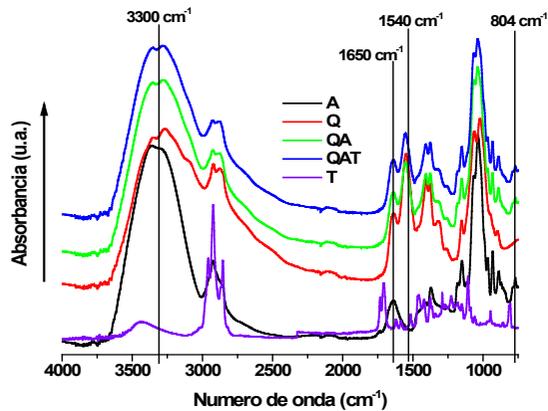


Figura 1. Espectros de infrarrojo de PCs de quitosano (Q), agar (A), quitosano-agar (QA), quitosano-agar-tomillo (QAT) y aceite de tomillo.

Figure 1. FTIR spectra of chitosan films (Q), agar (A), chitosan-agar (QA), and chitosan-agar-thyme (QAT).

de aceite de tomillo a la mezcla QA no presentó cambios estructurales en la PC, por lo que no se observaron cambios en la intensidad de las bandas y en el número de onda. Altiok *et al.* (2010) reportan en el espectro ATR-IR de aceite de tomillo una banda del anillo de vibración de timol y carvacrol a 804 y 811 cm^{-1} , respectivamente. En el espectro del presente estudio, solo la banda característica del carvacrol fue observada a 813 cm^{-1} , lo cual es una evidencia de la presencia de este compuesto en el aceite de tomillo.

Análisis termogravimétrico (TGA)

En el análisis termogravimétrico de las películas de QA y QAT, la descomposición se presenta en tres etapas (Figura 2). La primera descomposición corresponde a la liberación del agua libre (5.5 a 10 %) o humedad ($> 100^\circ\text{C}$), la incorporación de aceite de tomillo no afecta la evaporación del agua. La segunda descomposición se presenta con una inflexión más prolongada, que corresponde a la descomposición de los biopolímeros en el intervalo de 185 - 310 $^\circ\text{C}$ y una tercera y última descomposición, entre 395 - 585 $^\circ\text{C}$. Esto coincide con Balau *et al.* (2004) reportan que las PC de Q se descomponen en 2 etapas, la primera inicia a 180 $^\circ\text{C}$ y termina cerca de 300 $^\circ\text{C}$, con un máximo descomposición de alrededor de los 255 $^\circ\text{C}$. Esta descomposición se atribuye a un proceso que incluye la deshidratación, depolimerización y descomposición de las unidades acetiladas y desacetiladas de los polímeros. La última descomposición inicia a los 540 $^\circ\text{C}$ y probablemente se deba a los procesos termo-oxidativos (Balau *et al.*, 2004). Kanmani y Rhim (2014) reportaron que las películas de A mostraron un segundo pico de degradación menos prolongado entre 220 - 250 $^\circ\text{C}$. Además, se han reportado tres etapas en la degradación térmica del agar. Estas etapas de degradación térmica se observan a 90, 250 y 325 $^\circ\text{C}$. La primera degradación fue principalmente atribuida a la evaporación del remanente de agua. La segunda y tercera etapa es la degradación que puede ser debida a la descomposición del glicerol (plastificante) y del biopolímero de agar, respectivamente (Rhim *et al.*, 2006). Similarmente,

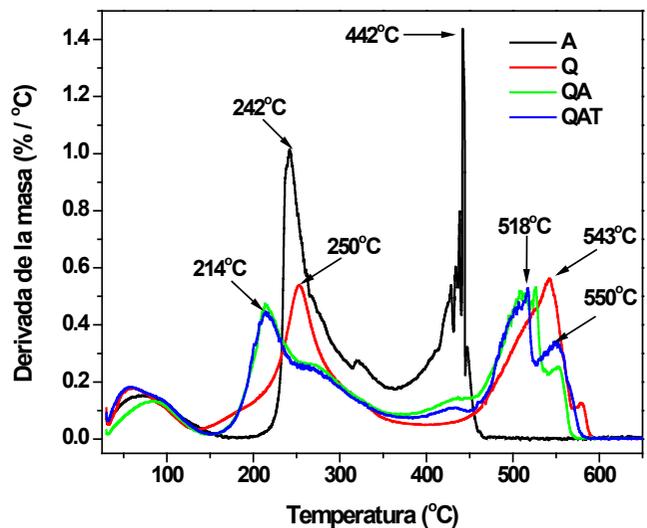
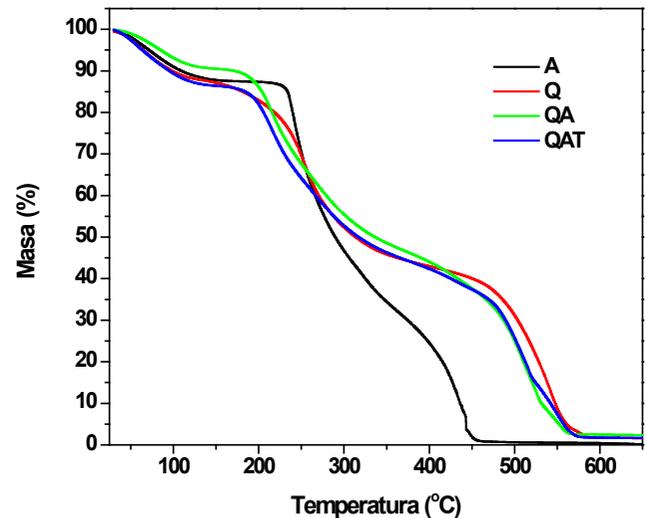


Figura 2. Termogramas termogravimétricos (a) y derivada del análisis termogravimétrico (DTG) (b) para las PCs de quitosano (Q), agar (A), quitosano-agar (QA) y quitosano-agar-tomillo (QAT).

Figure 2. Thermogravimetric thermograms (a) and derivative thermogravimetric analysis (DTG) (b) for chitosan (Q), Agar (A), chitosan-agar (QA), and chitosan-agar-thyme (QAT) films.

Campa-Siqueiros *et al.* (2020) reportó la descomposición térmica de PC basadas en A, la cual presenta una primera descomposición térmica alrededor de los 260 $^\circ\text{C}$ y una segunda a 452 $^\circ\text{C}$. Altiok *et al.* (2010) mencionan que la primera descomposición corresponde al efecto endotérmico atribuida a la evaporación de los solventes (ácido acético, etanol, agua) usada en la preparación de PC de Q. Mientras el efecto exotérmico ocurre a alta temperatura, la cual es atribuida a la descomposición del polímero. Si bien, el A y el Q tienen temperaturas de descomposición diferentes en las dos etapas, es importante señalar que los termogramas de las PC de Q, QA y QAT, estos fueron muy similares. Lo anterior, nos permite aseverar que los componentes tienen una buena miscibilidad, ya la temperatura de descomposición se encuentra entre sus componentes puros (Q y A).

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología superficial de las PCs se muestra en la Figura 3. En la PC de A (Figura 3a) y la Q (Figura 3b) se observa que ambas películas presentan uniformidad en la superficie, la cual presenta una superficie lisa y sin poros. La PC de QA (Figura 3c) presenta una superficie homogénea, lo cual indica que tanto el Q como el A se mezclaron homogéneamente a nivel de microdominios, ya que no se ven evidencias de separación de fases. No obstante, se observan algunas irregularidades, como son los poros en la superficie, los cuales se atribuyen a la evaporación del solvente de la película. La adición de aceite de tomillo a la PC de QAT produjo modificaciones en la superficie, como son el aumento de la rugosidad y opacidad (Figura 3d). En la superficie de esta PC se observaban más poros, en comparación de QA; esto se puede deber a la presencia de pequeñas burbujas con la adición de aceite de tomillo. Los poros se pueden deber a la evaporación del solvente del quitosano (ácido acético) que posee una menor presión de vapor, en comparación con la del agua. Sin embargo, las PCs muestran cierto grado de uniformidad, por lo cual hace posible su uso como recubrimiento de alimentos.

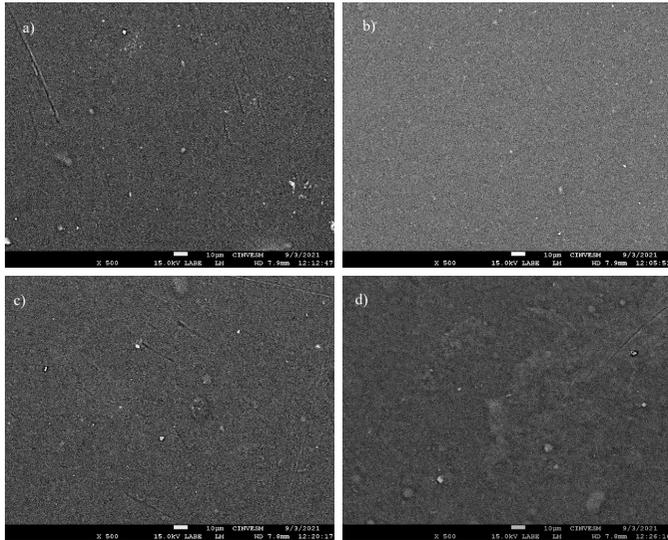


Figura 3. Morfología de la superficie de las películas formuladas a una magnificación de 500x: agar (a), Quitosano (b), QA (c) y QAT (d).

Figure 3. Surface morphology of formulated films at 500 x magnification: agar (a), chitosan (b), chitosan-agar (c), and chitosan-agar-thyme (d).

Aplicación de los recubrimientos y almacenamiento Pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno de frutos de aguacate

La pérdida de peso fue aumentando gradualmente durante el almacenamiento; a partir del día 7 se observó que los frutos control presentaron valores mayores ($p < 0.05$) respecto a los frutos recubiertos. Los RCs de QA y QAT redujeron un 40 % de pérdida de peso después de 13 días a 25 °C de almacenamiento, en comparación al Control (Figura 4). Estas diferencias significativas de pérdida de peso se atribuyen a que los RCs forman una barrera en la superficie del fruto que reduce la pérdida de agua por transpiración y, por lo tanto, pérdida de agua; además, limitan el intercambio de gases de O_2 y CO_2 (Aguilar-Méndez *et al.*, 2008).

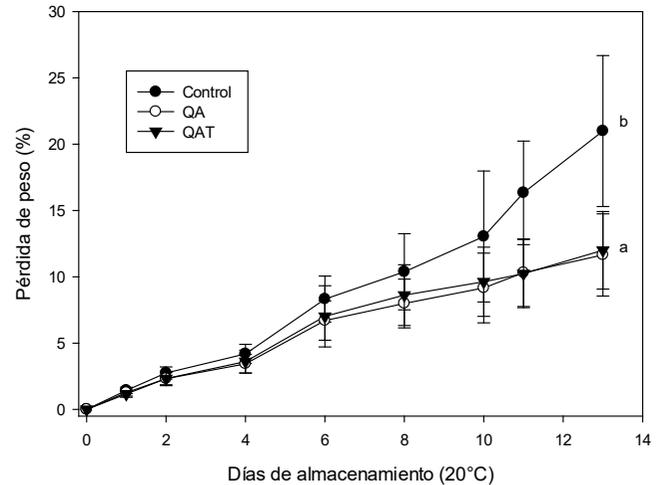


Figura 4. Cambios en la pérdida de peso en frutos de aguacate con recubrimientos comestibles de QA y QAT, almacenados por 13 d a 25 °C.

Figure 4. Changes in avocado fruits weight loss with QA and QAT edible coating stored for 13 d at 25 °C.

Respecto a la tasa de respiración, los aguacates Control y con RCs presentaron una disminución de la tasa de respiración durante su almacenamiento al décimo día a 25 °C (Figura 5), sin presentar diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$). Con excepción de los frutos QAT, los cuales presentaron un pico de producción al día 2 de almacenamiento, con un valor de 165 mL CO_2 $kg^{-1} h^{-1}$. Estos resultados coinciden con otros estudios en frutos de aguacate con RCs, donde reportan valores máximos de la tasa de respiración de 145 y 157 mL CO_2 $kg^{-1} h^{-1}$ (después de 6 días a 20 °C), para frutos encerados y frutos control, respectivamente (Meir *et al.*, 1997).

La producción de etileno disminuyó durante el almacenamiento a 25 °C por 10 d, no observándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los frutos control y con los RCs. La producción de etileno presentó un máximo al día 2, con valores de 82, 34 y 46 μL $kg^{-1} h^{-1}$ para el Control, QA y QAT, respectivamente para después disminuir sus valores.

En un fruto climatérico como el aguacate, el incremento en la tasa de respiración es el detonante para la elevación de etileno y cambios bioquímicos, como son la síntesis de carotenoides, degradación de clorofilas y carbohidratos, y la síntesis de ácidos grasos insaturados (Villa-Rodríguez *et al.*, 2011).

Incidencia de pudriciones

En lo que respecta a la incidencia de pudriciones, al día 6 de almacenamiento se observó la aparición de hongos en los frutos control (valor de 0.5, muy ligero). En contraste, los frutos con RCs de Q y QAT presentaron menor incidencia de pudriciones (Tabla 4). Para el día 13 de almacenamiento, los frutos Control mostraron un aumento significativo en la presencia de hongos con un valor de 2.1 (más del 25 %), mientras que los tratamientos con RCs QA y QAT presentaron menor incidencia de hongos, aunque en menor proporción,

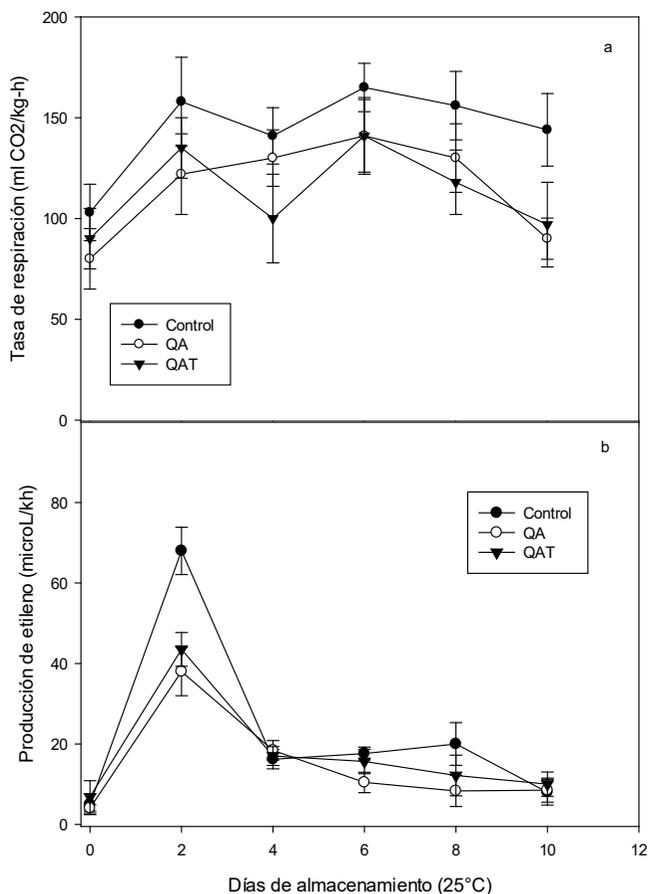


Figura 5. Cambios en la tasa de respiración (a) y producción de etileno (b) en frutos de aguacate con recubrimientos de QA y QAT almacenados por 13 d a 25 °C.

Figure 5. Changes in respiration rate (A) and ethylene production (B) of avocado fruits with QA and QAT edible coating stored for 10 d at 25 °C.

Tabla 4. Cambios de pudrición por hongos y pudrición de pedúnculo de aguacate ‘Hass’ recubiertos con QA y QAT almacenados por 13 d a 25 °C.

Table 4. Changes on the incidence and stem end rot of avocado fruit ‘Hass’ coated with QA and QAT stored for 13 d at 25 °C.

Pudrición por hongos			
Día	Control	QA	QAT
0	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
6	0.5 ± 0.52 ^{ab}	0 ± 0 ^a	0.16 ± 0.38 ^a
13	2.1 ± 1 ^c	0.92 ± 1.00 ^b	0.75 ± 1.17 ^b
Pudrición de pedúnculo			
Día	Control	QA	QAT
0	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a	0 ± 0 ^a
6	0.75 ± 1.5 ^{ab}	0.37 ± 0.75 ^a	0 ± 0 ^a
13	2.5 ± 1 ^c	0.72 ± 1.00 ^b	0.55 ± 1.17 ^b

Donde 0 = sin daño, 1 = daño ligero (10%), 1.5 (15%), 2 = daño moderado (25%) y 3 = daño severo (≤ 50%). *Es el promedio de la evaluación subjetiva de 15 frutos por tratamiento. *Literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($p < 0.05$).

con valores de 0.92 y 0.75 (daño ligero en el fruto). De acuerdo con los resultados, la aplicación de RCs nos indica que se inhibió significativamente el crecimiento de hongos en los frutos de aguacate, aunque no inhibió completamente la aparición de pudriciones. Esto coincide con lo reportado por otros autores, quienes mencionan una reducción de incidencia de pudriciones con RC de Q. Martínez-Camacho *et al.* (2010) evaluaron el crecimiento radial de colonias de *Aspergillus niger* en un medio de cultivo con quitosano, donde se encontró que el Q tuvo un efecto fungistático al inhibir el crecimiento del hongo, pero no lo inhibió al 100 %, y no un efecto fungicida. Resultados similares fueron obtenidos del Q y sus derivados al inhibir el crecimiento de hongos como *B. cinérea*, *Fusarium oxysporum*.

Esto se atribuye a diversos mecanismos de acción de Q propuestos, como es la modificación de la pared celular de los hongos, reduciendo su capacidad de regeneración de la pared celular del microorganismo, provocando su muerte. Se ha reportado en varios trabajos la actividad antimicrobiana del quitosano (El Ghaouth *et al.*, 1992; Rodríguez-Núñez *et al.*, 2014), donde se ha observado una reducción en el crecimiento micelar de varios microorganismos como *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer* a una concentración de quitosano (750-6000 mg/L) (Badawy y Rabea, 2011).

En lo que respecta a la pudrición del pedúnculo se tuvo un comportamiento muy similar, donde al día 6 se empezaron a presentar la incidencia de pudriciones (Tabla 4). Los frutos con los RCs presentaron menor desarrollo de pudriciones. Los frutos con RC de QAT no presentaron incidencias de pudriciones de pedúnculo al día 6 de almacenamiento hasta el día 10; esto se atribuye a la actividad antimicrobiana del quitosano y aceite de tomillo. La pudrición peduncular del aguacate se presenta en postcosecha, es un factor que limita su comercialización y exportación. Las restricciones del uso de fungicidas convencionales limitan su uso, por lo cual la aplicación de compuestos como el Q se pudiera utilizar en el control de esta pudrición.

Por otra parte, el modo de acción del aceite de tomillo pudiera estar relacionada con la presencia de compuestos como el timol y carvacrol, y a su actividad antimicrobiana. Sellamuthu *et al.* (2013) reportaron que empaques en atmósferas modificadas (MAP, 8 % CO₂ y 2 % O₂) + aceite de tomillo redujeron la incidencia del hongo que causa la antracnosis; así mismo, reduciendo la pérdida de peso y firmeza después de 18 d de almacenamiento a 10 °C más 10 d a 25 °C en frutos de aguacate ‘Hass’.

CONCLUSIONES

Por medio de la técnica solución-vaciado, se fabricaron PCs de Q, A, QA y QAT, las cuales fueron transparentes, homogéneas y uniformes en color, aunque con una ligera coloración amarilla. Además, en los resultados de las pruebas mecánicas a tensión de las PCs, se observó que las películas

de QA y QAT presentaron valores más altos de esfuerzo máximo y módulo de elasticidad, pero una baja flexibilidad. Las PCs de QA y QAT destacaron por su resistencia a la tensión, transparencia, velocidad de transmisión al vapor de agua y permeancia, así como la mayor capacidad antioxidante. Los resultados obtenidos de la permeabilidad al vapor indican que las mezclas QA y QAT son aptas para aplicarse en forma de RCs.

Los RCs aplicados a los frutos disminuyeron la pérdida de peso en casi un 40% en comparación con los frutos control. La aplicación de los RC a base de QA y QAT contribuyeron positivamente a mantener la calidad e inhibir la pudrición de los frutos y pudrición peduncular de frutos aguacate 'Hass'. Los RCs QAT tuvieron un mayor efecto fungistático en el control del desarrollo de algunos hongos en postcosecha, reduciendo la incidencia de pudriciones del pedúnculo durante el almacenamiento a 25 °C después de 13 días de almacenamiento y permitieron conservar la apariencia de los frutos durante el almacenamiento a 25 °C. Por lo cual la aplicación de RC compuestos con el Q y aceite de tomillo en frutos de aguacate se pudiera utilizar en el control de pudriciones.

REFERENCIAS

- Aguilar-Méndez, M., San Martín-Martínez, E., Cruz-Orea, T. y Jaime-Fonseca, M. 2008. Gelatine starch films: Physicochemical properties and their application in extending the postharvest shelf life of avocado (*Persea americana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88(2):185-193. doi:10.1002/jsfa.3068.
- Arpaia, M. 2009. Manual internacional de la calidad del aguacate. Pub. 25. Postharvest Technology Center. University of California, Davis CA. <http://postharvest.ucdavis.edu>.
- Adiletta G., Di Mateo M. y Petriccione, M. 2021. Multifunctional role of chitosan edible coating on antioxidant systems in fruit crops: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* 22:2633. doi:10.3390/ijms22052633.
- Al-Tayyar N.A., Youssef A.M. y Al-Hindi R.R. 2020. Edible coating and antimicrobial nanoemulsions for enhancing shelf life and reducing food borne pathogens of fruits and vegetables a review. *Sustainable Materials and Technologies* 40,20 p.e00215.
- Altiock D., Altiock E. y Tihminlioglu, F. 2010. Physical, antibacterial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with thyme oil for potential wound healing. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 21:2227-2236. doi:10.1007/s10856-010-4065-x.
- Badawy, E.M. y Rabea I. 2011. A biopolymer chitosan and its derivatives promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *International Journal of Carbohydrates Chemistry*. Vol. 29:460381. doi:10.1155/2011/460381.
- Balau L., Lisa G., Popa M.I., Tura V. y Melnig V. 2004. Physico-chemical properties of chitosan films. *Central European Journal of Chemistry* 2(4), 638-647. doi:10.2478/BF02482727.
- Bourtoom, T. 2008. Plasticizer effect on the properties of biodegradable blend film from rice starch-chitosan. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 30 (Suppl.1):149-165.
- Brand-Williams, W., Cuvelier M.E. y Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidants activity. *LWT-Food Sciences and Technology* 28(1):25-30. doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
- Campa-Siqueiros P., Vargas-Aispuro I., Quintana-Owen P., Freile-Pelegrin Y., Azamar-Barrios J. y Madera-Santana, T. 2020. Physicochemical and transport-properties of biodegradable agar films impregnated with natural semichemical based on hydroalcoholic garlic extract. *International Journal of Biological Macromolecules* 151:27-35. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.158.
- El Ghaouth, A., Arul, J., Asselin, A. y Benhamou, N. 1992. Antifungal activity of chitosan on post-harvest pathogens: induction of morphological and cytological alterations in *Rhizopus stolonifer*. *Mycological Research*. 96(9): 769-779.
- Escárcega-Galaz, A., Sánchez-Machado, D., López-Cervantes, J., Sánchez-Silva, A., Madera-Santana, T. y Paiseiro-Losada, P. 2018. Mechanical, structural and physical aspects of chitosan-based films as antimicrobial dressings. *International Journal of Biological Macromolecules* 116:472-481. doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.149
- Fang, Y., Tung, M., Britt, I., Yada, S. y Dalgleish, D. 2002. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*. 67, 188-193. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb11381.x>.
- Genskowsky E., Puente L.A., Pérez-Alvarez J.A., Fernández-López J., Muñoz L.A. y Viuda-Martos, M. 2015. Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry. *Food Science and Technology* 64:1057-1062. doi:10.1016/j.lwt.2015.07.026
- Goycoolea, F., Remuñan-López, C. y Alonso, M. J., 2009. Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano. *Monogr. Real Acad. Nac. Farm.* 2009, 103-131.
- Jakuboswka E., Gierszewska M., Nowaczyk J. y Olewnik-Kruszkowska, E. 2020. Physicochemical and storage properties of chitosan-based films plasticized with deep eutectic solvent. *Food Hydrocolloids* 108:106007. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106007.
- Pandey V.K., Ul Islam R., Shams R. y Hussain A.D. 2022. A comprehensive review on the application of essential oils as bioactive compounds in nanoemulsion based edible coating of fruits and vegetables. *Applied Food Research* 2(1):100042. doi.org/10.1016/j.afres.2022.100042.
- Peniche, C., Argüelles-Monal, W. y Goycoolea, F.M., 2008. Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications, in: Belgacem, M.N., Gandini, A. (Eds.), *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Elsevier, Amsterdam, pp. 517-542. doi.org/10.1016/B978-0-08-045316-3.00025-9
- Liu, Y, Yuan, Y., Duan, S., Li, G. y Liu, B. 2020. Preparation and characterization of chitosan films with three kinds of molecular weight for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules* 155:249-259. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.217
- López-Ambrocio, M.N., Ruiz-Posadas, L.M. y Delgadillo-Martínez. 2016. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris* L). *Agroproductividad* 9(11):78-82.
- Kader, A.A. y Arpaia, M.L. 1999. Avocado, *Produce Facts*. Postharvest Technology Center. University of California, Davis. http://postharvest.ucdavis.edu/produce_facts/fruits/avocado.html.

- Kanmani, P. y Rhim, J. 2014. Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. *Carbohydrate Polymers* 102:708-716. doi:10.1016/j.carbpol.2013.10.099
- Kumar S., Mukherjee A. y Dutta, J. 2020. Chitosan based nanocomposite films and coating: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science and Technology* 97:196-209. doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.002
- Madera-Santana, T., Robledo, D. y Freile-Pelegrin, Y. 2011. Physicochemical properties of biodegradable polyvinyl alcohol-agar films from the red algae *Hydropuntia corneri*. *Marine Biotechnology* 13:793-800. doi 10.1007/s10126-010-9341-8
- Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Ezquerra-Brauer, J. M., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., Yépiz-Gómez, M. S., y Plascencia-Jatomea M. 2010. Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 305-315. doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.069
- Martínez-Robinson, K.G., Martínez-Inzunza, A., Córdova, R.J.R., Rochín-Wong, S., Vasquez-García, S.R. y Fernández-Quiroz, D. 2022. Physicochemical study of chitin and chitosan obtained from California brown shrimp (*Farfantepenaeus californiensis*) exoskeleton. *Biotecnia* 24, 28-35. doi.org/10.18633/biotecnia.v24i2.1616
- Maftoonazad, N. y Ramaswamy, H. 2005. Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT:Food Science and Technology* 38:617-624. doi:10.1016/j.lwt.2004.08.007
- Meir S., Naiman D., Akerman M., Hyman J., Zauberman G. y Fuchs, Y. 1997. Prolonged storage of "Hass" avocado fruit using modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology* 12(1):51-60. doi.org/10.1016/S0925-5214(97)00038-0
- Noshirvani, N., Ghanbarzadeh, B., Gardrat, C., Reza, M., Hashemi, M., Le Coz, C. y Coma, V. 2017. Cinnamon and ginger essential oil to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. *Food Hydrocolloids* 70:36-45. doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.015
- Ramos-García, M., Bautista-Baños, S. y Barrera-Necha, L. 2010. Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Rev. Mex. Fitopatol.* 28, 44-57. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=612/61214206005.
- Rhim J.W., Hong S.I., Park H.M. y Ng, P. 2006. Preparation and characterization of chitosan-based nanocomposite films with antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(16):5814-5822. doi:10.1021/jf060658h
- Rinaudo M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymers Science* 31:603-632.
- Rodríguez-Nuñez J.R., Madera-Santana T., Sanchez-Machada D., Lopez-Cervantes J. y Soto-Valdez, H. 2014. Chitosan/Hydrophilic plasticizer-based films: preparation, physicochemical and antimicrobial properties. *Journal of Polymers and Environment* 22(1):41-51. doi 10.1007/s10924-013-0621-z
- Santos-Lopez G., Arguelles-Monal W., Carvajal-Millan E., Lopez-Franco Y., Recillas-Mota M. y Lizardi-Mendoza J. 2017. Aerogels from chitosan solutions in ionic liquids. *Polymers* 9,722. doi:10.3390/polym9120722
- Sellamuthu, P.S., Mafune, M., Sivakumar, P. y Sounndy, D. 2013. Thyme oil vapour and modified atmosphere packaging reduce anthracnose incidence and maintain fruit quality in avocados. *Journal of the Science of Food Agriculture* 93:3024-3031. doi 10.1002/jsfa.6135
- Vargas, M., Albors, A., Chrrait, A. y Gonzalez, C. 2006. Quality of cold-stores strawberries as affected by chitosan oleic acid edible coating. *Postharvest Biology and Technology* 41(2):164-171. doi:10.1016/j.postharvbio.2006.03.016
- Villa-Rodríguez, J.A., Molina-Corral, F.J., Ayala-Zavala, F. y González-Aguilar, G. 2011. Effect of maturity stage on the content of fatty acid and antioxidant activity of "Hass" avocado. *Food Research International* 44(5):1231-1237. doi:10.1016/j.foodres.2010.11.012