

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA**



**RECUBRIMIENTO BIODEGRADABLE DE ALGINATO POTENCIADO CON
EXTRACTO ETANÓLICO DE *Anacardium occidentale* L. PARA PROLONGAR
LAS CARACTERISTICAS COMERCIALES DE FRUTOS FRESCOS DE
MANGOS KENT EN EL PERIODO POSTCOSECHA**

AUTOR : BSc. Jesaya Álisson Ríos Mendoza

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN
BIOLOGÍA**

ASESORA: MSc. Dora Jesús Maurtua Torres

CO-ASESOR: PhD. José Manuel López Ludeña

Lima-Perú

2022

A mis padres: Flor y Alex

A mi hermana: Alex

E pluribus unum

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al **PhD. José Manuel López**, quien me apoyó desinteresadamente desde la tesis de bachillerato hasta culminar la tesis de licenciatura, aportando gran parte de sus conocimientos sobre nanomateriales y recubrimientos en superficies. Muchas gracias por guiarme y enseñarme el valor de ser un buen científico, por su tiempo para ejecutar este proyecto y las muchas reuniones mostrándome cómo redactar el escrito, cómo comunicar mis ideas, cómo plantear los ensayos, entre muchas otras cosas. Gracias por confiar en mí desde el inicio, por brindarme soluciones y tranquilidad cuando me estancaba en algunos ensayos, gran parte de lo que soy ahora se lo debo a usted, además esta tesis no hubiera sido lo que es sin su ayuda. Estaré eternamente agradecida por sus enseñanzas y su gran apoyo durante estos cinco largos años.

Agradezco a la **MSc. Dora Maurtua**, por confiar en mí y darme la oportunidad de pertenecer al laboratorio de bacteriología (LID 206) y microbiología, por tener siempre disponibilidad cuando le pedía su apoyo, por su paciencia y enseñanzas. Gracias por aclararme muchas dudas, por su apoyo en la ejecución y revisión de esta tesis. Gracias a usted llegué a apasionarme por la microbiología.

Agradezco a **mi mamá**, por apoyarme en todo momento. Por dejarme volar y confiar siempre en mí, a **mi hermana** por encontrar siempre una frase para no bajonarme en algunos momentos de mi etapa universitaria.

Agradezco a mi **mamá María** y a **mis tías Gladys, Rocío y Rosita** por estar siempre al pendiente de mí con sus llamadas y su apoyo en toda mi etapa universitaria.

Quiero agradecer al **Sr. William**, apoyo técnico del laboratorio de microbiología, por todo su tiempo y apoyo en la realización de los ensayos microbiológicos, gracias por quedarse muchas horas más en el laboratorio para que yo pueda culminar mis ensayos. Por ayudarme a tener los materiales listos y estériles para obtener buenos resultados.

Quiero agradecer a **Miguel**, Ing. Industrial, jefe y amigo de trabajo, gracias por brindarme siempre la libertad de ejecutar mi proyecto de investigación en el trabajo, gracias por confiar en mí. Finalmente, agradecer a **Moisés**, Ing. agrónomo, compañero y amigo de trabajo, por tu tiempo para resolver mis dudas en el tema del estudio estadístico. Gracias por darme la confianza de que mis resultados puedan ser más visibles e interesantes.

Jesaya Alison Rios Mendoza

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	5
3. OBJETIVOS.....	5
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	6
4.1.OBTENCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL.....	7
4.2.OBTENCIÓN DEL EXTRACTO NATURAL DE MARAÑÓN.....	7
4.3.ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO.....	8
4.3.1. MICROORGANISMOS DE ESTUDIO.....	8
4.3.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE ESPORAS	8
4.3.3. TÉCNICA DE POZO EN AGAR.....	9
4.3.4. DETERMINACIÓN DE LA CMI.....	9
4.4.ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO.....	10
4.4.1.INOCULACIÓN DE FITOPATÓGENOS EN MANGOS.....	10
4.5.RECOLECCIÓN Y COLORACIÓN INTERNA DE MANGOS.....	11
4.6.PREPARACIÓN DE RECUBRIMIENTO DE ALGINATO + EXTRACTO ETANÓLICO DE MARAÑÓN	12
4.7.APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS EN MANGOS.....	12
4.8.EVALUACIÓN DE LA CALIDAD COMERCIAL DE FRUTOS DE MANGOS <i>KENT</i>	13
4.8.1. PÉRDIDA DE FIRMEZA.....	13
4.8.2. CAMBIOS EN LA COLORACIÓN	13
4.8.3. PÉRDIDA DE PESO DE LOS FRUTOS.....	14
4.9. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE LA CALIDAD COMERCIAL.....	14
4.10. EVALUACIÓN DE INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS	15
4.11.EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DEL FITOPATÓGENO.....	15
4.12. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE EFICACIA DEL TRATAMIENTO SOBRE LA INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS.....	16
4.13.ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	16
5. RESULTADOS.....	17

5.1.RENDIMIENTO DE OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	17
5.2.EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO.....	17
5.2.1.ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MARAÑÓN.....	17
5.2.2.CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA CMI.....	20
5.3.EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO	22
5.3.1.INOCULACIÓN DE CEPAS EN FRUTOS DE MANGOS	22
5.4.EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MARAÑÓN INMERSO EN LA MATRIZ DE ALGINATO.....	23
5.5.EVALUACIÓN DE LA MATRIZ DE FIJACIÓN (ALGINATO) FORMULADO A DIFERENTES CONCENTRACIONES	24
5.6.COLORACIÓN INTERNA DE LOS MANGOS.....	25
5.7.EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD COMERCIAL	26
5.7.1. EVALUACIÓN DE FIRMEZA.....	26
5.7.2. EVALUACIÓN DE COLORACIÓN.....	28
5.7.3. EVALUACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO DE LOS FRUTOS.....	30
5.7.4. EVALUACIÓN DE INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE FITOPATÓGENOS.....	31
5.8. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE PROLONGACIÓN DE LA CALIDAD COMERCIAL.....	33
5.9. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE EFICACIA DEL TRATAMIENTO SOBRE LA INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS.....	34
6. DISCUSIÓN	35
7. CONCLUSIONES	43
8. RECOMENDACIONES	44
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
10. ANEXOS	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Semillas de Marañón

Figura 2. Identificación taxonómica de la planta.

Figura 3. Evaporación del extracto etanólico de marañón.

Figura 4. Colecta de los mangos *Kent*.

Figura 5. Cartilla de coloración de mangos variedad *Kent*.

Figura 6. Índice de madurez del mango, basado en el color de la piel y la pulpa para los cultivares *Kent*.

Figura 7. Escala de severidad para la evaluación de antracnosis en mango, apariencia de los frutos en cada nivel de severidad. A. nivel 0, B. nivel 1, C. nivel 2, D. nivel 3, E. nivel 4.

Figura 8. Enfrentamiento fúngico (*Aspergillus niger*): a. Extracto de marañón b. Control positivo (Mancozeb) c. Control negativo (Etanol absoluto).

Figura 9. Enfrentamiento fúngico (*Colletotrichum gloeosporioides*): a. Extracto de marañón b. Control positivo (Mancozeb) c. Control negativo (Etanol absoluto).

Figura 10: Prueba de microdilución en placa M38-A para *Aspergillus niger*

Figura 11: Prueba de microdilución en placa M38-A para *Colletotrichum gloeosporioides*.

Figura 12. Evaluación de incidencia y severidad de *C. gloeosporioides* inoculados en frutos de mangos.

Figura 13. Evaluación de incidencia y severidad de *A. niger* inoculados en frutos de mangos.

Figura 14. Enfrentamiento fúngico (*A. niger*): a. alginato + extracto b. alginato solo.

Figura 15. Enfrentamiento fúngico (*C. gloeosporioides*): a. alginato + extracto b. alginato solo.

Figura 16. Evaluación de la coloración interna de mangos *Kent*.

Figura 17. Proceso de cambio de color de las cáscaras de mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

Figura 18. Desarrollo de la incidencia y severidad de fitopatógenos en mangos almacenados a $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Escala para la evaluación de firmeza en mangos.

Tabla 2. Escala para la evaluación de coloración en mangos.

Tabla 3. Escala para la evaluación de severidad de antracnosis causada por *C. gloesporioides* en mangos. Valores en porcentaje de área del fruto con síntomas.

Tabla 4. Datos etnobotánicos y rendimiento porcentual del extracto crudo.

Tabla 5. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *A. niger*.

Tabla 6. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *C. gloesporioides*.

Tabla 7. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *A. niger*.

Tabla 8. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *C. gloesporioides*.

Tabla 9. Evaluación del proceso de maduración de mangos recubiertos con diferentes concentraciones de alginato: 2%, 1.5%, 1%, 0.5% y frutos sin recubrimiento.

Tabla 10. Escala para la evaluación de coloración interna.

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto natural de marañón

Gráfica 2. Cambios en la pérdida de firmeza durante el almacenamiento de mangos a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

Gráfico 3. Cambios en la coloración de los mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

Grafica 4. Cambios en la pérdida de peso de los mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

Gráfica 5. Incidencia de fitopatógenos en mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

Gráfica 6. Severidad de fitopatógenos en mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

ANEXOS

LISTA DE FLUJOGRAMA SUPLEMENTARIO

Flujograma suplementario 1. Diagrama de actividades realizadas en el proyecto de investigación

LISTA DE INFORMES SUPLEMENTARIOS

Informe Suplementario 1: Resultado de Tipificación de *Aspergillus niger* – INS

Informe Suplementario 2: Resultado de Tipificación de *Colletotrichum gloeosporioides* – UNALM

Informe Suplementario 3: Resultado de la Determinación Taxonómica de la planta muestreada.

LISTA DE TABLAS SUPLEMENTARIAS

Tabla suplementaria 1. Formulario de control de lectura microdilución en caldo para la determinación de CMI en *A. niger*.

Tabla suplementaria 2. Formulario de control de lectura microdilución en caldo para la determinación de CMI en *C. gloeosporioides*.

Tabla suplementaria 3. Evaluación de firmeza. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 4. Análisis estadístico de la variable firmeza. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 5. Evaluación de la coloración. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 6. Análisis estadístico de la variable coloración. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 7. Pérdida de peso de los tratamientos. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 8. Análisis estadístico de la pérdida de peso. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tabla suplementaria 9. Data colectada de la Temperatura (°C) y Humedad Relativa (% - Senamhi). **C:** Sin recubrimiento **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

LISTA DE FIGURAS SUPLEMENTARIAS

Figura suplementaria 1. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento control (sin recubrimiento).

Figura suplementaria 2. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento 1 (recubrimiento con alginato solo).

Figura suplementaria 3. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento 2 (recubrimiento con aditivo de extracto etanólico de marañón).

LISTA DE GRÁFICAS SUPLEMENTARIAS

Gráfica suplementaria 1. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 2 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 2. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 4 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 3. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 6 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 4. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 8 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 5. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 10 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 6. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 12 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 7. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 14 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 8. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 16 de almacenamiento

Gráfica suplementaria 9. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 17 de almacenamiento.

LISTA DE ABREVIATURAS

EEM	Extracto Etanólico de Maraón
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria

RESUMEN

El mango, es un fruto tropical, considerado de alta importancia comercial a nivel mundial, sin embargo, la mayor problemática que tiene es su intensa actividad metabólica que lo predispone a deterioros fisiológicos limitando sus procesos de empaque, almacenamiento y transporte, lo que genera grandes pérdidas en postcosecha. A partir de esta problemática, nos planteamos el objetivo de prolongar las características comerciales, mediante la aplicación de un recubrimiento biodegradable, compuesto por una matriz de alginato potenciado con Extracto Etanólico de Marañón (EEM). Basándonos inicialmente en la evaluación In vitro e In vivo de la actividad antifúngica del EEM frente *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloeosporioides*, procediendo a validar el recubrimiento potenciado con el EEM en mangos var. *Kent* con su posterior evaluación de las características comerciales (pérdida de peso, firmeza, coloración, e incidencia y severidad fitopatógenos). Los resultados mostraron que, el EEM demostró tener una alta efectividad antifúngica frente a *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloeosporioides* con una MIC de 0.08mg/ml y 0.004mg/ml respectivamente. El recubrimiento potenciado, mostró diferencias significativamente ventajosas en todos los parámetros comerciales ($p < 0.05$) en comparación al tratamiento control sin recubrimiento y el tratamiento solo de alginato. Así mismo, disminuyó la incidencia y severidad de fitopatógenos en un 85.84%, además de prolongar las características comerciales en cuanto firmeza, coloración y pérdida de peso hasta en un 166.6% más en comparación al tratamiento control, mientras que el tratamiento con alginato solo, aumentó la calidad comercial en 141.6 % en relación al control. Si comparamos los dos tratamientos, el alginato más marañón mejoró en un 117.6% más, en comparación al tratamiento de alginato solo. A partir de ello, se concluyó que el recubrimiento potenciado con el EEM, tiene un efecto protector significativamente superior ($p < 0.05$) en comparación a los tratamientos, control y alginato solo, disminuyendo la pérdida de peso, ralentizando la coloración, manteniendo la turgencia y disminuyendo la incidencia y severidad de fitopatógenos.

Palabras clave: Recubrimiento, EEM, actividad antifúngica, características comerciales, calidad comercial.

ABSTRACT

The mango is a tropical fruit, considered of high commercial importance worldwide, however, the biggest problem it has is its intense metabolic activity that predisposes it to physiological deterioration, limiting its packaging, storage and transportation processes, which generates large postharvest losses. From this problem, we set ourselves the goal of prolonging the commercial characteristics, through the application of a biodegradable coating, composed of an alginate matrix enhanced with Cashew Ethanolic Extract (EEM). Based initially on the In vitro and In vivo evaluation of the antifungal activity of EEM against *Aspergillus niger* and *Colletotrichum gloeosporioides*, proceeding to validate the EEM-enhanced coating on mangoes var. Kent with its subsequent evaluation of the commercial characteristics (weight loss, firmness, coloration, and phytopathogenic incidence and severity). The results showed that EEM showed a high antifungal effectiveness against *Aspergillus niger* and *Colletotrichum gloeosporioides* with a MIC of 0.08mg/ml and 0.004mg/ml, respectively. The enhanced coating showed significantly advantageous differences in all commercial parameters ($p < 0.05$) compared to the control treatment without coating and the alginate-only treatment. Likewise, there will be the incidence and severity of phytopathogens in 85.84%, in addition to prolonging the commercial characteristics in terms of firmness, coloration and weight loss up to 166.6% more compared to the control treatment, while the treatment with alginate alone, increased the commercial quality by 141.6% in relation to the control. If we compare the two treatments, the alginate plus cashew improved by 117.6% more, compared to the alginate treatment alone. From this, it was concluded that the EEM-enhanced coating has a significantly higher protective effect ($p < 0.05$) compared to the treatments, control and alginate alone, reducing weight loss, slowing coloration, maintaining turgor. and reducing the incidence and severity of phytopathogens.

Keywords: Coating, EEM, antifungal activity, commercial characteristics, commercial quality

1. INTRODUCCIÓN

El mango, es uno de los frutos de mayor importancia comercial y agroindustrial, pues está considerado como el tercer fruto tropical producido e importado a nivel mundial, con una producción que representa cerca del 50% del total de frutos en el mundo(1–3). En el Perú, es también de gran importancia, ya que nuestro país se encuentra posicionado como el tercer exportador a nivel mundial, con una tasa promedio anual del 14 % (4).

Sin embargo, una de las problemáticas es que, es un fruto climatérico, debido a que, tras su periodo de recolección o postcosecha, continúa madurando y envejeciendo rápidamente a causa de su intensa actividad metabólica, que lo predispone a su deterioro fisiológico, limitando los procesos de empaque, almacenamiento y transporte, ocasionando así grandes pérdidas (5). Además, al ser altamente perecedero, es susceptible a ataques por fitopatógenos que generan enfermedades con pérdidas en postcosecha que varían entre un 20%-25% (6), uno de ellos, considerado el más importante, la antracnosis, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, hongo hialino con conidios transparentes y estructura algodonosa, su incidencia y gravedad es más alta en el periodo postcosecha generando síntomas alarmantes en la etapa comercial con el desarrollo de manchas de descomposición hundidas, prominentes, de color marrón oscuro a negro después de la cosecha (7). Otra enfermedad incidente en este fruto, es la mancha negra, causada por *Aspergillus niger*, caracterizada por generar una pudrición oscura con incidencia de conidios de color negro, apreciables a simple vista (8,9). En general, estos fitopatógenos, identificados en diferentes países como México, Colombia, India, incluido el nuestro (10,11), generan enfermedades de alta importancia comercial, ya que los daños causan un rechazo total de la fruta o un reempaque de la misma, siendo demasiado costosa y, en consecuencia, una pérdida económica significativa(10).

Por ello, es necesario que se maneje adecuadamente durante el periodo postcosecha (12), pues la mayor tasa de pérdida se da en esta etapa con una merma que puede llegar a ser hasta el 20% de la producción total, debido a deterioros microbiológicos y fisiológicos (6). Por estos motivos, se demanda un adecuado manejo después de su recolección, que garantice la preservación del fruto para asegurar su exportación y evitar su pérdida y deterioro por diferentes factores abióticos como: temperatura, dióxido de carbono y humedad; y factores bióticos, como hongos y bacterias (13,14) , los cuales afectan su calidad en cuatro niveles: apariencia, textura, sabor y aroma.

Actualmente en nuestro país, las tecnologías que ayudan a preservar las características comerciales del mango en el manejo en postcosecha son: tratamientos químicos, recubrimientos con ceras y el tratamiento hidrotérmico.

Los **tratamientos químicos**, como los fungicidas, son usados para evitar el desarrollo de microorganismos, y por consecuencia evitar el deterioro de los frutos. Sin embargo, actualmente los fitopatógenos se están volviendo más resistentes a estos tratamientos por su uso descontrolado. Además, la mayoría está siendo suspendido por problemas de contaminación para la salud y la atmósfera (15).

Por su parte, los recubrimientos con **ceras**, como la E914 (polietileno oxidado, de origen sintético y derivado del petróleo) proporciona una barrera de libre intercambio de gases, aportando principalmente brillo a los frutos (16). Sin embargo, su ingreso se encuentra restringido a un mercado importante como Japón, dado el origen de sus componentes según lo indica el Japan Food Sanitation Act. 87 Ch. II. En cuanto a las **resinas**, como un tipo de cera, en muchos casos su uso ha dado lugar a problemas medioambientales, pues contienen compuestos amoniacales (17,18). En general, el uso de ceras de manera individual está muy limitada, pues los frutos, además de prolongar su calidad comercial, necesitan reducir problemas fitopatológicos, por lo que su uso se ve obligado a aplicarse junto a fungicidas como el tiabendazol, pirimetanil, mancozeb, imazalil, etc. (17,18). Por ello, las alternativas no contaminantes son cada vez más necesarias.

Mientras que, el **tratamiento hidrotérmico**, consiste en el uso de agua caliente para llevar al producto a una temperatura requerida por un periodo de tiempo determinado de acuerdo al tipo de fruto que quiera tratarse. Esta técnica reduce la podredumbre. Aunque el proceso hidrotérmico es eficiente, el uso de agua caliente reduce significativamente la capa de cera natural que cubre el producto, acelerando la actividad enzimática y la tasa de respiración, como consecuencia reduce la calidad comercial del fruto(19–21) .

Entonces, debido al creciente desarrollo de la producción y exportación del mango en nuestro país y debido a que las actuales técnicas tienen algunas limitaciones en la reducción de pérdidas, además de que los nuevos mercados exigen productos sin fungicidas químicos, existe un gran interés científico por investigar y desarrollar nuevas biotecnologías innovadoras, rentables y amigables con el medio ambiente que ayuden a preservar la vida en anaquel de frutos con vida útil limitada. Los recubrimientos biodegradables son una buena alternativa frente a este problema, ya que son capas delgadas, transparentes y micro porosas

que pueden ser aplicadas en la superficie de los frutos, actuando como barrera contra el medio externo, por lo que reducen la permeabilidad al vapor de agua, controlan la transferencia de humedad, gases y compuestos volátiles, tienen alta capacidad mecánica, son estables a nivel bioquímico, fisicoquímico y microbiano, su proceso de fabricación es tecnológicamente replicable, de bajo costo tanto en equipos como en materiales, son fácilmente emulsionables y de baja viscosidad(22). Estas propiedades logran modificar el índice respiratorio, provocando una reducción significativa sobre las pérdidas de peso, siendo este un factor que influye en la frescura de la fruta. Además, conservan las propiedades sensoriales en cuanto apariencia, color, brillo, textura y humedad del producto (23). Así, los recubrimientos biodegradables han demostrado tener la capacidad de mejorar la integridad y calidad de los frutos, para disminuir su descomposición y prolongar su vida en anaquel.

Por ello, con el propósito de generar un producto óptimo para prolongar la calidad comercial de frutos frescos de mangos *Kent* en postcosecha, se eligió un polisacárido extraído de algas pardas “**el alginato**”, sal de ácido algínico que forma parte de estructuras (pared celular y regiones intercelulares) de las algas pardas, donde brinda propiedades de resistencia y elasticidad al tejido (24). La conversión de este ácido en alginato de sodio permite su solubilidad en agua, lo que ayuda a su extracción y a su posterior uso (25).

Diversos estudios, como lo reportado por *Parreidt et al* (2018) indican que el alginato tiene el potencial de formar una matriz resistente con capacidad de generar un recubrimiento con propiedades *gelificantes*, es decir, puede crear geles y establecer enlaces con iones divalentes como el calcio; *Estabilizantes*, ya que aporta consistencia a los alimentos, *espesante* debido a que al agregarse a una mezcla aumenta su viscosidad sin modificar sustancialmente sus otras propiedades (25), además, gracias a su propiedad *emulsificante*, se podrían integrar nuevos elementos antimicrobianos, surfactantes, antioxidantes y anti pardeamientos con el fin de preservar la calidad de los productos (25). Este recubrimiento biodegradable, se puede usar para prolongar la calidad comercial de productos altamente perecederos. Se han obtenido buenos resultados en productos cárnicos, frutas frescas y verduras recubiertas con mezclas de alginato y aditivos integrados (24,25).

Los elementos que muestran actualmente un mayor interés científico, los extractos naturales, estudiados como fuentes de agentes antimicrobianos, además de ser sustancialmente seguros y con capacidad de degradación (26).

La inmersión de antimicrobianos sobre recubrimientos puede reducir la tasa de crecimiento de microorganismos que afectan la calidad de los frutos. Además, pueden brindar una barrera física que impida la contaminación inicial del producto (27).

El alginato como recubrimiento comestible es capaz de incorporar agentes antimicrobianos debido a su propiedad emulsionante, lo que permite destacar la calidad, eficacia y seguridad del fruto. Esto es corroborado por estudios que han reportado el efecto sobre la inmersión de agentes antimicrobianos como: aceite de canela y aceite de orégano sobre recubrimientos de alginato aplicados en frutos de fresa y tomates, respectivamente (28,29). Los resultados indicaron que los recubrimientos de alginato con la adición de estos agentes, tienen mejor efecto protector.

Se eligió las semillas de *Anacardium occidentale* L. (marañón) como potencial agente antimicrobiano para su inmersión en la matriz de alginato, debido a que la planta del género *Anacardium* está recibiendo cada vez, mayor importancia en la comunidad científica gracias a sus propiedades nutricionales, biológicas y a los metabolitos secundarios que están presentes en toda la planta (30). Además, el marañón se ha utilizado durante muchos años como medicina popular en América del Sur y África Occidental, ya que reporta diversas propiedades biológicas, entre ellas, actividades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas y antiinflamatorias (31). Por su parte, en Nigeria, el marañón se utiliza para tratar trastornos cardiovasculares; en Brasil, se usa como infusión para curar dolencias (32), mientras que en la amazonia peruana las semillas en específico, se usan como tratamiento para infecciones de la piel, triturándolas, generando una masa y aplicándolas en la zona afectada (33).

Las investigaciones antimicrobianas hasta ahora reportadas, se concentran en las hojas, frutas y cortezas, mientras que el estudio de la semilla se encuentra muy limitado, reportándose estudios sobre el perfil químico de la cáscara de semillas de marañón, reconociéndose fitoquímicos como flavonoides, triterpenos, fenoles y aceites volátiles, los cuales podrían brindarle efectos bioactivos (34). Además, su composición alta en taninos, lo hace un producto potencial con fines alimenticios, biológicos y nutraceuticos, mientras que, la harina de las semillas se reconoce como buena fuente de proteínas y minerales, por su parte la fibra y el líquido de la cáscara al poseer un alto contenido de ácidos anacárdicos se podrían utilizar en formulaciones de alimentos funcionales (31,32,34). Por lo descrito, se podría inferir que la semilla de marañón es una fuente potencial antifúngica.

Por ello, se propuso el estudio de un recubrimiento compuesto de alginato potenciado con EEM, propiedades que fueron evaluadas inicialmente a nivel de laboratorio para luego ser valoradas en frutos frescos de mangos var. *Kent*.

2. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿La aplicación del recubrimiento, matriz compuesta de alginato potenciado con Extracto Etanólico de Marañón (EEM) prolongará las características comerciales de frutos frescos de mangos var. *Kent* en postcosecha?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Prolongar las características comerciales de frutos frescos de mangos var. *Kent* en el periodo postcosecha, mediante la aplicación de un recubrimiento biodegradable basado en una matriz de alginato potenciado con EEM.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto etanólico de marañón (EEM).
- Evaluar in vitro el efecto antifúngico del EEM frente a fitopatógenos que afectan la calidad del mango en postcosecha - *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger*.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria del EEM frente *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger*.
- Determinar in vivo el efecto antifúngico del EEM frente a *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger* inoculados en frutos de mango.
- Determinar la concentración óptima de la matriz de fijación (alginato).
- Formular una matriz compuesta de alginato potenciado con EEM.
- Evaluar la actividad antifúngica de la matriz compuesta.
- Evaluar la matriz compuesta en frutos frescos de mango var. *Kent* en postcosecha.

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

La metodología propuesta para esta investigación se dividió en 2 partes:

- A nivel de laboratorio:



- A nivel de campo:



4.1. OBTENCIÓN DE MUESTRA VEGETAL.

La muestra vegetal fue colectada el 19 de noviembre del 2019 por el PhD. José Manuel López en la provincia de Condorcanqui, distrito de Nieva a 185 msnm, del Instituto Tecnológico *Fe y Alegría* 74, y fue identificada taxonómicamente por el botánico Mg. Camilo Diaz (Ver Anexo Suplementario 3).



Fuente: Foto propia

Figura 1. Semillas y fruto de Marañón de la planta.



Fuente: Foto propia

Figura 2. Identificación taxonómica

4.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO NATURAL DE MARAÑÓN

Para la obtención del extracto, se siguió la metodología propuesta por *Bandar, et. al (2013) (35)*, para ello se secaron 180 gramos de semillas de marañón a temperatura ambiente ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) durante 24 horas, seguido de un secado en horno a 37°C durante 7 días. El material seco se trituró y fue macerado con etanol 96° (1:10) por 4 días a T° ambiente. Posteriormente, el extracto se filtró en papel Whatman 3, luego de la filtración se procedió



Fuente: Foto propia

Figura 3. Evaporación del extracto etanólico de marañón.

a evaporar el solvente en un rotavapor a temperatura menor de 40°C por un aproximado de tres horas. Finalmente, el extracto etanólico obtenido, fue almacenado en una refrigeradora a temperatura menor de 8 °C hasta su uso. Mientras que, el porcentaje (%) de rendimiento del extracto fue obtenido mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de Rendimiento del Extracto} = \left(\frac{R}{S} \right) \times 100$$

Donde:

R: Peso del extracto obtenido

S: Peso total de semilla utilizada para la extracción

4.3 ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO

4.3.1. MICROORGANISMOS DE ESTUDIO

Para este estudio, se utilizaron hongos para evaluar el efecto antimicrobiano del extracto etanólico de marañón. Estos microorganismos, fueron proporcionados por el INS (Instituto Nacional de Salud) - Departamento de Micología y la empresa BNS (Bio Natural Solutions SAC) – Departamento de Microbiología y Fitopatología. Los hongos fueron:

- *Aspergillus niger* (Anexo - Informe Suplementario 1) y
- *Colletotrichum gloesporioides* (Anexo - Informe Suplementario 2)

4.3.2. PREPARACIÓN DEL INÓCULO DE ESPORAS.

Para la preparación de los inóculos de esporas, se siguió la metodología propuesta por *Bolívar et.al (2009)(36)*. Para ello, se trabajaron cultivos de 7 días de crecimiento a 25 °C en agar Sabouraud (SbA) para inducir la formación de conidios. Luego se suspendieron los conidios con 10 mL de solución salina estéril al 0,9%, se agitaron en el vórtex durante tres minutos y se procedió a frotar la superficie. Se transfirió la suspensión directamente a un tubo de ensayo estéril y este fue usado para la realización de las diferentes pruebas, homogeneizando antes de su uso.

La suspensión de esporas fue contabilizada en una cámara de Neubauer a una concentración de 1×10^6 conidios.mL⁻¹ (37) y fue almacenado en una refrigeradora a temperatura de 8° C por un tiempo máximo de tres horas para uso inmediato en los ensayos microbiológicos.

4.3.3. TÉCNICA DE POZO EN AGAR: EVALUACIÓN ANTIFÚNGICA

Se prepararon placas de Petri conteniendo 20 ml de cultivo SbA. Luego, se puso sobre el medio de cultivo un inóculo de 0.1ml de la suspensión de esporas, y se sembró por extensión cada una de las cepas mediante el uso de un asa Drigalsky.

Posteriormente, en el centro de cada placa Petri se realizaron perforaciones de 6 mm de diámetro con un sacabocado. Para proceder a colocar 60 uL del extracto (extracto etanólico 10 mg/mL, como control positivo Mancozeb* y el solvente, etanol, como control negativo). Los ensayos se realizan por triplicado al menos dos veces, obteniéndose de esta manera 3 tratamientos y 18 placas en total para cada uno de los hongos.

Finalmente, se incubaron las placas a 25°C por siete días, tomando como resultado positivo la aparición de un halo de inhibición alrededor de los pocillos. Se observaron las zonas claras de inhibición del crecimiento (halos) y se midieron los diámetros en milímetros (mm) con el calibre vernier (Stanley), se registraron y se consideraron como un indicativo de actividad antifúngica. Todos los resultados se realizaron por triplicado dos veces y fueron comparados con los controles.

Posteriormente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico mediante la prueba de microdilución en placa.

*Fungicida con actividad multisitio para el control preventivo de diversas enfermedades en diversos cultivos, formulado a base de mancozeb en forma de microgránulos suspendibles en agua generando un alto poder fungicida.

4.3.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC)

Se diluyó la solución del extracto etanólico de marañón a concentración de 10 mg/mL en diluciones dobles seriadas, adaptando el esquema de diluciones de drogas solubles en agua del protocolo CLSI M38-A-3era edición 2018 (38) ; obteniendo así 10 diluciones doblemente

concentradas finales, que se encontraron en el rango de 10 mg/mL – 0.02 mg/mL. Para ello, inicialmente se agregó 100 µl de caldo Sabouraud a los 11 pocillos de la primera fila de la placa de microtitulación, posteriormente se agregó 100 µl del extracto al primer pocillo, se hizo diluciones del extracto sacando 100 µl del pocillo 1 y colocándolo en el pocillo 2 hasta el pocillo 10, obteniendo así un volumen final de 100 µl en todos los pocillos. Finalmente se agregó 100 µl de las cepas fúngicas desde el pocillo 1 hasta el pocillo 11. Se incluyeron controles de crecimiento y esterilidad para cada cepa probada (**control de crecimiento +**, medio de caldo Sabouraud y fitopatógeno, sin extracto añadido; **control de esterilidad -**, medio de caldo Sabouraud solo, sin fitopatógeno ni extracto añadido). Cada fitopatógeno se ensayó por triplicado. Las placas inoculadas se incubaron en una estufa de hongos (Biobase) a 25°C durante 3 días y las concentraciones mínimas inhibitorias se determinaron visualmente con su posterior siembra en placas con SbA, corroborando antes de que los controles sean los esperados, es decir que el control de esterilidad esté totalmente claro, y el control de crecimiento tuviera crecimiento visible de las cepas.

4.4. ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO

4.4.1. INOCULACIÓN DE FITOPATÓGENOS EN MANGOS

Para las inoculaciones in vivo se adoptó la metodología propuesta por Bolívar *et al* (2009) (36). Se seleccionaron 18 frutos de mangos, en estado de madurez fisiológica con características homogéneas de color, tamaño, peso y sin daños físicos aparentes. Posteriormente, fueron desinfectados con hipoclorito de sodio a 100ppm y enjuagados con agua destilada.

Para la inoculación, se realizaron dos punciones de 4 mm de profundidad en los mangos, con una aguja de disección, luego se colocaron 80 uL de la suspensión de inóculo de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger*, a una concentración de 1×10^6 conidios·mL⁻¹. Luego de 4h, los mangos inoculados fueron sometidos al tratamiento del extracto etanólico de marañón a la concentración obtenida en la CMI. El experimento fue organizado en un diseño completamente al azar por triplicado, donde los tratamientos y los testigos se organizaron de la siguiente manera: **C- (Control negativo)**: Fruto inmerso en

agua destilada, sin inóculo de hongos **C+ (Control positivo):** Fruto inoculado con el hongo, **Extracto:** Inoculación del hongo + inmersión en el EEM.

Todos los frutos tratados se almacenaron a 25 °C en una incubadora de hongos (*Biobase*). El porcentaje de incidencia de la enfermedad en los frutos inoculados con *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger*. se determinó 6 días después de la inoculación y almacenamiento. De inmediato se cortaron las secciones de tejido de cada uno de los tratamientos post-inoculación.

4.5. RECOLECCIÓN Y COLORACIÓN INTERNA DE MANGOS

Los frutos de mangos de la variedad *Kent* fueron colectados en la ciudad de Piura de la planta SEIN SAC.

Del lote colectado, se seleccionaron 5 frutos aleatoriamente para evaluar la coloración interna de los mangos con la cartilla creada por la APEM (*Asociación Peruana de Productores y Exportadores de Mango-2019*), esto con el fin de corroborar de que los frutos se encontraban dentro de la etapa óptima para exportar y en consecuencia para evaluar su proceso de maduración completa.



Fuente: Foto propia

Figura 4. Colecta de los mangos *Kent*.



Fuente: APEM

Figura 5. Cartilla de coloración de mangos variedad *Kent*.

4.6. FORMULACIÓN DE LA MATRIZ ÓPTIMA DE ALGINATO POTENCIADO CON EEM:

Para ello, como estudio previo a esta investigación, se preparó la matriz solo de alginato, disolviendo el biopolímero a concentraciones de 0.5%, 1%, 1.5% y 2% (p/v) en agua destilada, mientras se calentaba en una placa durante 15 minutos a 70°C hasta que la mezcla se vuelva transparente (39).

Para la preparación de la matriz compuesta, se eligió el porcentaje con mejores resultados visualmente en cuanto a calidad (apariencia y coloración). Con este reporte, se procedió a incorporar a la matriz de alginato el EEM y se mezcló con un homogeneizador durante 15 minutos a 1000 rpm.

4.7. APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS EN MANGOS VAR. KENT

Los frutos de mangos var. *Kent*, fueron desinfectados con lejía a 100ppm por 5 min y luego fueron enjuagados con agua corriente. Se procedió a recubrir por aspersión, 10 frutos con la matriz compuesta de alginato y EEM, luego fueron oreados por un tiempo de 15 min. Repitiendo el proceso para 10 mangos recubiertos solo con alginato y 10 mangos sin recubrimiento. Finalmente, todos los mangos fueron almacenados en cajas de Tecnopor (poliestireno expandido – EPS, $R=0,96 \text{ m}^2 \text{ K/W}$. R = Resistencia Térmica), a un promedio de temperatura ambiente ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) y un promedio de humedad relativa (86%, Senamhi) (Tabla suplementaria 9) , esto debido a que el EPS tiene una conductividad térmica muy baja debido a su estructura de celda cerrada que consiste en un 98 % de aire, este aire atrapado dentro de las celdas es un conductor de calor muy pobre por lo que brinda a la espuma excelentes propiedades de aislamiento térmico (40).

El ensayo fue realizado por triplicado con 10 unidades experimentales por cada tratamiento (Tratamiento control: 30 mangos, Tratamiento T1: 30 mangos y Tratamiento T2: 30 mangos), teniendo así un total de 90 mangos evaluados, siendo este número estadísticamente significativo para estudios preliminares de tipo experimental sobre recubrimientos aplicados en frutos frescos, según lo reportado por autores como *Najafi et.al (2021) (39)*, *Tavassoli et.al (2020) (41)*, *Rastegar et.al (2019) (42)*, entre otros.

4.8. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD COMERCIAL DE FRUTOS DE MANGOS VAR. KENT.

Las características fundamentales que determinan la calidad comercial del fruto se correlacionan con un determinado grado de maduración.

Para ello, se valoraron las siguientes características de calidad comercial: firmeza, peso y coloración, haciendo una comparativa con las muestras control.

4.8.1. FIRMEZA: Con la mano y mediante presión se evaluó la firmeza antes y diariamente después de la aplicación del tratamiento de acuerdo con la siguiente escala de calificación propuesta por, *Shorter A. et al (1998) (27)*.

Tabla 1. Escala para la evaluación de firmeza en mangos.

CLASIFICACIÓN	PUNTUACIÓN
Dura	4
Firme	3
Suave	2
Blando	1

4.8.2. COLORACIÓN: El color de la piel también se calificó diariamente de acuerdo con la siguiente escala propuesta por: *Shorter A. et al (1998)* y la *National Mango Board (NMB) (43,44)*.

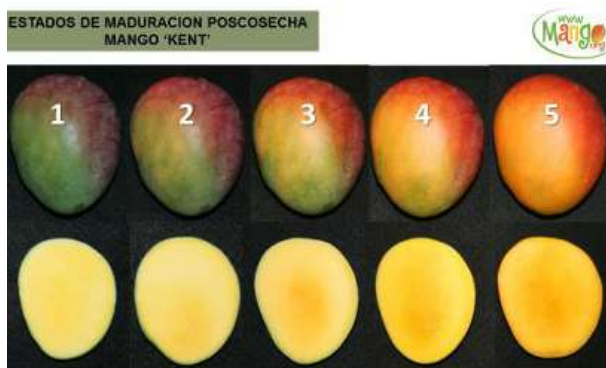


Tabla 2. Escala para la evaluación de coloración en mangos.

CLASIFICACIÓN	PUNTUACIÓN
100% verde	1
75% verde	2
50% verde-amarillo	3
75% amarillo	4
100% amarillo con chapas rojas	5

Fuente: National Mango Board (NMB)

Figura 6. Índice de madurez del mango, basado en el color de la piel y la pulpa para los cultivares Kent.

4.8.3. PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO: El peso de la fruta se registró cada dos días durante la evaluación de la calidad comercial y el porcentaje de pérdida de peso se calculó en función del peso del día 0 registrado inmediatamente después de la aplicación del tratamiento.

$$\%PP = \left(\frac{PI - PF}{PI} \right) \times 100$$

Donde:

PI=peso del fruto a tiempo inicial

PF=peso del fruto a tiempo final y se reporta como porcentaje

4.9. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE PROLONGACIÓN DE CALIDAD

COMERCIAL: Se consideró que el final de la calidad comercial era cuando los frutos de mango alcanzaban un puntaje de firmeza manual de 1 (Blando) durante un período de 3 días sucesivos, según *Shorter A. et al (1998) (27)* y finalmente se aplicó la siguiente fórmula.

$$\%CC = \left(\frac{CC.TRATAMIENTO}{CC.TESTIGO} \right) \times 100$$

Donde:

CC= Calidad comercial

CC. TRATAMIENTO=calidad comercial del tratamiento potenciado

CC. TESTIGO=calidad comercial del tratamiento testigo.

4.10. EVALUACIÓN DE INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS

Se evaluó la incidencia de *C. gloesporioides* y *A. niger* en los frutos de mangos por cada tratamiento. Para ello, se observó la presencia de síntomas o signos del ataque de antracnosis o mancha negra. Si un fruto presentaba daños fitopatológicos se consideraba que ésta estaba infectada. Para determinar la incidencia de la enfermedad se aplicó la siguiente fórmula:

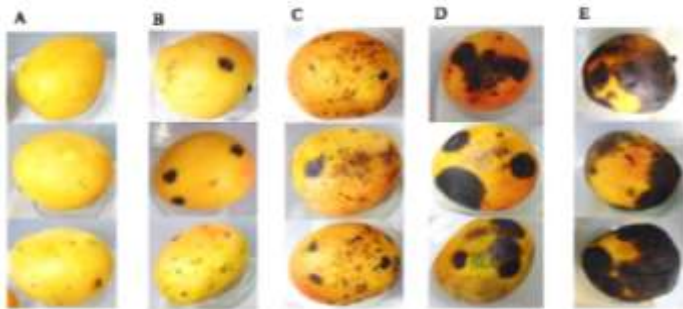
$$I = \frac{A \times 100}{a}$$

Donde,

- A: Número de frutos de mangos infectados por tratamiento
- a: Número de frutos totales
- I: Incidencia

4.11. EVALUACIÓN DE SEVERIDAD DEL FITOPATÓGENO

Para este estudio, se utilizaron 5 categorías de severidad respecto al porcentaje de fruto afectado, según lo propuesto por Zapata et al (2021)(45).



Fuente: Zapata et al (2021)

Figura 7. Escala de severidad para la evaluación de antracnosis en mango, apariencia de los frutos en cada nivel de severidad. A. nivel 0, B. nivel 1, C. nivel 2, D. nivel 3, E. nivel 4.

ÁREA AFECTADA	NIVEL
0%	0
1-5 %	1
6-9%	2
10-49%	3
50-100%	4

Tabla 3. Escala para la evaluación de severidad de antracnosis causada por *C. gloesporioides* en mangos. Valores en porcentaje de área del fruto con síntomas.

4.12. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE EFICACIA DEL TRATAMIENTO SOBRE LA INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS

El porcentaje de eficacia de los tratamientos sobre la incidencia de fitopatógenos comparados con el tratamiento control, fue obtenido mediante la siguiente la fórmula de *Abbott*:

$$E = \left(\frac{IT - it}{IT} \right) \times 100$$

Donde,

- E: Porcentaje de Eficacia
- IT: Porcentaje de incidencia en el tratamiento testigo
- it: Porcentaje de incidencia en el tratamiento.

4.13. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos se analizaron mediante un diseño completamente aleatorizado, con tres réplicas (cada réplica contiene 10 frutos). Para la interpretación de resultados de las variables cuantitativas se realizó un análisis de varianza ANOVA con probabilidad de error del 5% y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey. Mientras que, para las variables cualitativas ordinales se realizó el test de Kruskal Wallis con probabilidad de error del 5% y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Mann–Whitney–Wilcoxon. Todos estos análisis se realizaron utilizando el software estadístico RStudio 4.1.1 paquete agricolae.

5. RESULTADOS

5.1. RENDIMIENTO DE OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

180 g de materia vegetal seca (semillas), produjo 2.6 g de residuos de extracto etanólico.

Los datos etnobotánicos de la planta empleada y el rendimiento porcentual del extracto se ilustran en la siguiente tabla.

Tabla 4. Datos etnobotánicos y rendimiento porcentual del extracto crudo.

Especie de planta	Familia	Nombre común	Parte de la planta utilizada	Rendimiento del Extracto (%)
<i>Anacardium occidentale L.</i>	Anacardiaceae	Marañón	Semilla	1.4

5.2. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO

5.2.1. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MARAÑÓN

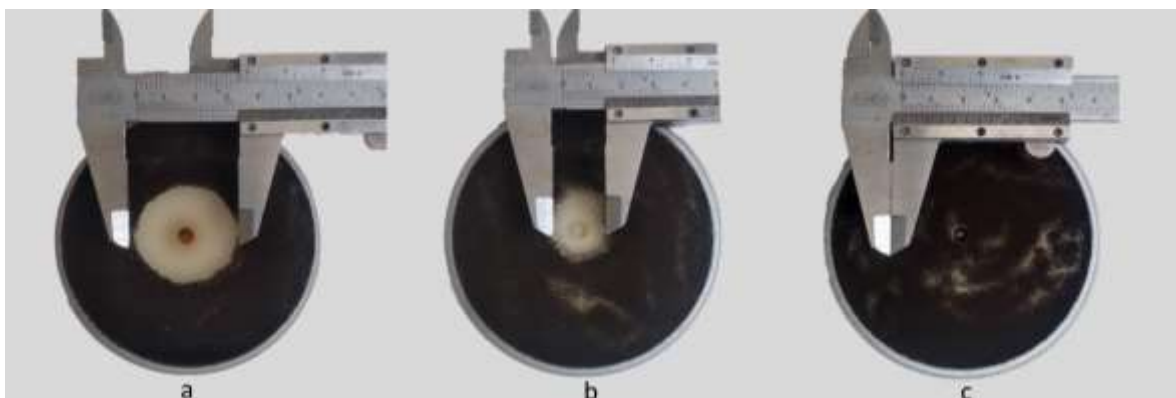
Del extracto vegetal crudo se tomó 0.010g y se disolvió en 1mL de etanol obteniendo una concentración final de 10mg/ mL. A esta concentración se evaluó el poder antifúngico del extracto de marañón frente a las cepas de *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloesporioides*, realizándose comparativas con un control positivo, Mancozeb, y un control negativo, etanol. La **Tabla 5 y Figura 8** muestran resultados obtenidos con la técnica de difusión en pozo de agar para *Aspergillus niger* y la **Tabla 6, Figura 9** muestran resultados obtenidos para *Colletotrichum gloesporioides*. Estos resultados indicaron que el extracto etanólico de marañón presenta efectiva actividad antifúngica frente a *A. niger* y *C. gloesporioides*, con halos de inhibición promedio de 34.70 ± 0.89 mm y 36.33 ± 0.58 mm respectivamente.

Tratamiento	N	Media	D.S	Shapiro-Wilk	HSD
Ext	6	34.70 mm	0.892	0.163	a
C+	6	15.50 mm	0.739		b
C-	6	0.0 mm	0		c

Tabla 5. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *A. niger*.

EEM. Extracto etanólico de marañón; **C+.** Mancozeb; **C-.** etanol; **N.** número de repeticiones; **DS.** Desviación estándar.

***Tukey;** letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas en un 5% de error.



Fuente: Foto propia.

Figura 8. Enfrentamiento fúngico (*Aspergillus niger*): a. EEM b. Control positivo (Mancozeb) c. Control negativo (Etanol absoluto).

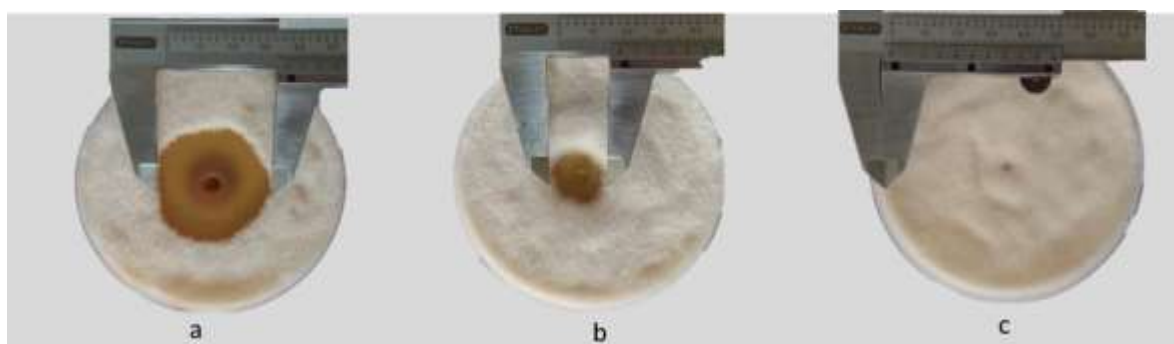
Los resultados de la actividad antimicrobiana, indicaron que el extracto etanólico de marañón es altamente efectivo, mostrando una fuerte actividad antifúngica frente a *Aspergillus niger*, hongo fitopatológico que genera la enfermedad de la mancha negra en frutos de mango.

Tratamiento	N	Media	D.S	Shapiro-Wilk	HSD
EEM	6	36.33 mm	0.578	0.497	a
C+	6	17 mm	0.681		b
C-	6	0.0 mm	0		c

Tabla 6. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *C. gloesporioides*.

EEM. Extracto etanólico de marañón; **C+.** Mancozeb; **C-.** etanol; **N.** número de repeticiones; **DS.** Desviación estándar.

***Tukey;** letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas en un 5% de error.



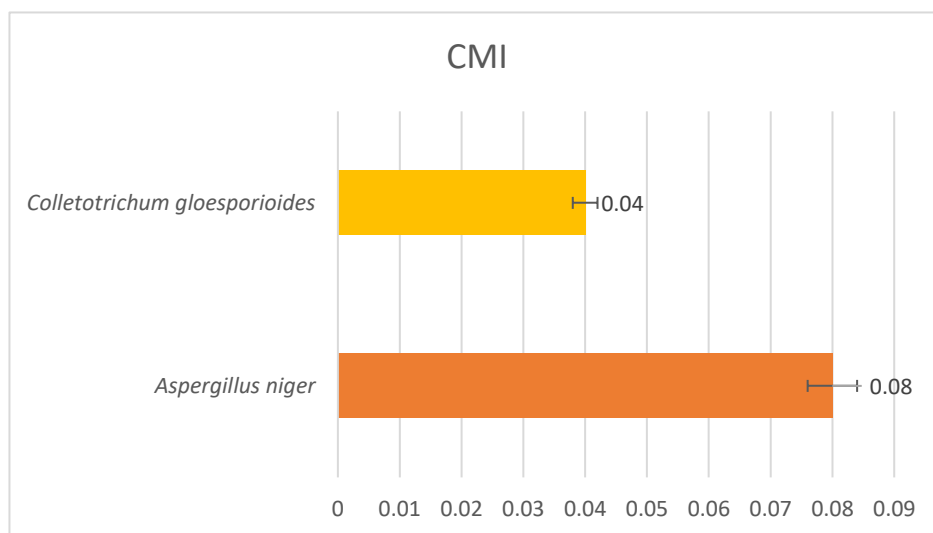
Fuente: Foto propia.

Figura 9. Enfrentamiento fúngico (*Colletotrichum gloesporioides*): a. EEM b. Control positivo (Mancozeb) c. Control negativo (Etanol absoluto).

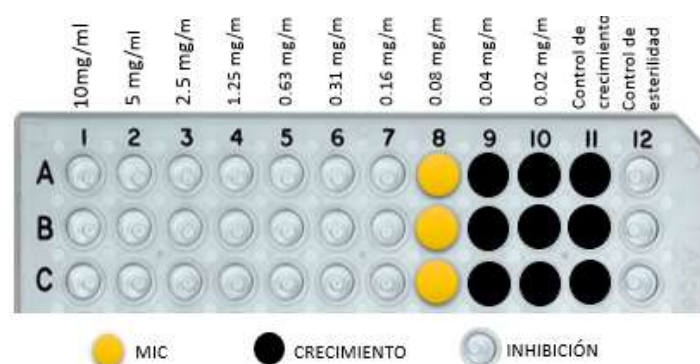
Los resultados de la actividad antimicrobiana, indicaron que el extracto etanólico de marañón es altamente efectivo, mostrando una fuerte actividad antifúngica frente a *Colletotrichum gloesporioides*, hongo fitopatógeno que genera la enfermedad de antracnosis en frutos de mango.

5.2.2. CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

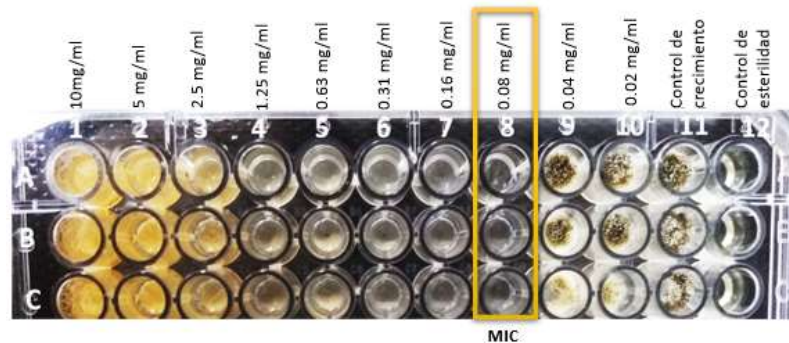
La **Gráfica 1** muestra los resultados de la CMI del extracto etanólico de marañón frente a los fitopatógenos de *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloesporioides*. Para ello, la lectura del método de microdilución en caldo M38-A se realizó a las 72 horas, comprobando antes que los resultados en los controles fueran los esperados, es decir, que el control negativo esté totalmente claro, y el control positivo tuviera crecimiento visible de las cepas. Posteriormente, se realizó la lectura de los demás pozos comparando el crecimiento de cada uno con el crecimiento control, y determinando si hubo o no reducción de crecimiento y/o ausencia de este (**Anexo - Tabla suplementaria 1 y 2**). Las concentraciones del EEM variaron entre 10mg/ml y 0.02 mg/ml. Finalmente, la CMI para *A. niger* fue de 0.08mg/ml y 0.04 mg/ml para *C. gloesporioides*, en ambos casos se evidenció inhibición completa de la cepa estudiada en los pozos 8 y 9 respectivamente (**Ver Figura 10 y 11**). El ensayo fue realizado por triplicado.



Gráfica 1. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto natural de marañón

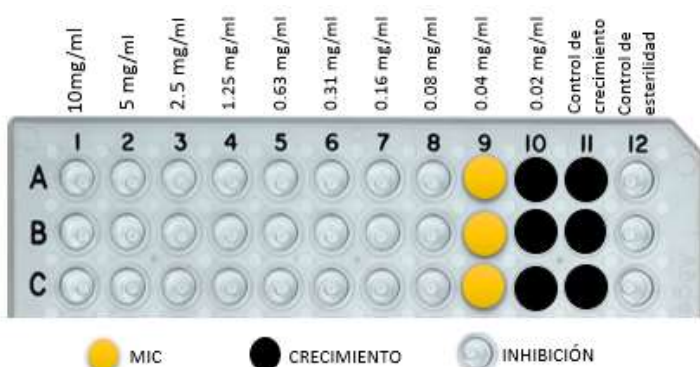


Esquema de lectura del ensayo de Microdilución en placa M-38 A de *Aspergillus niger*

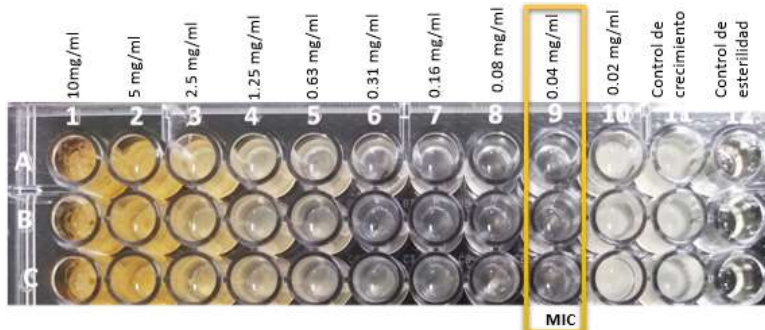


Fuente: Foto propia.

Figura 10: Prueba de microdilución en placa M38-A para *A. niger*.



Esquema de lectura del ensayo de Microdilución en placa M-38 A de *Colletotrichum gloesporioides*



Fuente: Foto propia.

Figura 11: Prueba de microdilución en placa M38-A para *C. gloesporioides*.

5.3. EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA IN VIVO

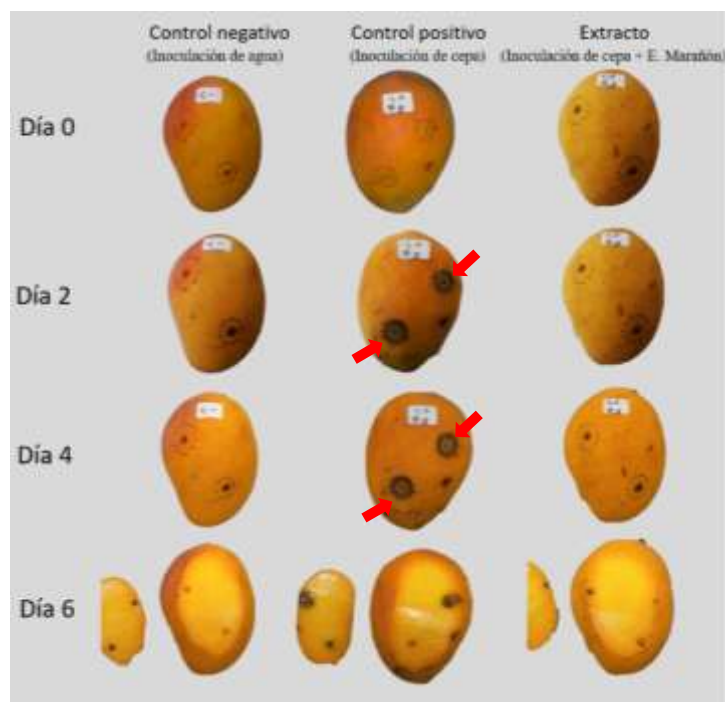
5.3.1. INOCULACIÓN DE CEPAS EN FRUTOS DE MANGOS

La incidencia y severidad de los fitopatógenos inoculados, medida a través del diámetro de la lesión, se manifestó a partir del día 2 post-inoculación (**Ver figura 12 y 13**).

Cuando se infectó el fruto con los hongos, el control positivo mostró los síntomas típicos de antracnosis y mancha negra, reportándose lesiones de un diámetro de 2.76cm y 3.40cm para *C. gloeosporioides* y *A. niger*, respectivamente. En cuanto al control negativo (agua estéril), se reportaron los frutos sin problemas fitopatológicos (0.00cm de lesión).

Por su parte, el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger* fue totalmente inhibido (0.00 cm de lesión) en los frutos que fueron tratados con el EEM (0.08mg/ml) cuando fueron almacenados durante un periodo de 6 días (no se evidenció incidencia ni severidad de los fitopatógenos inoculados).

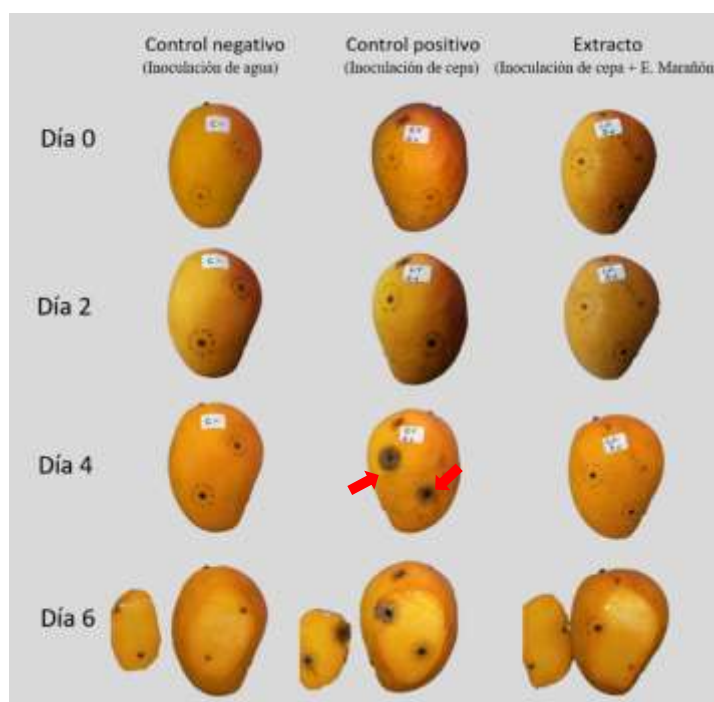
Colletotrichum gloeosporioides



Fuente: Foto propia.

Figura 12. Evaluación de incidencia y severidad de *C. gloeosporioides* inoculados en frutos de mangos.

Aspergillus niger



Fuente: Foto propia.

Figura 13. Evaluación de incidencia y severidad de *A. niger* inoculados en frutos de mangos.

5.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MARAÑÓN INMERSO EN LA MATRIZ DE ALGINATO.

Después de obtener los resultados de la CMI del extracto etanólico de marañón (0.08mg/ml), se procedió a mezclar el extracto en la matriz de alginato. Finalmente, se evaluó el poder antifúngico de la matriz de alginato, y del recubrimiento alginato + EEM frente a las cepas de *Aspergillus niger* **Tabla 7 y Figura 14** y *Colletotrichum gloesporioides* **Tabla 8 y Figura 15**. Estos resultados mostraron que el EEM le brinda propiedades antifúngicas a la matriz de alginato cuando fue enfrentado a *A. niger* y *C. gloesporioides*, con halos de inhibición promedio de 17.25 ± 0.82 mm y 24.23 ± 0.89 mm respectivamente.

Tratamiento	N	Media	D.S	Shapiro-Wilk	HSD
Alg+EEM	6	17.25mm	0.817	0.054	a
Alg	6	00.0mm	0		b

Tabla 7. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *A. niger*.

N. número de repeticiones; DS. Desviación estándar.

***Tukey**; letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas en un 5% de error.



Fuente: Foto propia

Figura 14. Enfrentamiento fúngico (*A. niger*): a. alginato + EEM b. alginato solo.

Tratamiento	N	Media	D.S	Shapiro-Wilk	HSD
Alg+EEM	6	24.23mm	0.891	0.134	a
Alg	6	00.0mm	0		b

Tabla 8. Análisis estadístico de la media de los halos de inhibición de *C. gloeosporioides*.

N. número de repeticiones; DS. Desviación estándar.

***Tukey**; letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas en un 5% de error.



Fuente: Foto propia

Figura 15. Enfrentamiento fúngico (*C. gloeosporioides*): a. alginato + EEM b. alginato solo.

5.5. EVALUACIÓN DE LA MATRIZ DE FIJACIÓN (ALGINATO) FORMULADO A DIFERENTES CONCENTRACIONES

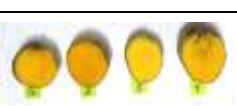
2 % de alginato	1.5% de alginato	1% de alginato	0.5% de alginato	CONTROL Sin recubrimiento
 Día 1	 Día 1	 Día 1	 Día 1	 Día 1
 Día 16	 Día 16	 Día 8	 Día 8	 Día 8
 Día 16	 Día 16	 Día 10	 Día 8	 Día 8

Tabla 9. Evaluación del proceso de maduración de mangos recubiertos con diferentes concentraciones de alginato: 2%, 1.5%, 1%, 0.5% y frutos sin recubrimiento.

Como se muestra en la **Tabla 9**, se evidenció que los mangos recubiertos con alginato al 2% y 1.5% no llegaron a madurar hasta los 16 días de almacenamiento, presentando por su parte arrugamiento y deshidratación visual, descartándolos a nivel comercial, además al abrirlos se observó una maduración incompleta y acidez al probarlos. Por su parte, los mangos recubiertos con alginato al 0.5%, si bien maduraron normalmente, no se evidenciaron diferencias en contraste a los mangos del grupo control en su evaluación durante los 8 días de almacenamiento. Mientras que, el tratamiento con alginato al 1% mostró resultados óptimos, con frutos de madurez completa hasta los 10 días de almacenamiento, durante el cual se evidenció una ralentización de cambios de color de la cáscara en contraste a los mangos del grupo control sin tratamiento.

A partir de estos resultados previos, los siguientes ensayos fueron realizados en mangos recubiertos con alginato al 1%.

5.6. COLORACIÓN INTERNA DE LOS MANGOS

Del lote total colectado en la planta SEIN SAC - Piura, se tomaron 5 mangos de forma aleatoria y se procedió a cortarlos para evaluar la coloración interna con la cartilla de la APEM.

Los resultados indicaron que los frutos se encontraban dentro de la madurez óptima para ser exportados, en la puntuación 2.5 (**Ver Figura 16 y Tabla 9**).



Fuente: Foto propia

Figura 16. Evaluación de la coloración interna de mangos Kent.

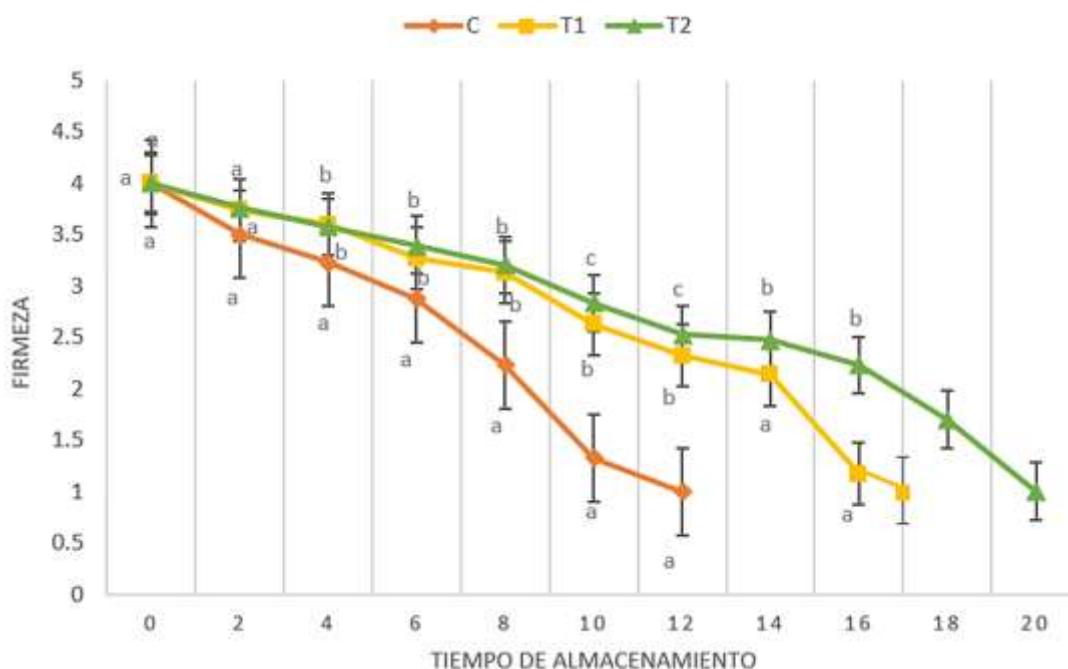
1	Inmaduro para Exportar
1.5	Inmaduro para exportar
2	Mínimo Aceptable
2.5	Madurez Óptima
3	Máximo Aceptable
3.5	Maduro no Exportable
4	Maduro no Exportable

Tabla 9. Escala para la evaluación de coloración interna.

A partir de estos resultados, la evaluación posterior es factible para que se evidencie el periodo de maduración de los mangos.

5.7. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD

5.7.1. EVALUACIÓN DE FIRMEZA



Gráfica 2. Cambios en la pérdida de firmeza durante el almacenamiento de mangos a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

C. mangos sin recubrimiento; T1. mangos recubiertos con alginato solo; T2. mangos recubiertos con alginato + EEM. Las figuras representan la media de las repeticiones $n=30$ y las barras verticales representan el error estándar de las medias *Test de Wilcoxon. Letras diferentes en la gráfica significan diferencias significativas con un error del 5%.

Como se muestra en la **Gráfica 2**, la firmeza de los mangos del grupo control disminuyó significativamente más rápido que los tratamientos 1 y 2 después de 12 días de almacenamiento (**Wilcoxon - $p < 0.05$**). Después del octavo día, la firmeza de los mangos en el grupo control disminuyó más abruptamente. Hasta el día 12, la puntuación de firmeza fue de 1 - blando, lo que indicó que, en ese momento, los mangos sin recubrimiento estaban completamente maduros y su textura de tejido básicamente se había colapsado, alcanzando como consecuencia su máximo de comercial comercial. En cuanto al tratamiento 1 y 2 la firmeza disminuyó lentamente en comparación al control. Alternativamente, hasta el día 12 de almacenamiento, no se observaron diferencias significativas en el cambio de firmeza entre los tratamientos 1 y 2 (**Wilcoxon**

- **p <0.05**). A partir del día 14 las diferencias en la firmeza se hicieron significativas, generándose una caída abrupta para el tratamiento 1, el cual para el día 17 alcanzó una puntuación promedio de firmeza 1-blando, alcanzando su máximo de calidad comercial. Por su parte, el tratamiento 2 presentó a un promedio de firmeza 1 hasta los 20 días de almacenamiento.

Por lo tanto, después de 20 días de almacenamiento, los mangos recubiertos con la matriz de alginato potenciado con EEM exhibieron el mayor efecto en términos de firmeza.

5.7.2. EVALUACIÓN DE COLORACIÓN.

La **Figura 17** muestra los cambios en la apariencia de los mangos del tratamiento control, T1 y T2 durante el tiempo de almacenamiento. Como se muestra en el **Gráfico 3**, durante los 12 primeros días de almacenamiento, se registraron diferencias significativas entre el grupo control frente a los tratamientos, T1 y T2 (**Wilcoxon - $p < 0.05$**) para esto, se observaron que las cáscaras de los mangos sin recubrimiento se habían vuelto completamente amarillas con chapas rojas, en un estado de deshidratación y arrugamiento. Por el contrario, hasta el día 8 no se evidenciaron diferencias significativas en el cambio de color entre el T1 y T2 (**Wilcoxon - $p > 0.05$**) mostrando ambos tratamientos cáscaras verdes, con un color más fresco y un ligero amarilleo en una puntuación promedio de 2.30 y 2.10 respectivamente, lo que nos indicó que los recubrimientos conservaban el valor comercial y, hasta cierto punto, podían ralentizar el amarilleo de los mangos. A medida que aumentaba el tiempo de almacenamiento, se observó un aumento gradual en el cambio de color de las cáscaras de los frutos, registrándose para el día 10 diferencias significativas entre el T1 y T2 (**Wilcoxon - $p < 0.05$**). Por su parte, el T1

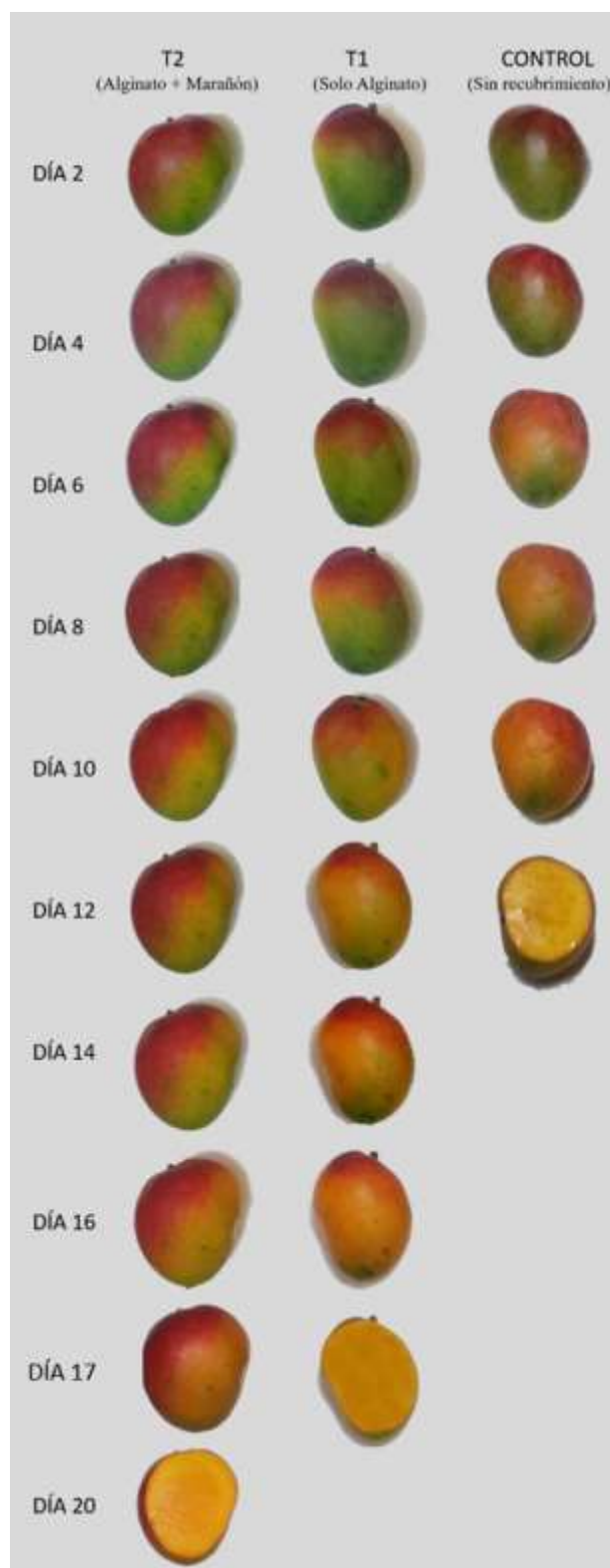


Figura 17. Proceso de cambio de coloración de las cáscaras de mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR

alcanzó su valor máximo el día 17 con mangos completamente maduros. Mientras que, el T2 alcanzó su valor máximo promedio el día 20. Este resultado indicó que el T2 efectivamente retrasó el tiempo antes de que el mango comenzara a amarillear.

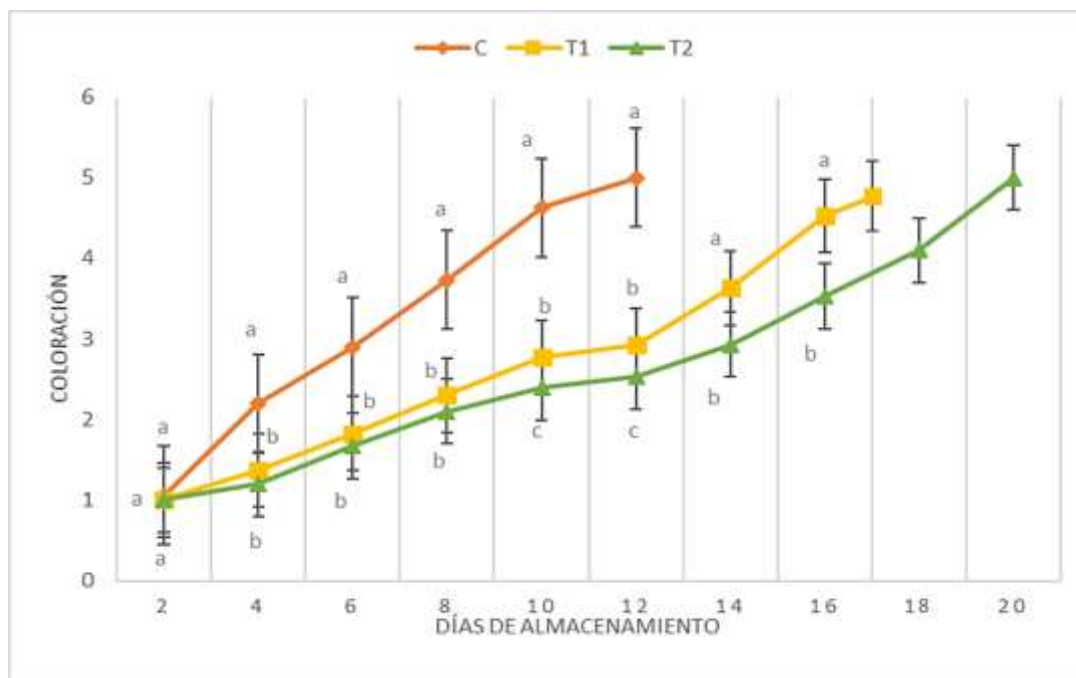
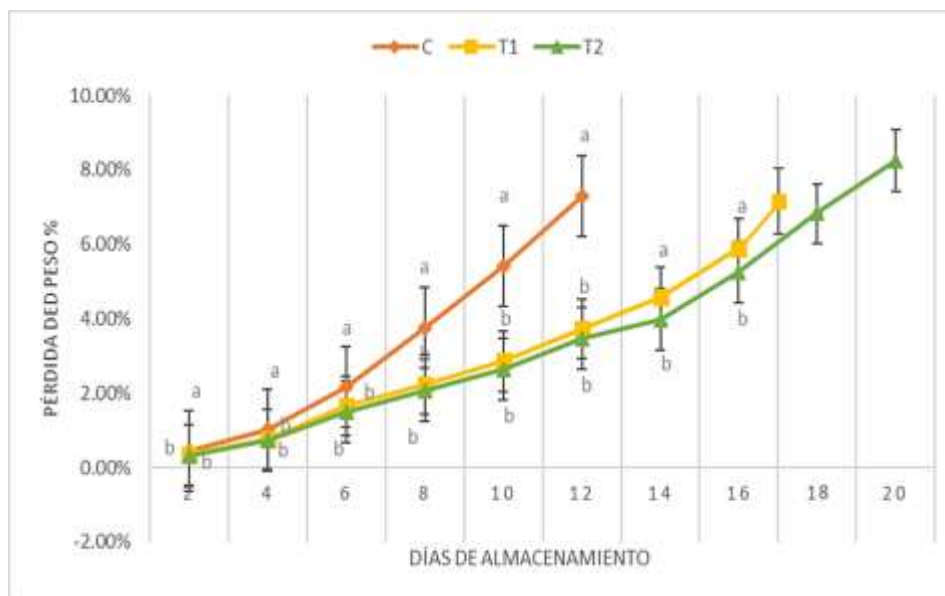


Gráfico 3. Cambios en la coloración de los mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

C. mangos sin recubrimiento; T1. mangos recubiertos con alginato solo; T2. mangos recubiertos con alginato + EEM. Las figuras representan la media de las repeticiones $n=30$ y las barras verticales representan el error estándar de las medias ***Test de Wilcoxon**. Letras diferentes en la gráfica significan diferencias significativas con un error del 5%.

5.7.3. EVALUACIÓN DE PÉRDIDA DE PESO DE LOS FRUTOS



Grafica 4. Cambios en la pérdida de peso de los mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR

C. mangos sin recubrimiento; T1. mangos recubiertos con alginato solo; T2. mangos recubiertos con alginato + EEM. Las figuras representan la media de las repeticiones $n=30$ y las barras verticales representan el error estándar de las medias ***Test de Wilcoxon**. Letras diferentes en la gráfica significan diferencias significativas con un error del 5%.

Como se muestra en la **Gráfica 4**, con el avance del periodo de almacenamiento, los porcentajes de pérdida de peso fluctuaron distintamente entre los tratamientos. Del día 2 al día 12, la tasa de pérdida de peso de los mangos del grupo control fue significativamente superior a los tratamientos 1 y 2 (**Tukey- $p < 0.05$**), con una tasa de pérdida del 7.29%. En este momento, la tasa de pérdida de peso del T1 fue del 3.73%, y el T2 del 3.47%, no habiendo diferencias significativas (**Tukey- $p < 0.05$**) hasta el día 12 entre estos últimos. Del día 14 al día 17, los mangos del T1 y T2 mostraron un aumento lineal gradual en la pérdida de peso con diferencias significativas entre ellas (**Tukey- $p < 0.05$**). Hasta el día 17, que fue el último día de calidad comercial del T1, se registró una pérdida de peso del 7.60% en contraste a los 6.83% del T2. Mientras que, para el día 20, como último día de calidad comercial del T2 se registró una pérdida de peso del 8.26%. Como consecuencia, el tratamiento T2 registró una menor pérdida de peso en el tiempo en comparación al tratamiento control y al tratamiento T1.

5.8. EVALUACIÓN DE INCIDENCIA Y SEVERIDAD DE FITOPATÓGENOS

La **Figura 18**, muestra la severidad y el desarrollo del fitopatógeno, durante el almacenamiento de los frutos de mango del grupo control, T1 y T2. Mientras que, la **Gráfica 5** muestra el porcentaje de incidencia de fitopatógenos en los 3 tratamientos evaluados. Por su parte, la incidencia de fitopatógenos en el grupo control se hizo evidente a partir del día 5 y 6 de almacenamiento, inicialmente con 6 frutos con muestras evidentes de antracnosis (aparecieron muchas manchas oscuras en la superficie de la cáscara después de haber sido erosionadas por el moho, lo que además indicaba una pérdida de valor comercial debido al deterioro) y al pasar los días, por un posible contagio, el número de frutos de mangos enfermos se incrementó. Así, en el grupo control para el día 12 como último día de calidad comercial, se registraron 14 frutos enfermos y como consecuencia una tasa de incidencia del 46.66%. Mientras que, el tratamiento 1 evidenció, entre los días 10-12, inicialmente 9 frutos con muestras evidentes de antracnosis (entre pequeñas y medianas manchas negras en forma de puntos y gotas en la superficie y en el pedúnculo de los frutos) al pasar los días el número de frutos enfermos no se incrementó, registrándose así hasta el día 17, como último día de calidad comercial, 9 frutos enfermos y como consecuencia una tasa de incidencia del 30.00%.

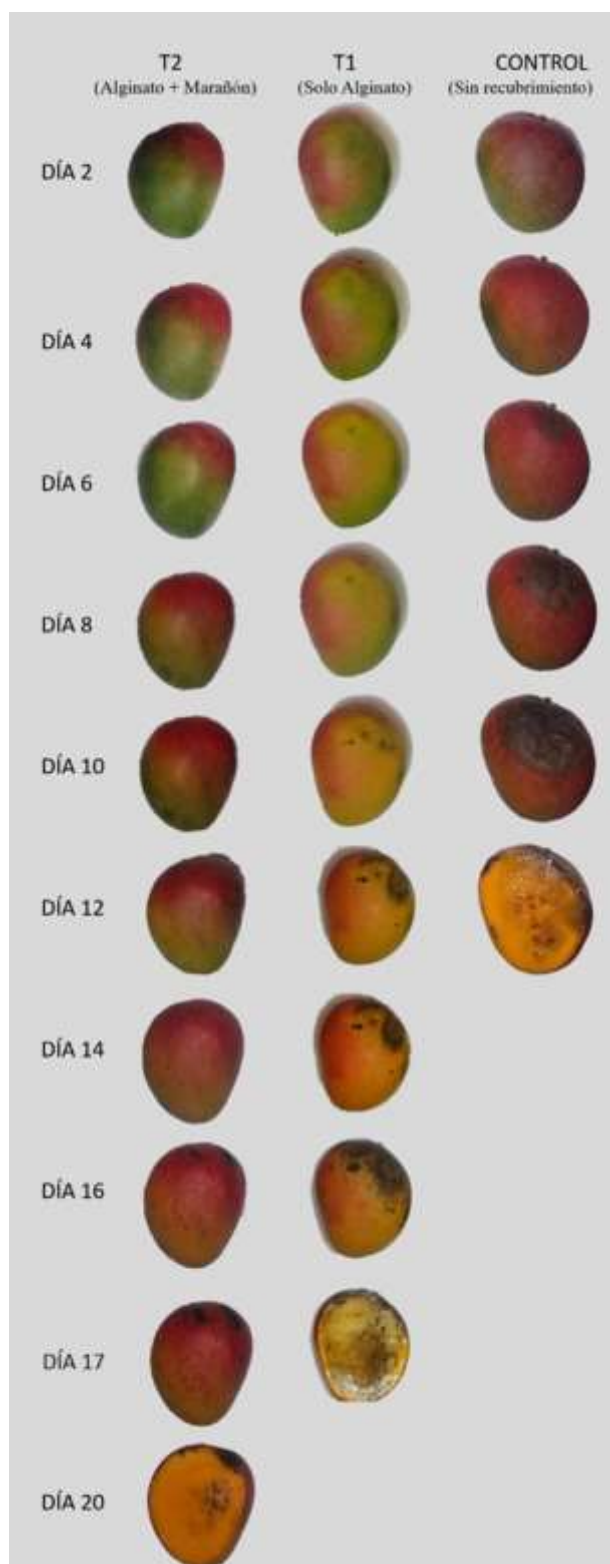
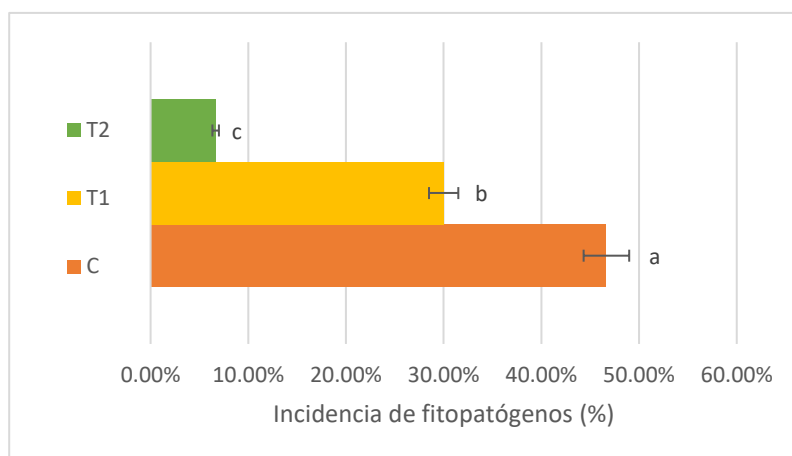


Figura 18. Desarrollo de la incidencia y severidad de fitopatógenos en mangos almacenados a 21 ± 1 °C y 86% HR

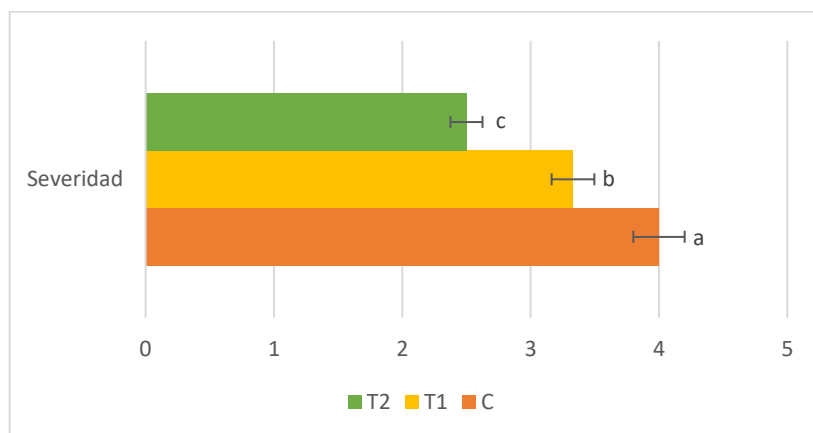
Finalmente, el tratamiento T2 evidenció síntomas de antracnosis en la cáscara de 2 mangos y como consecuencia se registró una incidencia del 6.66%, una tasa significativamente inferior ($p < 0.05$) comparado a los resultados del tratamiento control y el tratamiento T1.

Por otra parte, la **Gráfica 6** demuestra que la mayor severidad del fitopatógeno se evidenció en el tratamiento control con una puntuación promedio de 4 (50-100%), por su parte el T1 tuvo una severidad promedio de 3.33 (10-49%) mientras que el T2 con un menor promedio de severidad de 2.5 (5-9%).



Gráfica 5. Incidencia de fitopatógenos en mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

C. mangos sin recubrimiento; T1. mangos recubiertos con alginato solo; T2. mangos recubiertos con alginato + EEM. las barras horizontales representan el error estándar de las medias. ***Test de Tukey**. Letras diferentes en la gráfica significan diferencias significativas con un error del 5%.



Gráfica 6. Severidad de fitopatógenos en mangos almacenados a $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR.

C. mangos sin recubrimiento; T1. mangos recubiertos con alginato solo; T2. mangos recubiertos con alginato + EEM. las barras horizontales representan el error estándar de las medias. ***Test de Tukey**. Letras diferentes en la gráfica significan diferencias significativas con un error del 5%.

5.9. CÁLCULO DEL PORCENTAJE DE PROLONGACIÓN DE LA CALIDAD COMERCIAL

Tratamiento T2 (Alginato + EEM) frente al TC (Sin ningún recubrimiento)

$$(1) \quad \%Cc = \left(\frac{20}{12}\right) \times 100$$

$$\%Cc = 166.6 \%$$

Tratamiento T1 (Solo de alginato) frente al TC (Sin ningún recubrimiento)

$$(2) \quad \%Cc = \left(\frac{17}{12}\right) \times 100$$

$$\%Cc = 141.6 \%$$

Tratamiento T2 (Alginato + EEM) frente al Tratamiento T1 (Solo de alginato)

$$(3) \quad \%Cc = \left(\frac{20}{17}\right) \times 100$$

$$\%Cc = 117.6 \%$$

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación del parámetro de firmeza, se demostró que el T2 prolongó la calidad comercial hasta en un 166.6% más en comparación al TC. Por su parte el T1 prolongó la calidad comercial hasta en un 141.6% más en comparación al TC, mientras que el T2 prolongó la calidad comercial hasta en 117.6% más en comparación al T1.

5.10.EFICACIA DEL TRATAMIENTO SOBRE LA INCIDENCIA DE FITOPATÓGENOS

$$(1) \quad E = \left(\frac{46.6 - 6.6}{46.6} \right) \times 100$$
$$E = 85.84\%$$

De acuerdo a los resultados obtenidos en la incidencia de fitopatógenos del T2 (alginato + EEM), se demostró que el T2 disminuyó la incidencia de fitopatógenos hasta en un 85.84% en comparación al TC (sin recubrimiento).

$$(2) \quad E = \left(\frac{46.6 - 30.0}{46.6} \right) \times 100$$
$$E = 35.62\%$$

Por su parte, según los resultados obtenidos en la incidencia de fitopatógenos del T1 (alginato solo) se demostró que el T1 disminuyó la incidencia de fitopatógenos hasta en un 35.62% en comparación al TC (sin recubrimiento).

$$(3) \quad E = \left(\frac{30.0 - 6.6}{30.0} \right) \times 100$$
$$E = 78\%$$

Mientras que, si comparamos el T2 frente al T1, éste disminuyó la incidencia de fitopatógenos hasta en un 78%.

6. DISCUSIÓN

El objetivo de este proyecto de investigación fue, prolongar las características comerciales de mangos frescos var. *Kent* en postcosecha, mediante la aplicación de un recubrimiento biodegradable, basado en una matriz de alginato potenciado con Extracto Etanólico de Marañón (EEM).

Los resultados demostraron que, el recubrimiento biodegradable formulado tiene un efecto protector significativamente superior al control y al tratamiento T1 ($p < 0.05$), mermando la incidencia y severidad de fitopatógenos, manteniendo la calidad en cuanto a firmeza, peso y color. Además de prolongar la calidad comercial hasta en un 166.6%.

El estudio del EEM a nivel in vitro, evidenció el alto potencial antifúngico del extracto sobre las cepas de *Colletotrichum gloesporioides* y *Aspergillus niger*, resultados en gran medida superiores a los evidenciados por el fungicida preventivo *Mancozeb*, usado en demasía en nuestro país por su amplio espectro de acción, que si bien está autorizada y es usada para el control de fitopatógenos en diversos cultivos, el pasado 23 de octubre se aprobó formalmente su prohibición por la comisión europea mediante el reglamento de ejecución (UE) 2020/2087 debido a los efectos tóxicos sobre la reproducción que alteran el sistema endocrino de humanos y animales, por lo que el período de gracia de su uso para exportar o importar productos con este fungicida expiró el 4 de enero del 2022. Es importante recalcar que, al ser este fungicida altamente tóxico, los estudios hasta ahora reportados se concentran en su uso como control en evaluaciones in vitro de laboratorio mas no en evaluaciones in vivo, debido a su alto grado de toxicidad. Ante esta disposición, reducir la dependencia de pesticidas químicos es un pilar clave para la salud y la economía de muchos países incluido el nuestro, ante esta situación nuestros resultados evidencian un potencial altamente prometedor para el control de los fitopatógenos.

En paralelo a estos resultados de enfrentamiento fúngico, el EEM mostró una CMI de 0.04mg/ml para *Colletotrichum gloesporioides*, valores altamente diferentes si los comparamos con estudios que enfrentaron extractos a la cepa mencionada; por

ejemplo, *Paredes et. al (2021)*(46) reportaron una CMI de 0.14mg/ml para el extracto metanólico de *Samanea saman*, mientras que *Aguilar et al (2013)*(47) reportaron un CMI de 150mg/L y 300mg/L para extractos etanólicos de ruda y pirúl respectivamente. En cuanto a *Aspergillus niger*, nuestro estudio reportó una CMI de 0.08mg/ml, valor que difiere y mucho si lo comparamos con el estudio de *Juárez et al (2019)*(48) quienes reportaron una CMI de 3.12 mg/ml para el extracto crudo de ajo. La gran diferencia en nuestros resultados del EEM, podría deberse al efecto antifúngico probable de los compuestos fitoquímicos presentes en el extracto, como: triterpenos, fenoles y aceites volátiles (49), los cuales podrían haber generado un mecanismo posiblemente relacionado con la inhibición enzimática, originando interacciones no específicas con proteínas y como consecuencia produciendo muerte celular(50).

En consecuencia, nuestros resultados altamente prometedores In vitro, también se vieron reflejados en la evaluación de incidencia y severidad de fitopatógenos In vivo, demostrando un alto potencial antifúngico a diferencia de los reportados por *Bolívar et al (2009)* quienes usaron extractos vegetales de *Azadirachta indica*, *Phyllanthus niruri*, *Calotropis procera*, *Lippia origanoides*, *Gliricidia sepium* y *Heliotropium indicum* para el control de inoculados in vivo de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de mangos, extractos que, si bien disminuyeron la severidad de la cepa, no lograron inhibirla (36). Por su parte, *García et al (2021)*(51) evaluaron especies vegetales de *Solanum rostratum*, *Equisetum arvense*, *Datura stramonium*, *Malva parviflora*, *Argemone ochroleuca* y *Phytolacca icosandra*, de las cuales el extracto metanólico de *P. icosandra*, mostró la mayor actividad biológica con una efectividad del 71.4% en el control de antracnosis en frutos de papaya en postcosecha. Mientras que, nuestro extracto inhibió por completo el desarrollo de los fitopatógenos (*Colletotrichum gloeosporioides* y *Aspergillus niger*) inoculados en frutos mangos.

Nuestros resultados prometedores a nivel de laboratorio (in vitro e in vivo) han mostrado su eficacia cuando se procedió a aplicar el recubrimiento en frutos de mangos var. *Kent*, ya que, en la evaluación de incidencia de fitopatógenos los resultados mostraron una alta efectividad de la matriz de alginato + EEM, reportándose así una merma de fitopatógenos significativamente superior en contraste al grupo control y al

recubrimiento solo de alginato ($p < 0.05$). Pues, con una incidencia del 6.66%, el recubrimiento potenciado con el EEM, presentó solo 2 mangos infectados en contraste a los reportados para el grupo control, que inicialmente presentó 6 mangos infectados y finalmente 14 con enfermedad, este incremento durante el tiempo podría deberse a que, al estar almacenados en un mismo empaque, podrían haberse contaminado con los mangos enfermos, ya que las esporas pudieron haberse dispersado por el aire o por contacto directo(52), generándose como consecuencia el contagio de mangos alternos. Mientras que, el tratamiento recubierto solo con alginato presento 9 frutos infectados al inicio y al final de la evaluación, en comparación con el grupo control, en este caso no se evidenció un aumento de frutos infectados durante el almacenamiento, debido a que el recubrimiento genera una capa protectora alrededor del fruto, evitando la propagación de las esporas (53), pero, sin inhibir la esporulación del fitopatógeno. *Hamedi et al (2020)*, reportaron resultados similares cuando recubrieron filetes de pollo, pues encontraron que el recubrimiento solo de alginato no tuvo efecto de inhibición microbiana, mientras que el recubrimiento compuesto de alginato + extracto de *Ziziphora persica* generó una reducción microbiana significativa debido a las propiedades biológicas del extracto (54). A partir de esto, se pudo evidenciar que el T1 tuvo una eficacia del 35.62% disminuyendo la incidencia de fitopatógenos frente al control, por su parte, el T2 (alginato + EEM) tuvo una eficacia del 86.5% frente al control. Mientras que, al comparar estos tratamientos, se pudo concluir que el T2 disminuyó la incidencia de fitopatógenos efectivamente en un 78% frente al T1.

En consecuencia, el alto potencial antifúngico evidenciado por el EEM, podría deberse a los fitoquímicos presentes en el extracto etanólico, como: triterpenos, fenoles y aceites volátiles, perfil químico reportado por *Sanchez et.al. (2001)* (34), metabolitos que podrían haber generado un desequilibrio en la homeostasis celular, ocasionando daños irreversibles en la membrana de *Aspergillus niger*, esto debido a que estudios previos han reconocido que los fenoles podrían estar implicados en la supresión del crecimiento fúngico, al dañar el metabolismo celular como lo resalta *Govindappa et al. (2011)* (55), quienes reportaron la actividad antifúngica de antioxidantes, entre ellos fenoles, frente a *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus flaviceps*, *Fusarium oxisporum*, etc. Mientras que, *Gurnani et.al (2016)* (56) evaluaron la actividad antifúngica y potencial

antioxidante de semillas de *Capsicum frutescens*, encontrando una asociación entre la extracción de antioxidantes (fenoles) y la eficaz inhibición de *Candida albicans*, *Aspergillus niger* y *Alternaria alternata*. En cuanto al sistema de inactivación, algunos estudios como lo reportado por *Hernandez et.al 2011*(57) mencionan que los compuestos fenólicos y aceites volátiles presentes en diversos extractos, inhiben el crecimiento celular de los hongos mediante el desequilibrio de la homeostasis celular redox o por el sistema de anti oxidación. De la misma forma *Treutter 2005* menciona que la inhibición del crecimiento fúngico gracias a los extractos ricos en fenoles podría deberse a la formación de complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, ocasionando una ruptura de la pared celular de los hongos. En cuanto a la inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides*, se ha reportado que su inhibición por acción de compuestos fenólicos no polares podría generarse en la membrana plasmática, causando desintegración y pérdida del trifosfato de adenosina, lo que generaría como consecuencia, muerte celular (58). En general, autores como *López et.al 2005*(59) y *Helal et.al 2007* (60) coinciden en aseverar que los antimicrobianos de origen natural, como los extractos derivados de plantas, provocan en hongos daños irreversibles en membranas, paredes y organelos celulares, generando una polarización en el potencial de membrana y realizando cambios significativos en su estructura.

Entre los parámetros evaluados después de la aplicación de los tratamientos, se encuentra la pérdida de firmeza, el tratamiento T2 potenciado con el EEM, mostró diferencias significativas (**Wilcoxon- $p < 0.05$**) frente al control a partir del día 4, y con el tratamiento T1 desde el día 14. Por lo tanto, después de 20 días de almacenamiento, los mangos recubiertos con la matriz de alginato + EEM exhibió el mayor efecto en términos de conservación de firmeza, mostrando buenas propiedades de barrera, la cual evitó la pérdida de humedad abrupta durante el proceso de maduración. Además, los bioactivos del extracto inhibieron la esporulación de los fitopatógenos, disminuyendo la degradación de las estructuras y tejidos del mango en comparación al control y al tratamiento solo de alginato. Nuestros resultados, marcan una notable diferencia con los reportados por *Rastegar et al. (2019)* (42) quienes no observaron diferencias significativas en la firmeza entre los mangos sin recubrimientos y mangos recubiertos con alginato al 1%. Estos resultados podrían estar influenciados por la forma de

aplicación del recubrimiento, pues el método de inmersión, aunque sea muy usual a nivel de laboratorio, tiene algunas desventajas como; retrogradación de la matriz con el tiempo y el espesor de la capa no es controlada adecuadamente (41). Mientras que, el método de pulverización empleado en nuestro estudio, es más óptimo para los frutos de mangos, ya que podemos controlar los espesores de capa aplicados en los frutos de forma individual, además de generar un recubrimiento homogéneo alrededor de los mangos (41).

Si comparamos nuestros resultados de firmeza, con otras investigaciones, podemos citar a autores que trabajaron con frutos diferentes al mango, reportando resultados que respaldan los nuestros, pues según *Marghmaleki et al (2020)*(39) quienes evaluaron la calidad de manzanas recién cortadas recubiertas con alginato solo y en combinación con ácido cítrico y ascórbico, concluyeron entre los parámetros evaluados que las manzanas procesadas recubiertas con alginato enriquecido con ácido cítrico como con compuestos de ácido ascórbico mostraron menores índices de pérdida de textura y firmeza en comparación a los recubiertos solo con alginato. Por su parte, *Gutierrez et. al (2021)*(61) reportaron que cerezas dulces recubiertas con nano emulsión comestible de alginato y aceite de soja evidenciaron menor pérdida de firmeza en comparación a los frutos sin recubrimiento.

En cuanto a la pérdida de peso, nuestros resultados demostraron que el tratamiento T2 disminuyó significativamente (**Tukey - $p < 0.05$**) la pérdida de peso en contraste al tratamiento control desde el día 2 de almacenamiento y a partir del día 14 frente al tratamiento T1. Estos resultados, evidenciaron que el tratamiento T2 combina las propiedades de barrera del alginato y las propiedades antifúngicas del EEM, lo que redujo la pérdida de agua del fruto, disminuyendo la concentración de O₂ en las superficies del mango e inhibiendo las actividades enzimáticas respiratorias. Resultados idénticos al nuestro fueron reportados por *Figuerola et al (2019)*(62), quienes encontraron menores pérdidas de peso de fresas recubiertas con alginato y aloe vera en comparación a las fresas sin recubrimientos en los días 9 y 12 de almacenamiento. Contrariamente a estos resultados, *Gutierrez et al (2021)*(61) reportaron que cerezas dulces recubiertas con nanoemulsión comestible de alginato y aceite de soja experimentaron una mayor pérdida de peso ,16% después de 28 días a 4°C, mientras

que cerezas dulces sin recubrir perdieron a penas el 4% después de 28 días de almacenamiento a 4°C, esto debido a que, durante la preparación del recubrimiento adicionaron un tensoactivo que podría haber afectado la humectabilidad, hidrofobicidad y elasticidad del recubrimiento. Por lo que, después de comparar nuestros resultados con los reportados por otros autores, podemos argumentar que nuestra matriz compuesta de alginato + EEM es un recubrimiento superior, compuesta de una capa microporosa y antifúngica controla los procesos de tasa de respiración y transpiración en superficie, mermando la incidencia de fitopatógenos.

La evaluación de cambios en la coloración de los mangos tratados, evidenció una significativa ventaja (**Wilcoxon- $p < 0.05$**) en el retraso de cambios de color del tratamiento T1 y el tratamiento T2 frente al control durante los 12 primeros días. Mientras que, se reportaron diferencias entre el tratamiento T1 y T2 a partir del día 10 de almacenamiento. Estos resultados óptimos para el T2, podrían deberse a que el recubrimiento generó una condición de O₂ baja en superficie que frenó la descomposición oxidativa de la clorofila (63). Además, las propiedades antifúngicas del extracto de marañón también pudieron haber inhibido la actividad de la clorofilasa como lo reportó *Aguilar (2005)*, protegiendo la clorofila de la oxidación e hidrólisis, y en efecto, retrasando el cambio de color en los mangos. Estos resultados fueron semejantes a los reportados por *Guerreiro et al (2015)*(64) quienes concluyeron que frutos de madroño recubiertos con alginato potenciado con aceite esencial de citral y eugenol mostraron una ralentización de los cambios de color en comparación a los frutos recubiertos con alginato solo y frutos sin recubrir. Por lo que, con nuestros resultados podemos sostener la efectividad del alginato como emulsificante, pues si bien tiene la capacidad de generar un recubrimiento, los aditivos son pieza clave para potenciar su efectividad en la aplicación de diversos productos.

Finalmente, en cuanto a la evaluación de la calidad comercial, duración estimada en días en la que el fruto cumplió correctamente con las características comerciales, se determinó que el último día para el TC (tratamiento control) fue a los 12 días de almacenamiento, 17 para el T1 (tratamiento de alginato solo) y 20 días para el T2 (tratamiento de alginato + EEM). A partir de esto, se demostró que el T2 prolongó la

calidad comercial hasta en un 166.6% más en comparación al tratamiento control, por su parte el tratamiento con alginato solo, aumentó la calidad comercial en 141.6 % en relación al control. Mientras que, al comparar los dos tratamientos, el alginato más marañón mejoró la calidad comercial en un 117.6% más, en comparación al tratamiento de alginato solo. Por lo que, a partir de esto, se evidenció que el T2 mostró los mejores resultados en cuanto al aumento de la calidad comercial, esto podría deberse a los parámetros de almacenamiento, temperatura promedio $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y un promedio de 86% de humedad relativa (*Fuente. Senamhi*).

Un punto importante para resaltar es que, uno de los desafíos para la comercialización exitosa de mangos es su vida útil y en consecuencia su calidad comercial limitada, por lo que la temperatura juega un rol importante, pues es el factor más crítico en la maduración. Autores como *Kader et.al 2008*(65) mencionan que el almacenamiento de mangos a temperaturas en el rango de 15.5 a 18°C si bien generan una coloración más atractiva de la cáscara, el sabor se torna agrio a menos que la fruta se mantenga dos o tres días adicionales entre 21 y 24°C . Mientras que, según *Paul et.al (2004)* (65) el mantener los mangos a temperaturas de 20 a 23°C genera un mejor aspecto, sabor y control de senescencia, esto podría explicar los excelentes resultados obtenidos en la prolongación de la calidad comercial de nuestras muestras de mangos. Las investigaciones también reportan que, la maduración puede retardarse si los mangos se almacenan entre 10 y 13°C (65), resultados que podrían mejorarse con la aplicación de diversos tratamientos como los recubrimientos biodegradables, por lo que estudios futuros de nuestro recubrimiento a diferentes temperaturas brindaría una visión más amplia de la influencia de esta variable sobre la calidad comercial.

Otro parámetro importante en la maduración, es la humedad relativa, estudios resaltan que, mientras la humedad es mayor el fruto pierde más lentamente el agua mediante la transpiración (66), por ello, de acuerdo a nuestro parámetro de humedad relativa (86%), este factor pudo haber influenciado también en la reducción de pérdida de agua, lo que, en sinergismo con nuestro recubrimiento, podría haber mantenido por un mayor tiempo la turgencia de los mangos.

A partir de lo descrito, nuestros resultados demostraron que el recubrimiento formulado a partir de alginato más EEM es altamente eficaz, alargando los parámetros de calidad comercial de mangos var. *Kent* cuando fueron almacenados a una temperatura promedio de $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 86% HR en comparación a los estudios reportados por *Estrada et al. (2015)*(67) quienes evaluaron el efecto de recubrimientos comestibles de almidón de yuca y pectina cítrica sobre la calidad de frutos de mango. Donde concluyeron que los recubrimientos comestibles, permitieron conservar los frutos de mango cv. *Criollo* a penas hasta 12 días de almacenamiento, en refrigeración a $11\pm 1^{\circ}\text{C}$. Por su parte, *Sothornvit (2015)* (68) reportaron la aplicación de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) con o sin aceite esencial de *Zingiber cassumunar* sobre frutos de mangos tailandeses, concluyendo así que la incorporación del aceite en el revestimiento no mejoró la actividad antimicrobiana de HPMC. Sin embargo, la vida útil y en consecuencia la calidad comercial de los mangos recubiertos se extendió a 18 días a 13°C .

A partir de estas comparativas, podemos atribuirle a nuestro recubrimiento un alto efecto protector, ya que, a pesar de haber sido evaluado a una temperatura mayor a los estudios reportados, los resultados indican ventajas significativas en el aumento de la calidad comercial.

7. CONCLUSIONES

- A nivel **in vitro**, el extracto etanólico de marañón, demostró tener una **alta efectividad antifúngica** frente a *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloeosporioides* con halos de inhibición de 34.7mm y 36.33mm respectivamente, mientras que para el fungicida *Mancozeb* se obtuvieron halos de inhibición de apenas 15.5mm y 17.0mm. Además, los resultados de la CMI, 0.08mg/ml para *Aspergillus niger* y 0.04 mg/ml para *Colletotrichum gloeosporioides* evidenciaron significativas ventajas frente a diversos estudios reportados sobre estos fitopatógenos.
- A nivel **in vivo**, el extracto etanólico de marañón, demostró su potencial antifúngico, **inhibiendo por completo** la esporulación de *Aspergillus niger* y *Colletotrichum gloeosporioides* con 0.00cm de diámetro de lesión para ambos fitopatógenos, mientras que los controles positivos (fitopatógenos inoculados) mostraron crecimientos visibles con diámetros de lesión de 3.40cm para *Aspergillus niger* y 2.76cm para *Colletotrichum gloeosporioides*, durante los 6 días de almacenamiento.
- La matriz de recubrimiento con el **1%** de alginato fue **el mejor tratamiento** frente a las formulaciones de 2%, 1.5% y 0.5%. Se descartaron las otras formulaciones debido a que las corridas realizadas con esas concentraciones, no revelaron ninguna mejora notoria en comparación al control sin recubrimiento.
- El recubrimiento de alginato potenciado con extracto etanólico de marañón, demostró tener un **alto efecto inhibidor**, mermando la incidencia de fitopatógenos hasta en un 85.4% en comparación al control, mientras que, el tratamiento con alginato solo, disminuyó la incidencia en un 35.62 % en relación al control. Si comparamos los dos tratamientos, el alginato más marañón tuvo una mayor eficacia, disminuyendo la incidencia de fitopatógenos hasta en un 78% frente al tratamiento de alginato solo.
- El recubrimiento de alginato potenciado con extracto etanólico de marañón, **aumentó las características de calidad comercial** hasta en un 166.6% más en comparación al tratamiento control, mientras que el tratamiento con alginato solo, aumentó la calidad comercial en 141.6 % en relación al control. Si comparamos los dos tratamientos, el alginato más marañón tuvo una mayor eficacia, aumentando la calidad comercial en un 117.6% más en comparación al tratamiento de alginato solo.

8. RECOMENDACIONES

Para estudios posteriores, se recomienda:

- Determinar la toxicidad y los compuestos fitoquímicos del EEM.
- Evaluar la aplicación de recubrimientos comerciales sobre frutos de mangos (E914) para hacer una comparativa con los resultados del presente estudio.
- Evaluar la matriz compuesta de alginato + EEM a diferentes temperaturas, para evidenciar los efectos sobre la calidad comercial de mangos.
- Evaluar parámetros destructivos (grados Brix, acidez, fenoles, etc.).

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wongkaew M, Kittiwachana S, Phuangsaibai N, Tinpovong B, Tiayon C, Pusadee T, et al. Fruit characteristics, peel nutritional compositions, and their relationships with mango peel pectin quality. *Plants*. 2021 Jun 1;10(6).
2. MINCETUR. Proyecto de cooperación UE-PERÚ en materia de asistencia técnica relativa al comercio de mangos 17/2009/PNRC/LOTE 11. 2009.
3. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Análisis del mercado de las principales frutas tropicales - FAO. 2020.
4. Red Agrícola. El mango, producto que se acerca a un nuevo récord en exportación. 2020.
5. Li L, Shuai L, Sun J, Li C, Yi P, Zhou Z, et al. The Role of 1-Methylcyclopropene in the regulation of ethylene biosynthesis and ethylene receptor gene expression in *Mangifera indica* L. (Mango Fruit). *Food Science and Nutrition*. 2020 Feb 1;8(2):1284–94.
6. Baltazari A, Mtui H, Chove L, Msogoya T, Kudra A, Tryphone G, et al. Evaluation of Post-harvest Losses and Shelf Life of Fresh Mango (*Mangifera indica* L.) in Eastern Zone of Tanzania. *International Journal of Fruit Science*. 2020 Oct 1;20(4):855–70.
7. Kamle M, Kumar P. *Colletotrichum gloeosporioides*: Pathogen of Anthracnose Disease in Mango (*Mangifera indica* L.). In 2016. p. 207–19.
8. Krishnapillai N, Wilson Wijeratnam R. *Aspergillus* rot of ripe mangoes (*Mangifera indica* L.) var. Vol. 41, J.Natn.Sci.Foundation Sri Lanka. 2013.
9. Tripathi A. Control of *Aspergillus Niger* (L.)Van Tieghem in Mango: A Fruit Utilizing Combination of Yeast and Chitosan (A Soft Fungicide) [Internet]. *Basic Biology is the Core of Biotechnology*. 2013. Available from: <http://www.ripublication.com/ijhcsr.htm>
10. Rodríguez. E. Etiología de las enfermedades poscosecha en mango. *Red Agrícola*. 2019; 1:45-49.
11. Ortiz. M. Estrategias para un correcto control de antracnosis en mango. *Red Agrícola*. 2018.

12. Sab M, Ashok MB, Sudhakara SN. Estimation of Post-Harvest Losses of Mangoes at Different Stages from Harvesting to Consumption. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2017 Dec 20;6(12):310–8.
13. Zhang D, Wang C, Li X lin. Yield gap and production constraints of mango (*Mangifera indica*) cropping systems in Tianyang County, China. *Journal of Integrative Agriculture*. 2019 Aug 1;18(8):1726–36.
14. Dembele DD, Amari L-N n DGE, Camara B, Grechi I, Rey J-Y, Kone D. Pre and postharvest assessment of mango anthracnose incidence and severity in the north of Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2020 Jan 22;13(6):2714-21.
15. Pérez B, Bringas E, Cruz L, Báez-Sañudo R. USE OF EDIBLE FILM ON MANGO FRUITS. PART I. EFFECT ON FRUIT PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS DURING COMMERCIAL STORAGE. Vol. 5, Rev. Iber. Tecnología Postcosecha. 2003; 1(5):112-19.
16. Kramer NI, Hoffmans Y, Wu S, Thiel A, Thatcher N, Allen TEH, et al. Characterizing the coverage of critical effects relevant in the safety evaluation of food additives by AOPs. *Archives of Toxicology*. 2019 Aug 1;93(8):2115–25.
17. Gómez director técnico E. Recubrimientos para frutas y hortalizas. 2011: 1-25.
18. Palou L, Valencia-Chamorro SA, Pérez-Gago MB. Antifungal edible coatings for fresh citrus fruit: A review. Vol. 5, Coatings. MDPI AG; 2015. p. 962–86.
19. Figueroa MS, Salvador--Figueroa M, Hernández--Ortiz E, Ventura--González C, Ovando--Medina I, Adriano--Anaya L. Effect of chitosan coatings on the development of *Anastrepha ludens* (LOEW) in mango fruits (*Mangifera indica* L.) CV. ATAULFO. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*. 2013; 14(1):14-20.
20. Petit Jiménez D, Taddei EB, González León A, Manuel J, Robles G, Sañudo RB. Efecto del tratamiento hidrotérmico sobre la ultraestructura de la cutícula del fruto de mango. *Revista UDO Agrícola*. 2009; 9:96–102.
21. Rondón O, Sanabría De Albarracín N, Rondón A. Control hidrotérmico de *Colletotrichum gloesporioides* penz en mango. *Manejo integrado de plagas y agricultura - Costa Rica* . 2006;78.

22. Kocira A, Kozłowicz K, Panasiewicz K, Staniak M, Szpunar-Krok E, Horthyńska P. Polysaccharides as edible films and coatings: Characteristics and influence on fruit and vegetable quality—a review. Vol. 11, *Agronomy*. MDPI AG; 2021.
23. Díaz-Montes E, Castro-Muñoz R. Edible films and coatings as food-quality preservers: An overview. Vol. 10, *Foods*. MDPI AG; 2021.
24. Venkatesan J, Nithya R, Sudha PN, Kim SK. Role of alginate in bone tissue engineering. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press Inc.; 2014. p. 45–57.
25. Parreidt TS, Müller K, Schmid M. Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. Vol. 7, *Foods*. MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute; 2018.
26. Mostafa AA, Al-Askar AA, Almaary KS, Dawoud TM, Sholkamy EN, Bakri MM. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018 Feb 1;25(2):361–6.
27. Garcia F, Davidov-Pardo G. Recent advances in the use of edible coatings for preservation of avocados: A review. Vol. 86, *Journal of Food Science*. Blackwell Publishing Inc.; 2021. p. 6–15.
28. Siburian PW, Falah MohAF, Mangunwikarta J. Alginate-Based Edible Coatings Enriched with Cinnamon Essential Oil Extend Storability and Maintain the Quality of Strawberries under Tropical Condition. *PLANTA TROPIKA: Jurnal Agrosains (Journal of Agro Science)*. 2021 Feb 28;9(1):58–70.
29. Piazza L, Moresi M, Donsì F, Pirozzi A, Grosso V del, Ferrari G, et al. Combination of Edible Coatings Containing Oregano Essential Oil Nanoemulsion and Pulsed Light Treatments for Improving the Shelf Life of Tomatoes. In: *The Italian Association of Chemical Engineering [Internet]*. 2021. Available from: www.cetjournal.it
30. Salehi B, Gültekin-Özgüven M, Kirkin C, Özçelik B, Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, et al. Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Effects of Anacardium Plants: An Ethnopharmacological Perspective. Vol. 11, *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A.; 2020.

31. McLaughlin John, Balerdi Carlos, Crane Jonathan. El marañón, *Anacardium occidentale* en Florida. Horticultural Sciences. 2005 Nov 23;1–8.
32. Baptista A, Gonçalves RV, Bressan J, do Carmo Gouveia Pelúzio M. Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (*Anacardium occidentale* L.), cajui (*Anacardium microcarpum*), and pequi (*Caryocar brasiliense* C.): A systematic review. Vol. 2018, Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Hindawi Limited; 2018.
33. Mejia Kember, Rengifo Elsa. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonia Peruana. Agencia Española de Cooperación Internacinal y el Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana. 2000;2:1–286.
34. Kannan VR, Samiappan S, Velramar B, Nachimuthu R, Rajesh Kannan V, Kannan VR, et al. Elementary Chemical Profiling and Antifungal Properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts. Botany Research International [Internet]. 2009;2(4):253–7. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/237358357>
35. Bandar H, Hijazi A, Rammal H, Hachem A, Saad Z, Badran B. Techniques for the Extraction of Bioactive Compounds from Lebanese *Urtica dioica*. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics [Internet]. 2013;1(6):507–13. Available from: www.ajpct.org
36. Karina BOLÍVAR, María Elena SANABRIA, Dorian RODRÍGUEZ, Dilcia ULACIO, María de CAMACARO, Luís J. CUMANA, et al. Calidad poscosecha en frutos de mango inoculados con *Colletotrichum gloesporioides*. Revista UDO Agrícola . 2009 Jul 30;9(1):41–50.
37. Claro OE, Ibis A, Silva E. EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA IN VITRO DE MEZCLAS DE ESPECIES DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS INGREDIENTES ACTIVOS DE BIOPLAGUICIDAS CUBANOS. Fitosaidad. 2018;14(2):102–9.
38. Shehata AS, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Comparison between the standardized Clinical and Laboratory Standards Institute M38-A2 method and a 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-[(sulphenylamino) carbonyl]-2H-tetrazolium hydroxide-based method for testing antifungal susceptibility of dermatophytes. Journal of Clinical Microbiology. 2018 Nov;46(11):3668–71.

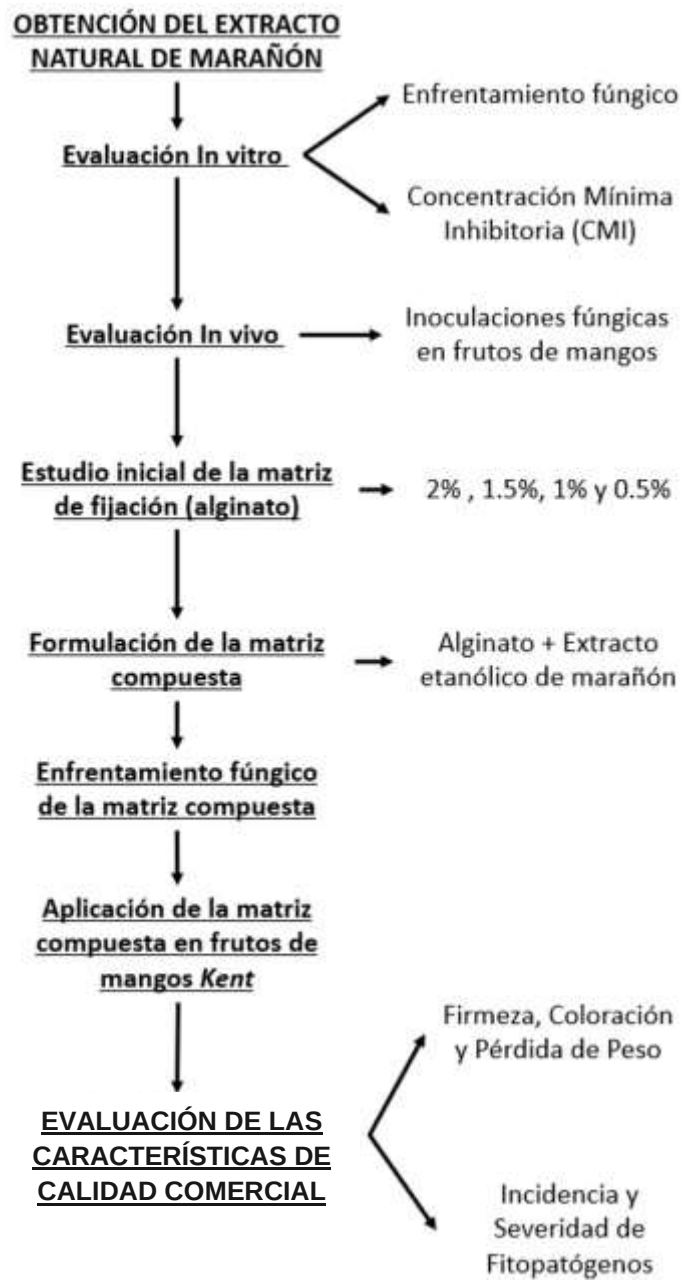
39. Najafi Marghmaleki S, Mortazavi SMH, Saei H, Mostaan A. The Effect of Alginate-Based Edible Coating Enriched with Citric Acid and Ascorbic Acid on Texture, Appearance and Eating Quality of Apple Fresh-Cut. *International Journal of Fruit Science*. 2021;21(1):40–51.
40. El poliestireno. *ChemicalSafetyFacts*. 2018; 5(1): 1-15.
41. Tavassoli-Kafrani E, Gamage MV, Dumée LF, Kong L, Zhao S. Edible films and coatings for shelf life extension of mango: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Bellwether Publishing, Ltd.; 2020.
42. Rastegar S, Hassanzadeh Khankahdani H, Rahimzadeh M. Effectiveness of alginate coating on antioxidant enzymes and biochemical changes during storage of mango fruit. *Journal of Food Biochemistry*. 2019 Nov 1;43(11).
43. Shorter AJ, Joyce DC. Effect of partial pressure infiltration of calcium into “Kensington” mango fruit. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 1998;38(3):287–94.
44. Báez M, Crisosto GM, Contreras R, Wilkins K, Crisosto CH. Entendiendo el Rol de la Madurez Fisiológica y las Condiciones de Envío en la Calidad de Llegada del Mango. 2016.
45. Zapata-Narváez YA, Izquierdo-García LF, Botina-Azaín BL, Beltrán-Acosta CR. Efficacy of microbial antagonists and chitin in the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in postharvest of mango cv. Azúcar. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*. 2021 Apr 29;39(2).
46. Paredes MM, Ramírez-Cando L, Luzardo EC. Evaluation of the antagonistic effect of a biofilm with extracts of *Samanea saman* against *Colletotrichum gloeosporioides* responsible for anthracnose in mango. *Revista Bionatura*. 2021;6(1):1466–72.
47. Aguilar-Alonso P, Rhode Navarro-Cruz A, Briseida Sánchez-Flores A, de la Cruz Meneses-Sánchez M, Ávila-Sosa R. ANTIFUNGAL EFFECT OF PLANT EXTRACTS FROM THE STATE OF PUEBLA ON COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES. 2013.
48. Díaz-Darcía E, Pina-Canseco M, Pérez-Santiago A, Sánchez-Medina M. EFFECT OF GARLIC EXTRACTS (*Allium sativum*) ON THE DEVELOPMENT in vitro OF *Aspergillus parasiticus* AND *Aspergillus niger*.

- Polibotánica [Internet]. 2019 [cited 2021 Oct 4]; Available from: <http://www.polibotanica.mx>
49. Kannan VR, Samiappan S, Velramar B, Nachimuthu R, Rajesh Kannan V, Kannan VR, et al. Elementary Chemical Profiling and Antifungal Properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts. Botany Research International [Internet]. 2010;2(4):253–7. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/237358357>
 50. Domingo D, López-Brea M. Revisión Plantas con acción antimicrobiana. Vol. 16, Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A.-Sociedad Española de Quimioterapia; 2003.
 51. García-Mateos MR, Acosta-Ramos M, Rodríguez-Pérez E, Vásquez-Sánchez J, Hernández-Ramos L. Extractos vegetales para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro y en periodo de floración y poscosecha del fruto de *Carica papaya*. Polibotánica. 2021 Jan 15;0(51).
 52. M. Ragone, S. Garrán. ENFERMEDADES CAUSADAS POR HONGOS. 2014.
 53. Juan CI, Aldemar HI. Films and edible coatings: importance, and recent trends in fruit and vegetable value chain. Revista Tumbaga. 2010;
 54. Hamed H, Kargozari M, Shotorbani PM, Mogadam NB, Fahimdanesh M. A novel bioactive edible coating based on sodium alginate and galbanum gum incorporated with essential oil of *Ziziphora persica*: The antioxidant and antimicrobial activity, and application in food model. Food Hydrocolloids [Internet]. 2017;72:35–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.05.014>
 55. Govindappa M, Bharath N, Shruthi HB, Sadananda TS, Sharanappa P. Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of *Crotalaria pallida* Aiton. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011 Dec 8;5(21):2359–71.
 56. Gurnani N, Gupta M, Mehta D, Mehta BK. Chemical composition, total phenolic and flavonoid contents, and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts from red chilli seeds (*Capsicum frutescens* L.). Journal of Taibah University for Science. 2016 Oct;10(4):462–70.

57. Hernández-Ortega A, Lucas F, Ferreira P, Medina M, Guallar V, Martínez AT. Modulating O₂ reactivity in a fungal flavoenzyme: Involvement of aryl-alcohol oxidase Phe-501 contiguous to catalytic histidine. *Journal of Biological Chemistry*. 2011 Nov 25;286(47):41105–14.
58. Ramirez E, Barrientos. L, Vargas. J, Rodriguez. R. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Botrytis cinerea* by *Guazuma ulmifolia* Lam extracts. *Revista Mexicana de Fitopatología* . 2019;1:330–44.
59. López-Malo A, Alzamora SM, Palou E. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. *International Journal of Food Microbiology*. 2005 Mar 15;99(2):119–28.
60. Helal GEDA, Sarhan MM, Abu Shahla ANK, Abou El-Khair EK. Effects of *Cymbopogon citratus* L. essential oil on the growth, morphogenesis and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ML2-strain. *Journal of Basic Microbiology*. 2007;47(1):5–15.
61. Gutiérrez-Jara C, Bilbao-Sainz C, Mchugh T, Chiou B-S, Williams T, Villalobos-Carvajal R, et al. Effect of Cross-Linked Alginate/Oil Nanoemulsion Coating on Cracking and Quality Parameters of Sweet Cherries. *Foods* [Internet]. 2021; Available from: <https://doi.org/10.3390/foods1002>
62. Científi A, García-Figueroa A, Ayala-Aponte A, Martha ;, Sánchez-Tamayo I, Alimentos I. Effect of Aloe vera and sodium alginate edible coatings on postharvest quality of strawberry. *UDCA* [Internet]. 2019; Available from: <http://doi.org/10.31910/rudca>.
63. Ruiz-Martínez J, Aguirre-Joya JA, Rojas R, Vicente A, Aguilar-González MA, Rodríguez-Herrera R, et al. Candelilla wax edible coating with *flourensia cernua* bioactives to prolong the quality of tomato fruits. *Foods*. 2020 Sep 1;9(9).
64. Guerreiro AC, Gago CML, Faleiro ML, Miguel MGC, Antunes MDC. The effect of alginate-based edible coatings enriched with essential oils constituents on *Arbutus unedo* L. fresh fruit storage. *Postharvest Biology and Technology*. 2015 Feb 1;100:226–33.
65. Slaughter D.C. Métodos para el manejo de la maduración en mango. *Biological and Agricultural Engineering*. 2009 Jan;1–12.

66. Suarez. J, Pérez. M, Giménez. A. Efecto de la temperatura y humedad relativa en el estado de madurez sobre la calidad postcosecha de la fruta de guayaba (*Psidium guajava* L.) procedente de MERCABAR, estado Lara, Venezuela. *Revista UDO agrícola*. 2009;9(1):60–9.
67. Estrada Mesa A, Reyes P, Cardozo M, María Estrada Mesa E, Padilla Reyes F, Julio Márquez Cardozo C, et al. Effect of protective coatings on the quality of mango (*Mangifera indica* L.) IN POSTHARVEST. *UDCA*. 2015;18(1):181–8.
68. Sothornvit R, Klangmuang P. Active Edible Coating to Maintain the Quality of Fresh Mango. *Postharvest Technology Innovation Center*. 2015;473–80.

10. ANEXOS.



Flujograma suplementario 1. Diagrama de actividades realizadas en el proyecto de investigación



MINISTERIO DE SALUD DE PERÚ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 ORGANISMO PÚBLICO EJECUTOR DEL SECTOR SALUD
"Investigar para proteger la salud"

INFORME DE RESULTADO

ESTABLECIMIENTO	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD		
LABORATORIO	MICOLOGIA		
MÉDICO			
DOC REFERENCIA	802010LABORATORIO MICOLOGIA DE ETCONSP	FECHA DE OBTENCIÓN DE MUESTRA	
TIPO DE MUESTRA	CEPA	FECHA DE RECEPCIÓN EN INS	23/06/2010
PRUEBA	TIPIFICACIÓN DE MUESTRAS	FECHA DE RESULTADO EN INS	19/07/2010
CÓDIGO DE ORIGEN	CÓDIGO	Resultado Lab Referencial	
O-4	061471010	ASPERGILLUS NIGER	

Observaciones:



COORD. DE LABORATORIO:



Cajal: Yuyaypall 1400 Teléfono: 4719020 Jesús María Lima 11

Fecha: 11/03/2011 Hora: 4:38 p.m.

<https://www.netlab.ins.gob.pe>

 Usted se encuentra en una zona segura

Informe Suplementario 1: Resultado de Tipificación de *Aspergillus niger* – INS



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología

Av. La Universidad s/n - La Molina Apdo. 456
Teléfono: 349-6631 - e-mail: clinica@lamolina.edu.pe



La Molina, 20 de febrero de 2020
FITO-037-2020

Señores
Bio Natural Solutions SAC
Presente

INFORME DE CEPA

ESTABLECIMIENTO: Clínica de Diagnóstico de Fitopatología y Nematología
TIPO DE MUESTRA : Cepa Fúngica
AISLADO DE: Frutos de Mangos

RESULTADO: *Colletotrichum gloeosporioides*

Observaciones: -



Ing. Walter Apaza Tapia
Coordinador
CLINICA DE DIAGNOSIS

Informe Suplementario 2: Resultado de Tipificación de *Colletotrichum gloeosporioides* – UNALM



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA "ALBERTO CAZORLA TALLERÍ"

CONSTANCIA

El Encargado del Laboratorio de Botánica Aplicada de la Facultad de Ciencias y Filosofía deja constancia que:

Ha recibido de la Señorita *Jesaya Rios Mendoza*, alumna de la Facultad de Ciencias – Ciencias Biológicas de nuestra Casa de Estudios, la muestra botánica de una planta comestible amazónica para su determinación Taxonómica; el nombre local - popular de esta especie es: "marañón" o "cashu".

Las muestras fueron colectadas en el Departamento de Amazonas, Provincia de Condorcanqui, Distrito de Nieva: Instituto tecnológico Santa Maria de Nieva – Fe y Alegría 74: El bosque – Nieva. La ubicación geográfica está señalada por las Coordenadas : 4°35'56" Lat. Sur y 77°51'47" Long. Oeste. La altitud es 189 msnm. La fecha de colecta corresponde al 16 de noviembre del 2019.

El resultado del estudio sistemático de las muestras es el siguiente:

Nombre vernacular: "marañón" o "cashu".

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledónea).

Orden: Sapindales

Familia: ANACARDIACEAE.

Género: Anacardium

Especie: *Anacardium occidentale* L.

Se expide el presente documento a solicitud del interesado para los fines que considere convenientes.

Mg. Camilo Díaz Santibañez.
CBP: 3795.

Lima, 11 de enero del 2022.

Informe Suplementario 3: Resultado de la Determinación Taxonómica de la planta muestreada.

LECTURA VISUAL M38- A (CLSI):													
ANTIFÚNGICO/TIEMPO DE INCUBACIÓN													
	CMI												
	N° POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		MUESTRA = Extracto natural de Maraón/72 horas											
	CONCENTRACIÓN en mg/mL	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12		
	LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												
A	<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	3	4	CONTROL DE CRECIMIENTO	CONTROL DE ESTERILIDAD
B	<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	3	4		
C	<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	3	4		
D													
E													
F													
G													
H													
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO) 0= Ópticamente claro; 1= Ligero crecimiento; 2= Considerable reducción en el crecimiento 3= Pequeña reducción en el crecimiento; 4= Sin reducción de crecimiento. ANTIFÚNGICO: Extracto etanólico de Maraón CMI: Concentración Mínima Inhibitoria (Amarillo)													

Tabla suplementaria 1. Formulario de control de lectura microdilución en caldo para la determinación de CMI en *A. niger*.

LECTURA VISUAL M38- A (CLSI):													
ANTIFÚNGICO/TIEMPO DE INCUBACIÓN													
	CMI												
	N° POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		MUESTRA = Extracto natural de Marañón/72 horas											
	CONCENTRACIÓN en mg/mL	64	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.12		
	LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												
A	<i>C. gloesporioides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4	CONTROL DE CRECIMIENTO	CONTROL DE ESTERILIDAD
B	<i>C. gloesporioides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4		
C	<i>C. gloesporioides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	4		
D													
E													
F													
G													
H													
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO) 0= Ópticamente claro; 1= Ligero crecimiento; 2= Considerable reducción en el crecimiento 3= Pequeña reducción en el crecimiento; 4= Sin reducción de crecimiento. ANTIFÚNGICO: Extracto etanólico de Marañón CMI: Concentración Mínima Inhibitoria (Amarillo)													

Tabla suplementaria 2. Formulario de control de lectura microdilución en caldo para la determinación de CMI en *C. gloesporioides*.

Tabla suplementaria 3. Evaluación de firmeza. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tratamientos	Día	Test de Bartlett	Kruskall Wallis	Test de Wilcoxon
C	2	0.2963	0.01742	a
T1				a
T2				a
C	4	0.7232	0.001564	a
T1				a
T2				b
C	6	0.1481	7.47E-05	a
T1				b
T2				b
C	8	0.4918	3.03E-12	a
T1				b
T2				b
C	10	0.6799	5.66E-12	a
T1				b
T2				b
C	12	2.20E-16	1.76E-15	a
T1				b
T2				b
T1	14	0.06497	0.005212	a
T2				b
T1	16	0.4998	1.66E-10	a
T2				b
T1	17	2.20E-16	1.34E-12	a
T2				b
T2	20			

Tabla suplementaria 4. Análisis estadístico de la variable firmeza. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Tratamientos	Día	Test de Bartlett	Kruskall Wallis	Test de Wilcoxon
C	2	2.20E-16	0.1323	a
T1				a
T2				a
C	4	0.2739	1.98E-09	a
T1				b
T2				b
C	6	0.06	2.19E-14	a
T1				b
T2				b
C	8	0.06	4.98E-15	a
T1				b
T2				b
C	10	0.5011	1.04E-15	a
T1				b
T2				c
C	12	<2.2e-16	<2.2e-16	a
T1				b
T2				c
T1	14	0.6466	2.57E-06	a
T2				b
T1	16	0.2539	3.48E-07	a
T2				b
T1	17	<2.2e-16	3.71E-12	a
T2				b
T2	20			

Tabla suplementaria 6. Análisis estadístico de la variable coloración. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM

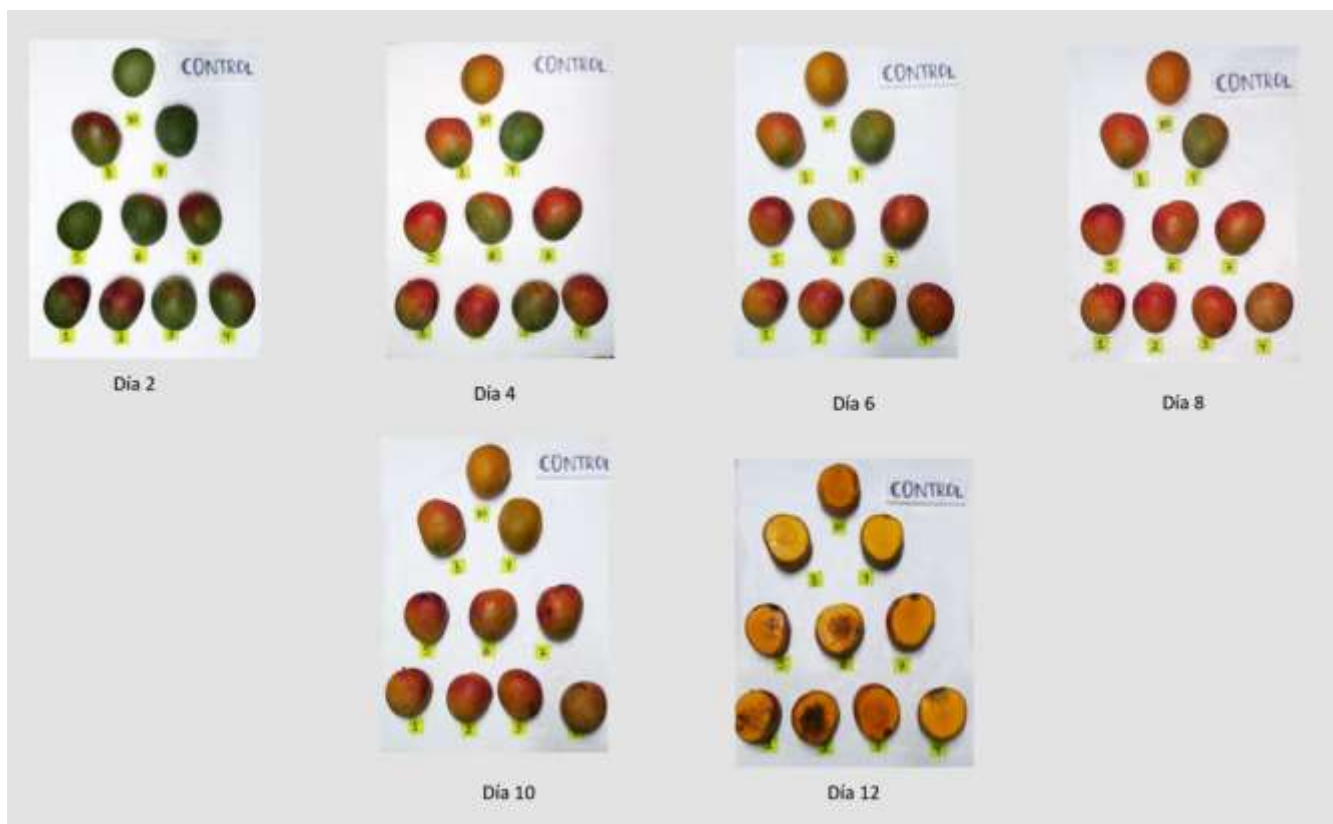


Figura suplementaria 1. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento control (sin recubrimiento).

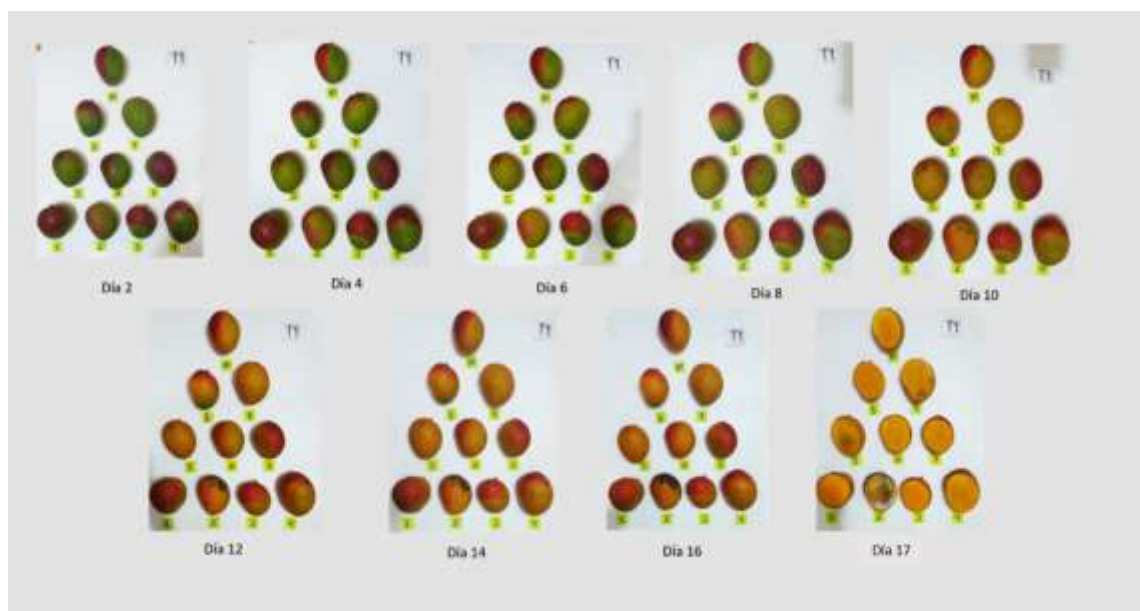


Figura suplementaria 2. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento 1 (recubrimiento con alginato solo).

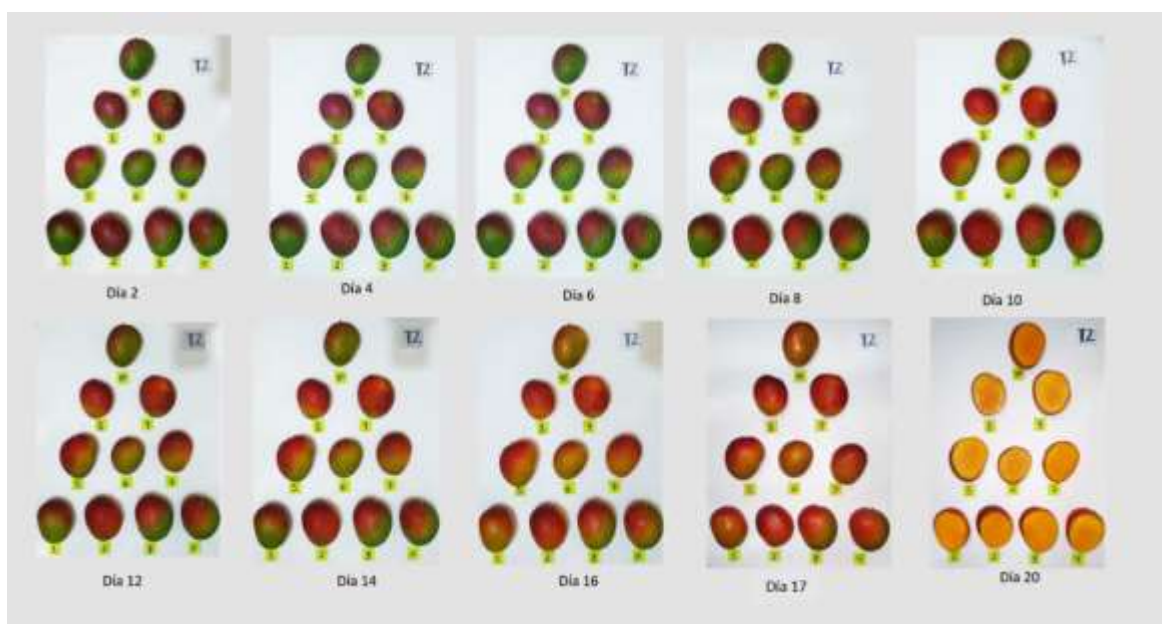
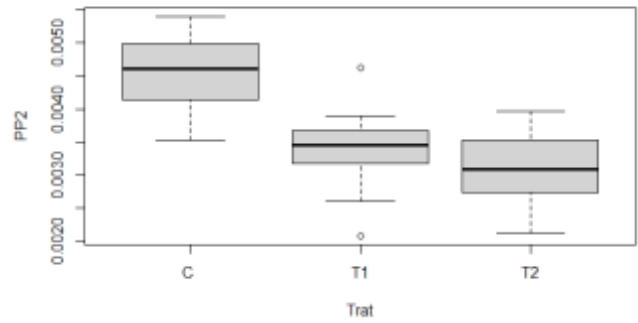
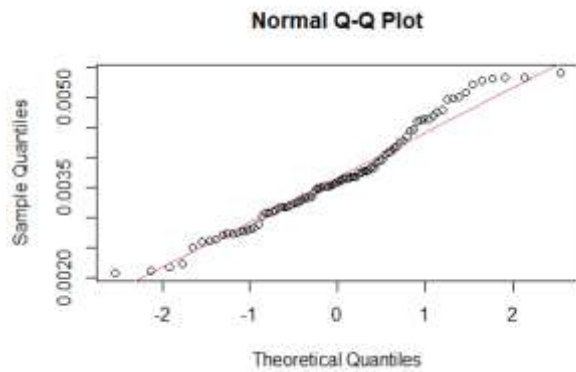
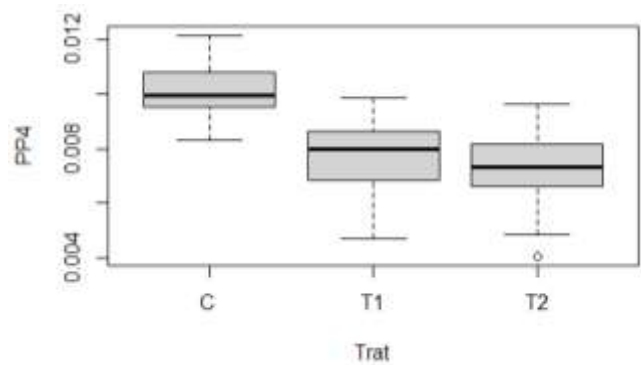
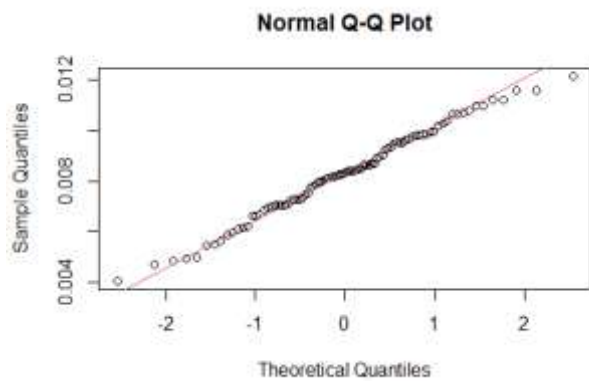


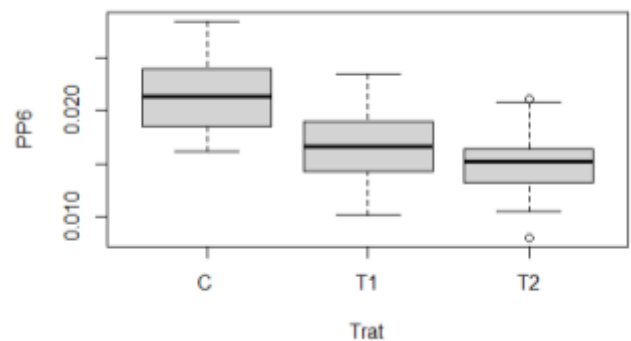
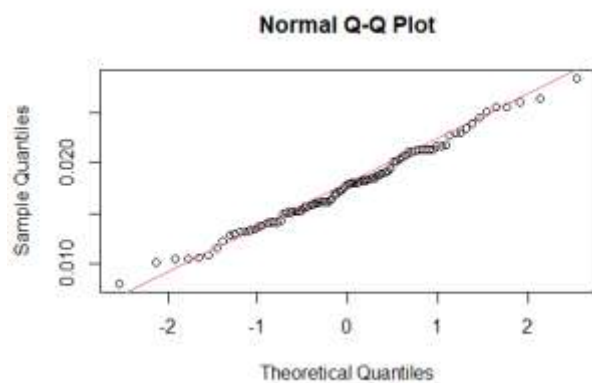
Figura suplementaria 3. Proceso de maduración de los frutos de mangos tratamiento 2 (recubrimiento con EEM).



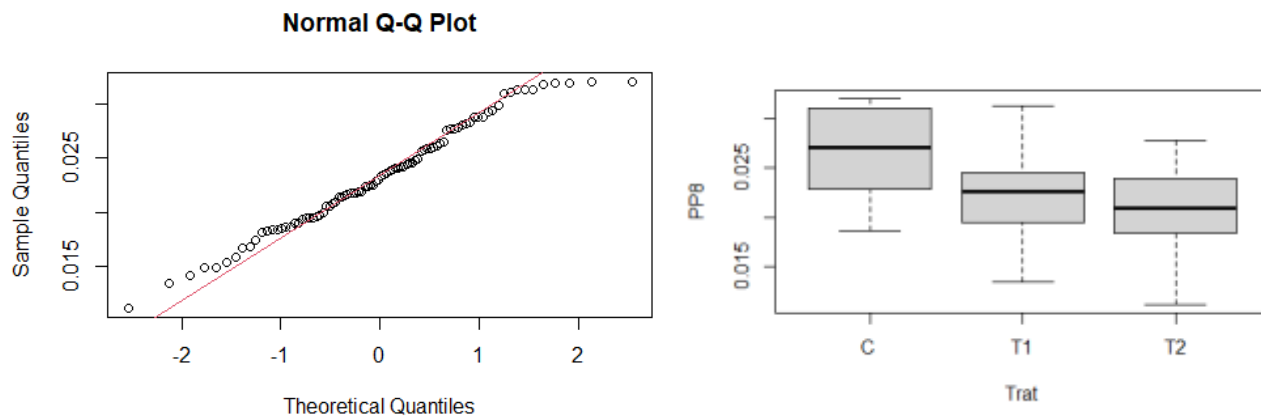
Gráfica suplementaria 1. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 2 de almacenamiento.



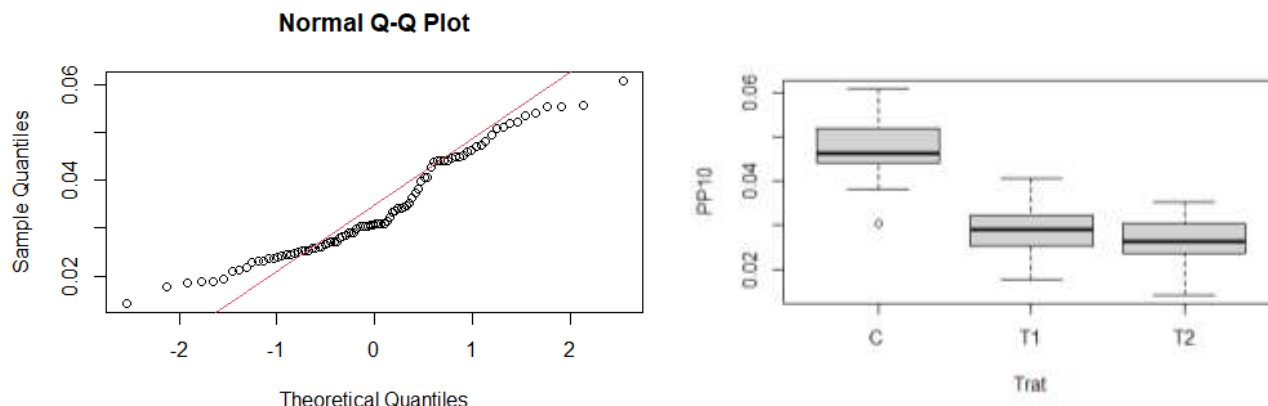
Gráfica suplementaria 2. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 4 de almacenamiento.



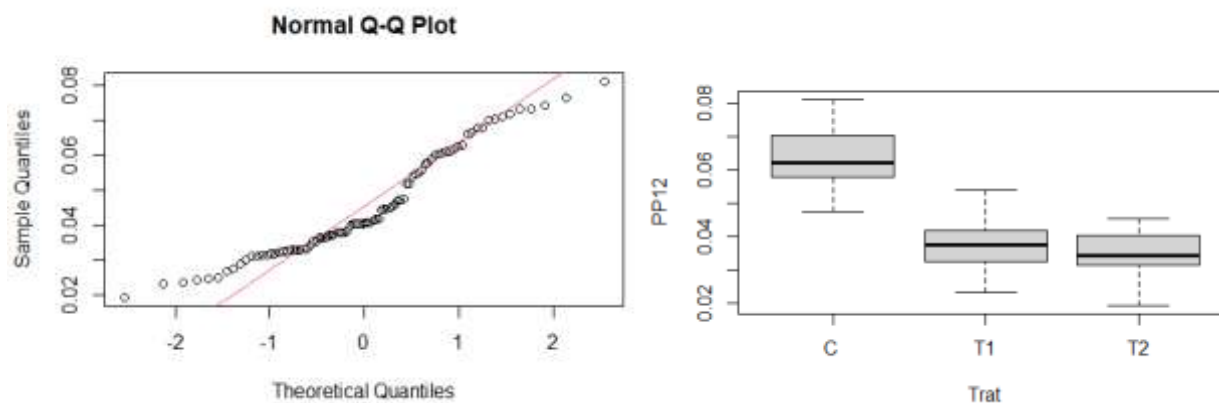
Gráfica suplementaria 3. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 6 de almacenamiento.



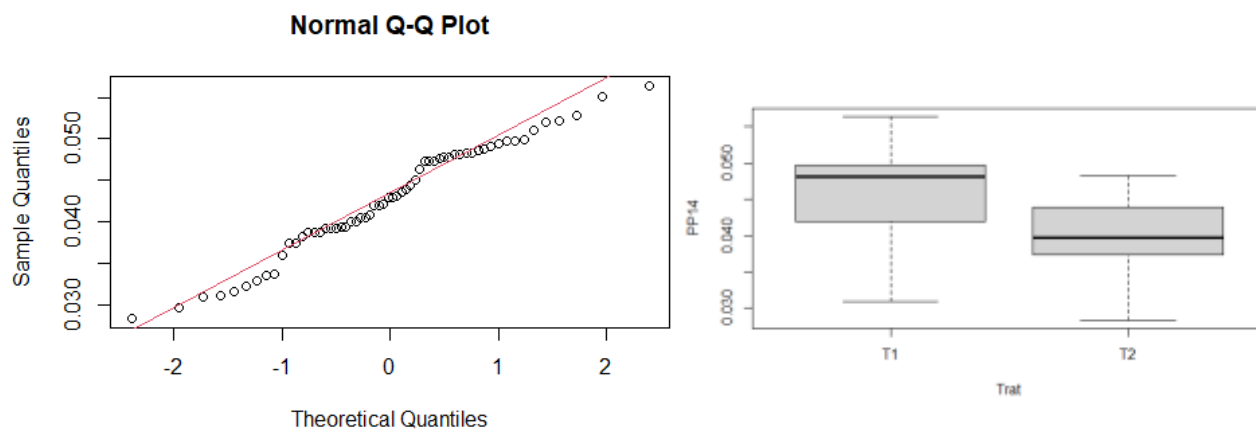
Gráfica suplementaria 4. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 8 de almacenamiento.



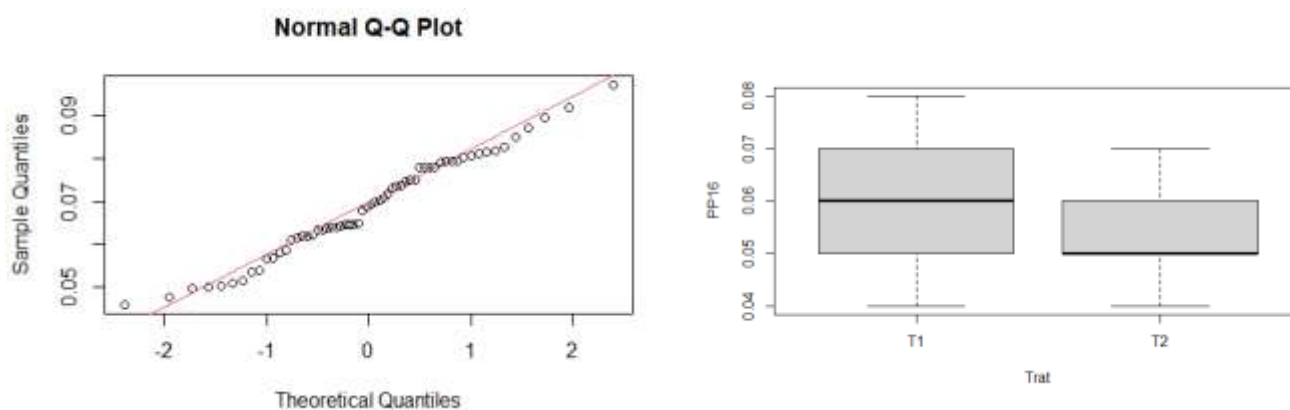
Gráfica suplementaria 5. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 10 de almacenamiento.



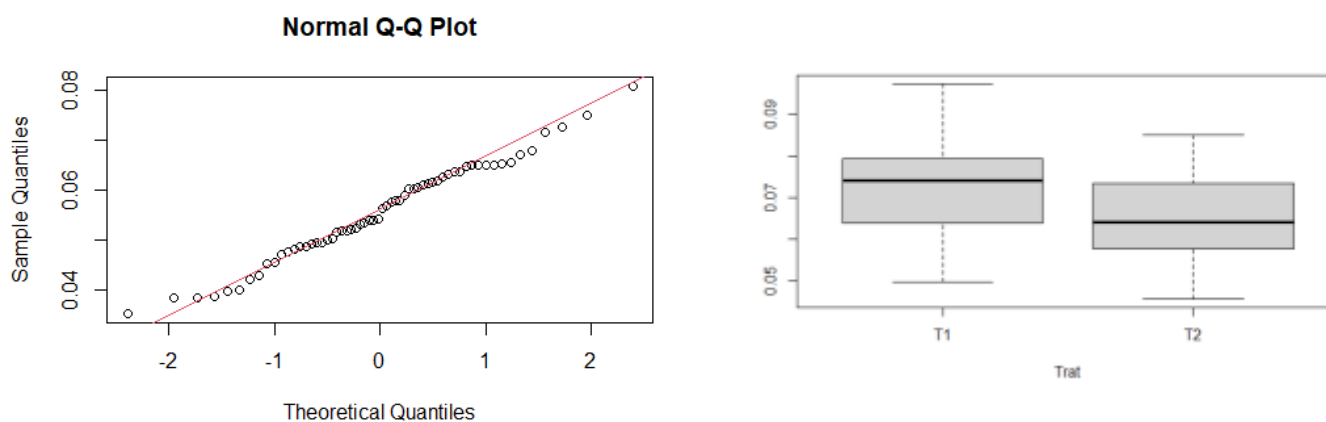
Gráfica suplementaria 6. Normalidad y Box plot de la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 12 de almacenamiento.



Gráfica suplementaria 7. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 14 de almacenamiento.



Gráfica suplementaria 8. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 16 de almacenamiento.



Gráfica suplementaria 9. Normalidad y Box plot para la variable pérdida de peso entre los tratamientos para el día 17 de almacenamiento.

Tratamiento	Día	Shapiro Wilk	Test de Barlette	ANOVA	Tukey -HSD	
C	2	0.8455	0.7716	<2E-16	0.00457	a
T1					0.00338	b
T2					0.00308	b
C	4	0.1672	0.2206	1.85E-14	0.01006	a
T1					0.00757	b
T2					0.00726	b
C	6	0.7566	0.7467	1.33E-11	0.02157	a
T1					0.01661	b
T2					0.01507	b
C	8	0.4146	0.7929	3.23E-07	0.027	a
T1					0.02219	b
T2					0.02079	b
C	10	0.641	0.4164	<2E-16	0.04734	a
T1					0.02852	b
T2					0.0263	b
C	12	0.6901	0.4364	<2E-16	0.06362	a
T1					0.03732	b
T2					0.03473	b
T1	14	0.06528	0.3446	0.000316	0.04581	a
T2					0.0398	b
T1	16	0.1184	0.2665	0.0215	0.0583	a
T2					0.0526	b
T1	17	0.3267	0.5826	0.0261	0.07225	a
T2					0.06545	b
T1	20					
T2						

Tabla suplementaria 8. Análisis estadístico de la pérdida de peso. **C:** Sin recubrimiento, **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.

Día	Tratamiento	Temperatura	Humedad Relativa
D0	C	20 °C	85%
	T1	20 °C	85%
	T2	20 °C	85%
D2	C	20 °C	86%
	T1	20 °C	86%
	T2	20 °C	86%
D4	C	21 °C	85%
	T1	21 °C	85%
	T2	21 °C	85%
D6	C	20 °C	86%
	T1	20 °C	86%
	T2	20 °C	86%
D8	C	22 °C	86%
	T1	22 °C	86%
	T2	22 °C	86%
D10	C	22 °C	86%
	T1	22 °C	86%
	T2	22 °C	86%
D12	C	22 °C	85%
	T1	22 °C	85%
	T2	22 °C	85%
D14	C		
	T1	20 °C	86%
	T2	20 °C	86%
D16	C		
	T1	21 °C	85%
	T2	21 °C	85%
D17	C		
	T1		
	T2	22 °C	85%
D20	C		
	T1		
	T2	21 °C	86%

Tabla suplementaria 9. Data colectada de la Temperatura (°C) y Humedad Relativa (% - Fuente, Senamhi). **C:** Sin recubrimiento. **T1:** Recubierto con alginato solo, **T2:** Recubierto con alginato + EEM.