

## Determinación de la concentración letal media de recubrimientos biodegradables de quitosano y compuestos bioactivos en nauplios de *Artemia salina* Leach

### Median lethal concentration of biodegradable chitosan coatings and bioactive compounds in *Artemia Salina* Leach nauplii

Yeny M. Acostupa-Quispe<sup>1\*</sup>; Violeta E. Zamalloa-Acurio<sup>2</sup>, Alicia Claveli-Jarandilla<sup>3</sup>,  
Indira Monterola-Jururo<sup>2</sup> & Jonyer H. Zapata-Callañaupa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Escuela Profesional de Física, <sup>2</sup>Escuela Profesional de Biología; <sup>3</sup>Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias.  
Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Av. de la Cultura 733, Cusco- Perú

\* Autor correspondiente: Yeny M. Acostupa-Quispe, yeny.acostupa@unsaac.edu.pe

#### RESUMEN

Se determinó la concentración letal media para cada formulación desarrollada de recubrimientos biodegradables de quitosano al 1% con aditivos a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierba luisa o aceite esencial de limón y glicerol, dichas formulaciones fueron desarrolladas con miras a ser usados sobre frutos de fresa. En las formulaciones de los recubrimientos biodegradables se evaluó la actividad tóxica usando como organismo de prueba Nauplios de *Artemia Salina* Leach, los resultados de mortalidad sirvieron para determinar la concentración letal media en las formulaciones, para ello se usó la librería 'drc' del programa R, dando por resultado que al 0.25% de aceite esencial de hierba luisa o limón y al 0.3% de glicerol la formulación es relativamente inocua. Del análisis de su comportamiento y de los resultados del ANOVA se obtuvo que la adición de glicerol actúa positivamente sobre la concentración letal media y que la adición de aceite esencial actúa positivamente hasta 0.25% para después actuar negativamente. Se concluyó que las formulaciones desarrolladas para los ensayos con aceite esencial de hierba luisa o de limón están catalogadas como ligeramente tóxica, prácticamente no tóxica o relativamente inocua; la formulación 1 de recubrimientos biodegradables es relativamente inocua sea con aceite esencial de hierba luisa o de limón; los ensayos con incorporación de aceite esencial de limón presentan mayor actividad tóxica que las formulaciones en los ensayos con incorporación de aceite esencial de hierba luisa.

Palabras claves: Recubrimientos, biodegradables, concentración letal media.

#### ABSTRACT

The mean lethal concentration was determined for each formulation developed of biodegradable 1% chitosan coatings with additives at different concentrations of lemon verbena essential oil or lemon essential oil and glycerol, these formulations were developed with a view to being used on strawberry fruits. In the formulations of the biodegradable coatings, the toxic activity was evaluated using as test organism Nauplius from *Artemia Salina* Leach, the mortality results were used to determine the mean lethal concentration in the formulations, for this the 'drc' library of the R program was used, resulting in that 0.25% lemon verbena essential oil and 0.3% glycerol the formulation is relatively harmless. From the analysis of its behavior and the results of the ANOVA, it was obtained that the addition of glycerol acts positively on the mean lethal concentration and that the addition of essential oil acts positively up to 0.25% and then acts negatively. It was concluded that the formulations developed for the tests with lemon verbena or lemon essential oil are classified as slightly toxic, practically non-toxic or relatively harmless; formulation 1 of biodegradable coatings is relatively harmless with either lemon verbena or lemon essential oil; the tests with the incorporation of lemon essential oil show higher toxic activity than the formulations in the tests with the incorporation of lemon verbena essential oil.

Keywords: Coatings, biodegradable, medium lethal concentration.

#### INTRODUCCIÓN

La toxicidad tiene un papel primordial al analizar si el uso del recubrimiento biodegradable R.B. puede ser o no tóxico para el organismo, por tanto el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la toxicidad de las formulaciones de R.B., determinar cuál de los ensayos con aceite esencial de hierba luisa (AEHL) o con aceite esencial de limón (AEL) presentan menor actividad tóxica y determinar que formulaciones de recubrimientos biodegradables no tienen actividad tóxica para ser usados como recubrimientos en frutos de fresa y poder extender el tiempo de vida postcosecha generando menor pérdida económica. La importancia de la investigación radica también que el proyecto Sierra y Selva Exportadora ha promovido la producción de fresas en el Valle Sagrado de los Incas (La República, 2017) de manera sostenible que generan ingresos autónomos en hogares rurales con economías de subsistencia de comunidades de Coya - Calca, en Cusco (Plataforma digital única del Estado Peruano, 2020). Así también se espera que los resultados de esta investigación

contribuyan al desarrollo de otras formulaciones que puedan ser de interés en la conservación de otros alimentos.

Los R.B. es una técnica no invasiva al recubrir frutos y respetuosa del medio ambiente, que según Durango (2009) mantiene la apariencia fresca, firmeza y brillo, aumentando la calidad del producto y su valor comercial y se ha demostrado ser efectivo en la preservación de muchos alimentos, especialmente en frutas y hortalizas. Los R.B. también pueden utilizarse como vehículo de aditivos que evitan o reducen el crecimiento de microorganismos en su superficie, dentro de los agentes antimicrobianos incorporados a los recubrimientos vegetales pueden considerarse a los aceites esenciales (Ramos, et al, 2010). Así mismo los R.B. de quitosano al ser aplicados en frutos mantiene su calidad más tiempo, por tener carácter antifúngico o antibacterial y retrasa el deterioro del fruto (Tanada & Grosso, 2005).

Hernández (2002), El Ghaouth et al. (1992); Meng et al. (2008) y Sanchez (2008) citado por Ramos, et al. (2010) afirman que los recubrimientos con quitosano forman una cubierta en la superficie de los frutos, que actúa como una

**Tabla 1:** Formulaciones de recubrimiento biodegradables de quitosano y compuestos bioactivos.

Formulación	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Aceite esencial (%)	0,25	0	0,5	0	0,5	0	0,6	0,25	0,25
Glicerol (%)	0,3	0	0	0,6	0,6	0,3	0,3	0	0,72

barrera mecánica para proteger al fruto de infecciones causadas por hongos, ayudando así a disminuir las enfermedades causadas durante el almacenamiento por *Rizophus stolonifer* (Ehrenb:Fr), *Botrytis cinerea* Pers:Fr, y *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) entre otras.

Según Vargas et al. (2006), el recubrimiento de quitosano y ácido oleico, sobre frutos de fresa reduce la incidencia de microorganismos hasta en un 80% al término de la evaluación en comparación con frutos no tratados. Investigaciones de toxicidad de extractos de plantas en bioensayos sobre *Artemia salina* Leach determinan la CL50: según Pereira, E. (2015), el extracto de hinojo presenta baja toxicidad, alcanzando una CL50 de 428 ppm, el ají pimienta un valor de 716,1 ppm, el eneldo 2624,5 ppm y el romero 3172,0 ppm, siendo considerado los dos últimos no tóxicos, debido a esta característica, el eneldo tiene una gran aplicabilidad por ser una hierba aromática y medicinal, presente en muchas regiones de Brasil, que tiene compuestos beneficioso para el tratamiento y prevención de enfermedades, siendo consumido sin restricciones sobre el uso de tés como hierbas.

De acuerdo a Dantas (2016) el extracto de etanol de la semilla y la cáscara de la semilla del aceite de Moringa presenta una CL50 de 1783,40 y 1501,71 respectivamente, no presentando toxicidad. Figueira et al. (2012) evaluó la toxicidad de plantas brasileñas como la pata de vaca (*Bauhinia forficata*) y la albahaca (*Ocimum gratissimum*) resultando una CL50 de 1780 y 755,5 ppm respectivamente, tal que el extracto de pata-de-vaca se consideró no tóxico y el extracto de albahaca presentó una leve toxicidad contra la *Artemia salina*.

## MÉTODOS

### Formulación de los R.B.

Se elaboró solución de quitosano de alto peso molecular al 1,00 % p/p disuelto en ácido acético glacial a 1% V/V, a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierba luisa o limón. Se realizaron nueve formulaciones por cada ensayo según la Tabla 1.

### Organismos de prueba

Fueron los nauplios de *Artemia salina* Leach, se agregó 18gr de huevos deshidratados de *Artemia salina* (SERA/ *Artemia*- mix) en un recipiente de fondo oscuro prevista de un oxigenador de acuario de 500 ml de agua salina al 30% (NaCl). Se controló la homogeneidad de huevos para que ellos estén húmedos e hidratados, desechando los que flotaron, luego se procedió a colocarlos en una incubadora con luz artificial a temperatura de 35°C, con aireación constante durante 48h.(Gualdrón & Lopez, 1994).

### Evaluación de la toxicidad in vitro

En tubos de 10ml se colocó 5, 10, 25, 50, 100 y 200 µl de cada una de las formulaciones de R.B. de quitosano al 1 %, Glicerol y aceite esencial de hierba luisa o de limón. Se realizó la dilución con agua salina hasta llenar los tubos a 10ml, agregándose a cada tubo 10 nauplios, los cuales fueron expuestos a temperatura ambiente por 48 horas y sometidos a las concentraciones de 500, 1000, 2500, 5000, 10000 y 20000 ppm, para luego tomar lectura del número de nauplios muertos,

cada muestra se realizó por duplicado. Como control se usó solución salina incorporándose 10 nauplios en ella.

### Determinación de la CL50 (concentración letal media)

Con la información del número de nauplios muertos, se determinó para cada formulación de recubrimientos biodegradables la concentración letal media CL50 haciendo uso de la librería 'drc' del programa R (Ritz, 2016), de acuerdo a los valores obtenidos de la CL50 y en base a la Clasificación de tóxicos según criterios de Williams (1985) (Tabla 2), se determinó en cada formulación el grado de actividad tóxica.

### Comportamiento de la CL50

El comportamiento de las variaciones de la CL50 en los R.B. de quitosano al 1% a diferentes concentraciones de aceite esencial de hierba luisa o de limón y glicerol, se determinó con el paquete estadístico Statgraphics, usando un análisis de varianza (ANOVA) y para la determinación de la concentración óptima se empleó la metodología de superficies de respuesta. La tabla ANOVA particiona la variabilidad de CL50 del aceite esencial y del glicerol en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental con un nivel de confianza del 95.0%.

**Tabla 2:** Clasificación de tóxicos CYTED (Programa iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo)

I	Extremadamente tóxico	1-10 ppm
II	Altamente tóxico	10 - 100 ppm
III	Moderadamente tóxico	100 -500 ppm
IV	Ligeramente tóxico	500 - 1000 ppm
V	Prácticamente no tóxico	1000 - 1500 ppm
VI	Relativamente inocuo	>1500 ppm

Fuente: Sanchez, L.(2005)

## RESULTADOS

Del porcentaje de mortalidad a las 48 horas de los nauplios de *Artemia salina*, reportados en la Tabla 3, se observa que la mortalidad supera el 50% a partir de 2500 ppm en la mayor parte de los ensayos con AEHL y en los ensayos con AEL a partir de 1000 ppm.

A partir de la Tabla 3, se determinó los valores de la concentración letal media, a la que se presenta un 50% de mortalidad por toxicidad, para cada una de las formulaciones de R.B. de los ensayos con AEHL y con AEL, lo que se reporta en la Tabla 4.

Considerando que a mayor CL<sub>50</sub> menor es la actividad tóxica, el orden decreciente en actividad tóxica en los ensayos con AEHL es como sigue F3, F2, F5, F9, F6, F8, F7, F4 y F1, de acuerdo a la tabla 2 se afirma que F3 y F2 presenta ligera toxicidad; F5, F9, F6, F8, F7 y F4 son prácticamente no tóxicos y F1 es relativamente inocuo. En los ensayos con AEL, el orden decreciente en actividad tóxica es como sigue F5, F7, F6, F2, F4, F3, F8, F9 y F1, donde F5, F7, F6, F2, F4, F3 y F8 son considerados ligeramente tóxicos, F9 prácticamente no tóxico y F1 es relativamente inocuo.

**Tabla 3:** Porcentaje de mortalidad de nauplios de *Artemia salina* Leach sometidos a diferentes formulaciones de recubrimiento biodegradables durante 48 horas

	Concentración (ppm)	Mortalidad (%)									
		control	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
Ensayo con AEHL	500	0	40	30	40	30	40	30	20	30	40
	1000	0	30	60	70	30	40	40	30	60	40
	2500	0	60	70	70	80	80	80	80	40	60
	5000	0	70	80	80	60	70	70	80	80	80
	10000	0	80	90	70	90	100	80	100	90	90
	20000	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Ensayo con AEL	500	0	30	40	50	40	40	50	40	30	20
	1000	0	20	70	60	70	80	60	80	70	50
	2500	0	40	70	50	60	80	70	60	70	60
	5000	0	90	80	70	70	80	90	90	70	90
	10000	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100
	20000	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100

F1: formulación 1 con 0,25% de aceite esencial y 0,3 % de glicerol. F2: formulación 2 con 0 % de aceite esencial y 0 % de glicerol. F3: formulación 3 con 0,5 % de aceite esencial y 0% de glicerol. F4: formulación 4 con 0 % de aceite esencial y 0,6 % de glicerol. F5: formulación 5 con 0,5 % de aceite esencial y 0,6 % de glicerol. F6: formulación 6 con 0 % de aceite esencial y 0,3 % de glicerol. F7: formulación 7 con 0,6 % de aceite esencial y 0,3 % de glicerol. F8: formulación 8 con 0,25% de aceite esencial y 0% de glicerol. F9: formulación 9 con 0.25% de aceite esencial y 0,72 % de glicerol. AEHL: aceite esencial de hierba luisa. AEL: aceite esencial de limón.

**Tabla 4:** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de formulaciones de recubrimientos biodegradables con quitosano al 1% en nauplios de *Artemia salina* Leach en 48 horas.

Formulación	Ensayo AEHL		Ensayo AEL CL <sub>50</sub> (ppm)	Límite de confianza 95%		Ensayo AEL CL <sub>50</sub> (ppm)	Límite de confianza 95%	
	AE % p/p	G% p/p		Inferior	Superior		Inferior	Superior
<b>F1</b>	0.25	0.3	1550	390	2700	2180	390	3960
<b>F2</b>	0	0	930	540	1320	640	160	1130
<b>F3</b>	0.5	0	580	0	1460	730	0	1920
<b>F4</b>	0	0.6	1470	160	2780	700	0	1610
<b>F5</b>	0.5	0.6	1010	220	1800	540	70	1010
<b>F6</b>	0	0.3	1230	380	2080	590	230	950
<b>F7</b>	0.6	0.3	1410	900	1910	570	0	1310
<b>F8</b>	0.25	0	1270	0	2750	820	30	1600
<b>F9</b>	0.25	0.72	1190	550	1830	1260	710	1810

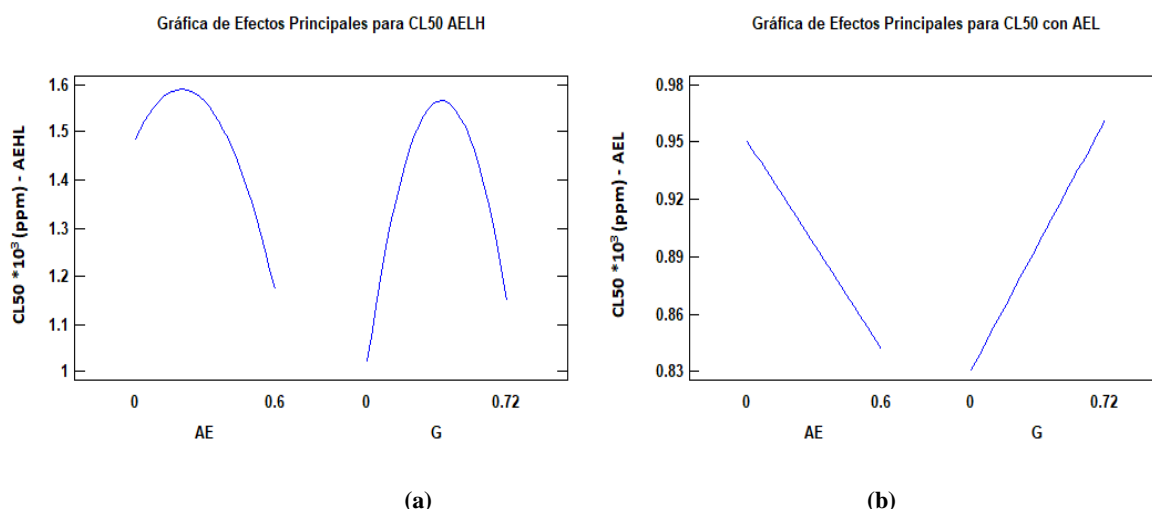
La presencia de una relación entre la cantidad usada de aceite esencial y glicerol en los R.B. de quitosano al 1 % se obtiene de los resultados del ANOVA, que particiona la variabilidad separadamente para cada uno de los efectos del aceite esencial usado y del glicerol sobre la CL<sub>50</sub>, cuya gráfica de efectos principales muestra la figura 1 y cuyos coeficientes de regresión múltiple para ambos ensayos se presentan en la tabla 5, del cual resulta las relaciones:

$$CL_{50} = 906,338 + 1171,29 * AEHL + 2938,88 * G - 2604,1 * AEHL^2 - 360,333 * AEHL * G - 3693,1 * Glicerol^2 \quad (1)$$

$$CL_{50} = 795,145 + 1187,81 * AEL + 4298,03 * G - 828,167 * AEL * G \quad (2)$$

Se recomienda hacer estudios de la formulación obtenida por la optimización de la ecuación 1 con 0.198 % p/p de AEHL y 0.388 % p/p de G que permita incrementar el valor de CL<sub>50</sub> a 1592,79 ppm.

Ambas ecuaciones muestran sobre la CL<sub>50</sub> un efecto positivo del aceite esencial de hierba luisa o limón y del glicerol al actuar independientemente, la que se ve disminuida por el efecto conjunto de ambos factores. Sin embargo, frente a la necesidad de elaborar R.B. de quitosano donde el glicerol le da elasticidad a los recubrimientos y el aceite esencial aumenta el efecto fungicida se optimiza el modelo de la ecuación 1 y 2 mediante la metodología de superficie de respuestas, cuyos resultados de la combinación de los niveles de factores se muestra en la tabla 6, del cual resulta un valor de CL<sub>50</sub> máximo e igual a 1592,79 ppm con 0.198 % p/p de AEHL y 0.388 % p/p de G, y en los ensayos con AEL resulta un valor de CL<sub>50</sub> máximo e igual a 1104,6 ppm con 0 % p/p de AEL y 0.72% p/p de G.



**Figura 1:** Efectos principales de la CL50 ante variaciones de aceite esencial y glicerol en las formulaciones de recubrimiento biodegradables con quitosano al 1%: (a) Ensayos con AEHL, (b) Ensayos con AEL

**Tabla 5:** Coeficientes de regresión de la relación de concentración letal media (CL50) de recubrimientos biodegradables con quitosano al 1% con incorporación de AE y G

Coefficiente	Estimado AEHL	Valor p	Estimado AEL	Valor p
constante	0.906338		0.795145	
A:AE	1.17129	0.0037	0.118781	0.0130
B: G	2.93888	0.0075	0.429803	0.0192
AA	-2.6041	0.4482	-0.828167	0.0154
AB	-0.360333	0.0089	0	
BB	-3.6931	0.1736	0	

**Tabla 6:** Maximización de la concentración letal media (CL50) de recubrimientos biodegradables con quitosano al 1% con la proporción de AE y G

Factor	Ensayo con AEHL			Ensayo con AEL			
	Bajo	Alto	Óptimo	Bajo	Alto	Óptimo	
AE	0.0	0.6	0.198007	AE	0.0	0.6	2.13837E-8
G	0.0	0.72	0.388282	G	0.0	0.72	0.72
<b>Optimizar Respuesta</b>				<b>Optimizar Respuesta</b>			
Meta: maximizar CL50 con AEHL				Meta: maximizar CL50 con AEL			
Valor óptimo = 1592,79				Valor óptimo = 1104,6			

## DISCUSIÓN

Dantas, D. (2016) en su estudio con Nauplios de *Artemia salina* Leach obtuvo una CL50 de 1501,71 ppm para la cáscara de semilla del aceite de Moringa afirmando que esta es no toxica por resultar la CL50 > 1000 ppm, el valor de la CL50 obtenida por Dantas es inferior al determinado en este estudio con la formulación 1 de 0,25% de AEHL - 0,3% de G y CL50 de 1550 ppm e inferior a la obtenida con 0,25% de AEL y 0,3% de G y CL50 de 2180 ppm ambas catalogadas como relativamente inocuas según la clasificación de tóxicos CYTED. Las formulaciones F5, F9, F6, F8, F7 y F4 sen los ensayos con AEHL son consideradas prácticamente no tóxicas según la misma clasificación.

Pereira, E. (2015) en su trabajo de toxicidad con Nauplios de *Artemia salina* Leach determinó para el hinojo una CL50 de 428 ppm, afirmando que este presenta baja toxicidad y para el ají pimienta una CL50 de 716,1 ppm, afirmando que este presenta moderada toxicidad. Valores cercanos a estos obtuvimos con la formulación 3 con CL50 de 580 ppm y con la

formulación 2 con CL50 de 930 ppm en ensayos con aceite esencial de hierba luisa, ambas ligeramente tóxica de acuerdo a la clasificación de tóxicos CYTED

De las formulaciones no tóxicas realizadas para el ensayo con aceite esencial de limón, se obtuvo mejor resultado en la formulación 1 con 0,25% de AE y 0,3% de G presenta una CL50 de 2180 ppm inferior a la obtenida por Pereira, E. (2015) con el extracto de eneldo con valor de CL50 de 2624,5 ppm, pero superior a la obtenida por Figueira et al. (2012) con el extracto de pata de vaca con CL50 de 1780 ppm y a la obtenida por Dantas, D. (2016) con el extracto de semilla del aceite de Moringa con una CL50 de 1783,40. La formulación 9 con 0,25% de AE y 0,72% de G presenta una CL50 de 1260 ppm inferior a la obtenida por Dantas, D. (2016) con la cáscara de la semilla del aceite de Moringa con CL50 de 1501,71 ppm. Las formulaciones que presentan ligera toxicidad, con valores de CL50 de 730, 700 y 820 ppm en las formulaciones 3, 4 y 8 respectivamente, presentan valores cercanos al ají pimienta con CL50 de 716,1 ppm obtenida por Pereira, E. (2015), las formulaciones 2, 5, 6 y 7 con CL50 de 640, 540, 590 y 570 ppm

presentan valores superiores a la obtenida para el hinojo con CL<sub>50</sub> de 428 ppm estudiado por Pereira, E. (2015).

### CONCLUSIONES

1. En la evaluación de la actividad tóxica de las formulaciones desarrolladas de recubrimientos biodegradables con aceites esencial de hierba luisa y de limón, se obtuvo como resultado que estas están comprendidas entre ligeramente tóxica, prácticamente no tóxica y relativamente inocua.
2. Se determinó que las formulaciones desarrolladas de recubrimientos biodegradables con aceite esencial de hierba luisa presenta menor actividad tóxica frente a las desarrolladas con aceite esencial de limón (AEL).
3. Las formulaciones de recubrimientos biodegradables que no tienen actividad tóxica para ser usados como recubrimientos en frutos de fresa y poder extender su tiempo de vida postcosecha es la formulación 1 con 0,25% de aceite esencial de hierba luisa y 0,3% de glicerol con una CL<sub>50</sub> de 1550 ppm.

### AGRADECIMIENTOS:

Los autores expresamos nuestros agradecimientos:

- Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco por haber hecho posible la realización de este trabajo de investigación con Fondos Canon.
- A los Departamentos Académicos de Física, Biología y Química por la facilidad del uso de sus laboratorios.
- Al director y responsables del laboratorio de Control de Calidad, por la facilidad del uso de sus instalaciones.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Dantas, D., Silva, A. & Dantas, J. (2016). Toxicidade da moringa oleifera utilizando o teste com artemias salinas Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Centro de Educação e Saúde – CES. pag. 4.

Durango, M., Soares N., & Arteaga M. (2000). Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos [Publicación periódica] // Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial. - Colombia: [s.n.], 2009. - 1: Vol. 9. - págs. 122-128. - ISSN - 1692-3561.

Figueira, A., Brito, A., & Silva, A. (2012). Avaliação da toxicidade de plantas medicinais brasileiras por meio do bioensaio com *Artemia salina* in Faculdade Ceres (TCC)

Gualdrón, V. & Lopez, P. (1994). Estudio fotoquímico preliminar y letalidad sobre larvas de *Artemia salina* de algunas plantas superiores colombianas. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia.

La República (2017). Página 14 del 15 mayo 2017. <http://plataforma.ipnoticias.com/landing?cac=%2fgWR7fAM175BLnj5I%2foYgw%3d%3d&i=8rjVc38Q1fmQN9n3eazhjw%3d%3d&c=nTjD7Ty97SQM9hwKY4kV2XTx9c2sV LtnST241NjxHJ8Zw2P0fUHNYSBIKxw2Q7s&nsq=0&pm=1HUfQzPjQy3fRQ4WkUAmEQ%3d%3d&idi=>

Pereira, E. (2015) Potencial toxicológico frente *Artemia salina* em plantas condimentares comercializadas no município de Campina Grande-PB. Revista Verde. .v. 10, n.1, p. 52 - 56, Paraíba, 2015.

Plataforma digital única del Estado Peruano (2020). <https://www.gob.pe/institucion/foncodes/noticias/309624-cultivos-de-fresas-ecologicas-en-fitotoldos-y-casitas-calientes-ante-las-heladas-reconocidas-como-buenas-practicas-de-gestion-publica-2020>

Ramos, M. & Bautista, S. (2010). Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas. Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 28, núm. 1, 2010, pp. 44-57 Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. Texcoco, México

Ritz, C. & Jens, C. (2016). Analysis of Dose-Response Curves

Sanchez, L. & Neira, A. (2005). Bioensaio general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava*. L y *Psidium guineense*. Sw. Cultura científica, octubre 2005.

Tanada S.P. & Grosso, C. (2005). Effect of edible wheat gluten-based films and coatings on refrigerated strawberry (*Fragaria anassa* quality). Postharvest Biology and Technology. 36, 199-208

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

Presentado: 10.10.2021  
 Aceptado: 14.11.2021  
 Publicado: 31/01/2022