

Efecto de nanorecubrimientos de quitosano-aceite esencial de tomillo sobre la calidad postcosecha en frutos de jitomate

Effect of chitosan-thyme essential oil nanocoatings on postharvest quality of tomato fruit

Zormy Nacary Correa-Pacheco*, CONACYT-Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carretera Yautepec-Jojutla, Km 6, Calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, Yautepec, C.P. 62731, Morelos. México; **Kárel Damari García-Paniagua**, UPEMOR. Boulevard. Paseo Cuauhnáhuac 566, Lomas del Texcal, Jiutepec, C.P. 62574, Morelos. México; **Silvia Bautista-Baños, María Luisa Corona-Rangel**, Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carretera Yautepec-Jojutla, Km 6, Calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, Yautepec, C.P. 62731, Morelos. México; *Autor para correspondencia: zncorreapa@conacyt.mx

Recibido: 23 de Marzo, 2019.

Aceptado: 19 de Junio, 2019.

Correa-Pacheco ZN, García-Paniagua KD, Bautista-Baños S y Corona-Rangel ML. 2019. Efecto de nanorecubrimientos de quitosano-aceite esencial de tomillo sobre la calidad postcosecha en frutos de jitomate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37 (No. Esp. 1) 29-36. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1903-5

Resumen. En la actualidad, para prolongar el tiempo de vida útil de las frutas y vegetales, se están buscando alternativas naturales, tales como el quitosano y los aceites esenciales, con la finalidad de sustituir a los tradicionales pesticidas que contaminan el ambiente. En este trabajo, se presentan los resultados del efecto de nanorecubrimientos de quitosano-aceite esencial de tomillo sobre la calidad postcosecha en jitomate luego de 7 días de almacenamiento. Se evaluaron las variables: color, firmeza, pH, sólidos solubles totales (SST), carotenoides, pérdida de peso (PP), respiración y actividad antibacteriana. De los resultados, se obtuvo que todas las variables presentaron diferencias

estadísticas significativas para las formulaciones y los controles, excepto la PP. El recubrimiento con un 15 % de nanopartículas de quitosano QS+NPQs (15%) + G mantuvo una mayor firmeza durante el período de almacenamiento y además presentó la mayor inhibición contra *Pectobacterium carotovorum*. La aplicación de recubrimientos basados en compuestos naturales y bioactivos como el quitosano y los aceites esenciales, empleando una técnica innovadora como la nanotecnología, representa una alternativa viable y amigable con el ambiente, para la conservación de productos hortofrutícolas.

Palabras clave: nanopartículas, bacteria, maduración, UFC, *Solanum lycopersicum*.

Abstract. Currently, in order to prolong the shelf life of fruits and vegetables, new natural solutions, such as chitosan and essential oils have been used instead of synthetic pesticides that causes environmental pollution. In this work, the results of chitosan-thyme essential oil nanocoatings on the

postharvest quality in tomato after 7 days of storage are presented. The variables evaluated were: color, firmness, pH, total soluble solids (SST), carotenoids, weight loss (PP), respiration and antibacterial activity. From the results, all variables presented significant statistical differences for the different formulations and controls, except the PP. The coating with 15% of chitosan nanoparticles (QS + NPQs (15%) + G) maintained higher firmness during storage time and also showed the highest inhibition against *Pectobacterium carotovorum*. The application of coatings based on natural and bioactive compounds such as chitosan and essential oils, using an innovative technique such as nanotechnology, represents a viable and environmentally friendly alternative for the conservation of horticultural products.

Key words: nanoparticles, bacteria, ripening, CFU, *Solanum lycopersicum*.

Pectobacterium carotovorum es una bacteria Gram-negativa y patógena para las plantas que causa enfermedades en diversos productos hortofrutícolas como la berenjena y el tomate (Wang *et al.*, 2015), entre otros. Actualmente, productos químicos se utilizan para controlar esta bacteria, sin embargo, causan problemas de contaminación al medioambiente, resistencia y daños a la salud. Por lo tanto, se deben buscar nuevas alternativas como los polímeros naturales y los compuestos bioactivos para su control. Las películas y recubrimientos comestibles de polisacáridos, lípidos y proteínas se han aplicado en frutas y vegetales para controlar diferentes enfermedades y mejorar su calidad y vida de anaquel. Entre los polisacáridos más eficaces, se encuentra el quitosano, debido a sus conocidas propiedades antibacterianas y antifúngicas (Hassan *et al.*, 2018). Por otro lado, diversos compuestos

bioactivos poseen propiedades antimicrobianas, entre ellos, los aceites esenciales, que son altamente efectivos contra diversos microorganismos (Mari *et al.*, 2016). Sin embargo, los aceites esenciales poseen una alta volatilidad lo que disminuye su actividad antimicrobiana (Robledo *et al.*, 2018). De aquí surge el uso de la nanotecnología la cual permite el encapsulamiento de estos compuestos en nanoestructuras que los protegen del ambiente, disminuyendo su volatilidad (Lal *et al.*, 2015). Cubiertas de nanopartículas de quitosano con aceite de tomillo han sido probadas contra la antracnosis en aguacate (Correa-Pacheco *et al.*, 2017). Sin embargo, actualmente, pocos estudios se han llevado a cabo con la finalidad de estudiar el efecto de nanorecubrimientos de quitosano y aceites esenciales sobre la maduración y calidad postcosecha de hortalizas como el jitomate (*Solanum lycopersicum*) y su actividad antibacteriana. Por lo tanto, el objetivo del siguiente trabajo experimental, fue evaluar las variables de calidad y fisiológicas, así como la actividad antibacteriana sobre *P. carotovorum* de nanorecubrimientos de quitosano adicionados con aceite esencial de tomillo en el fruto de jitomate y determinar su efecto sobre la conservación del mismo.

Se empleó el método de nanoprecipitación para preparar las nanopartículas de quitosano con aceite esencial de tomillo (Sotelo-Boyás *et al.*, 2017). Inicialmente, se elaboró una solución acuosa de quitosano (0.05% p/v) (peso molecular medio, grado de desacetilación 75-85%, marca Sigma, Estados Unidos) en ácido acético glacial (2% v/v) (Fermont Chemicals, México), ajustándose el pH a 5.6. Por otra parte, se elaboró una solución de Tween 20 (Hycel, México), aceite esencial de tomillo (5%) (Essential Oils-Essenceflour) y alcohol de caña (96°) (Milab, México). Posteriormente, mediante el uso de una bomba peristáltica (MasterFlex®, Estados Unidos) con la técnica de goteo, se adicionaron

2.5 mL de quitosano en 40 mL de la solución conteniendo el aceite y el alcohol y se dejó en agitación durante 10 min. Finalmente, se concentró la solución a 2 mL, mediante el uso de un rotavapor (Buchi 300®, Suiza). La morfología de las nanopartículas obtenidas, se observó mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) mediante el uso de un microscopio marca JEOL-JEM 2010 con un voltaje de aceleración de 200 kV. El tamaño de las nanopartículas se calculó con el software ImageJ. Se realizaron 6 formulaciones con una solución base de quitosano (1% p/v), glicerol (J.T. Baker, Estados Unidos) y nanopartículas de quitosano y quitosano-aceite esencial de tomillo, variando su concentración en 15, 30 y 45%. Se seleccionaron 10 frutos de jitomate (variedad saladet, procedentes del Estado de Colima), con la finalidad de evaluar las diferentes formulaciones. Inicialmente, los frutos se lavaron con agua corriente y jabón para remover el exceso de tierra. Posteriormente se desinfectaron sumergiéndolos en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 3 min y después se enjuagaron con agua destilada. En condiciones estériles, a cada fruto se le hicieron 8 perforaciones de aproximadamente 3 mm de profundidad aplicándose posteriormente la suspensión bacteriana (10^8). Posteriormente, se sumergieron durante 30 s en las formulaciones respectivas. Los controles consistieron en jitomates inoculados y no inoculados con la bacteria. La bacteria fue proporcionada por el Laboratorio de Bacterias Fitopatógenas de Fitopatología del Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas. Finalmente, los frutos se almacenaron en una cámara de refrigeración a 10 °C por un período de almacenamiento de 7 días a una humedad relativa de 70% para los cuales se evaluaron las variables de calidad: color, firmeza, pH, SST y carotenoides. En cuanto a las variables fisiológicas, se midió la PP y la respiración. Por otra parte, se evaluó la actividad antibacteriana de

los nanorecubrimientos a las 48 h, para la cual los frutos se lavaron después de la aplicación de los nanorecubrimientos e infestación a los 7 días. Para observar las diferencias en el número de UFC, se evaluó un control sin tratamiento y sin inóculo C (-) y un control sin tratamiento e inoculado C (+). Los valores de a, b y L de color se midieron con un colorímetro 9992-995® (Kónica Minolta, Japón) en dos zonas opuestas de la parte media del fruto. A partir de los valores a y b, se calculó el ángulo matiz (Hue°) mediante la fórmula $\tan^{-1}(b/a)$ y la pureza de color (Chroma) con la fórmula $(a^2+b^2)^{0.5}$. La firmeza se midió en ambas caras del fruto mediante el uso de un penetrómetro Fruit Firmness Tester® (Turoni®, Italia). El pH se midió usando un potenciómetro Navih® 51 (Horiba, Japón). La lectura se obtuvo colocando el electrodo en 4 g de jitomate triturado. Para la determinación de los SST se tomó una gota de jugo de jitomate de ambas caras del fruto utilizando una pipeta, colocándose posteriormente dicha gota sobre el sensor de un refractómetro (Atago, Japón). Los carotenoides se determinaron tomando 4 g de jitomate que se maceraron con 5 mL de una solución de hexano/acetona/etanol (50:25:25), la cual se centrifugó posteriormente en una microcentrífuga PRISM® (Labnet, USA) a 6500 rpm por 10 min. Finalmente, el sobrenadante se recuperó y se aforó a 10 mL con hexano. Las determinaciones se llevaron a cabo utilizando un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis (Thermo scientific®, Estados Unidos) a 450 nm, tomando el coeficiente de extinción molar del β caroteno como $2505 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ con la siguiente ecuación: $\text{Carotenoides} = (\text{absorbancia} * \text{volumen de aforo} * 10^6) / (\text{Coeficiente de extinción molar} * \text{peso de la muestra} * 100)$. En cuanto a las variables fisiológicas, para determinar la PP, se utilizó una balanza digital portable scale® (OHAUS, Estados Unidos). Se etiquetaron 10 frutos por tratamiento. La producción de CO_2 (respiración) se cuantificó con la

técnica de espacio-cabeza mediante cromatografía. En un recipiente hermético se colocaron tres jitomates por formulación durante 2 h, posteriormente, se tomaron 5 mL del gas contenido en el espacio de cabeza, el cual se almacenó en tubos vacutainer para posteriormente inyectar 1 mL del gas en un cromatógrafo de gases 789B GC system (Agilent technologies®, Estados Unidos). Para la evaluación de la actividad antibacteriana, cada fruto se lavó con 10 mL de agua desionizada. Del volumen total de tomaron 500 µL y se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo MacConkey por duplicado. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) durante 24 h. Este procedimiento se realizó para 10 jitomates por formulación. Se contó el número de unidades formadoras de colonias (UFC). A los datos obtenidos, se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias de Tukey ($p \leq 0.05$).

Las micrografías de microscopía electrónica de transmisión de las nanopartículas, se muestran en la Figura 1. Se observa una distribución homo-

génea de las mismas, con un tamaño promedio de partícula de 4.17 ± 0.62 nm para las (nanopartículas de quitosano) NPQs y de 6.32 ± 0.75 nm para las de NPTs (nanopartículas de tomillo). Tamaños similares de nanopartículas de quitosano y quitosano con aceite esencial de tomillo ya fueron reportaron por otros autores (Sotelo-Boyás *et al.*, 2017; Correa-Pacheco *et al.*, 2017). Por otra parte, los resultados de las variables de calidad y fisiológicas evaluadas después de 7 días de almacenamiento y de la actividad antibacteriana evaluada luego de 48 h, se presentan en el Cuadro 1. Se observaron diferencias significativas en los valores de luminosidad (L) para las formulaciones ($p < 0.05$). El menor valor (37.07) se observó para los frutos tratados con QS+NPTs (30%) + G y el mayor para los frutos del C (+) con un valor de 40.51. En cuanto al color Hue°, se obtuvieron valores entre 38.80° y 54.45° , para C (+) y QS+NPQs (45%) + G, respectivamente, mostrándose diferencias estadísticas significativas entre las formulaciones ($p < 0.05$). El desarrollo del color chroma varió entre 26.16 y 37.90, para QS+NPTs

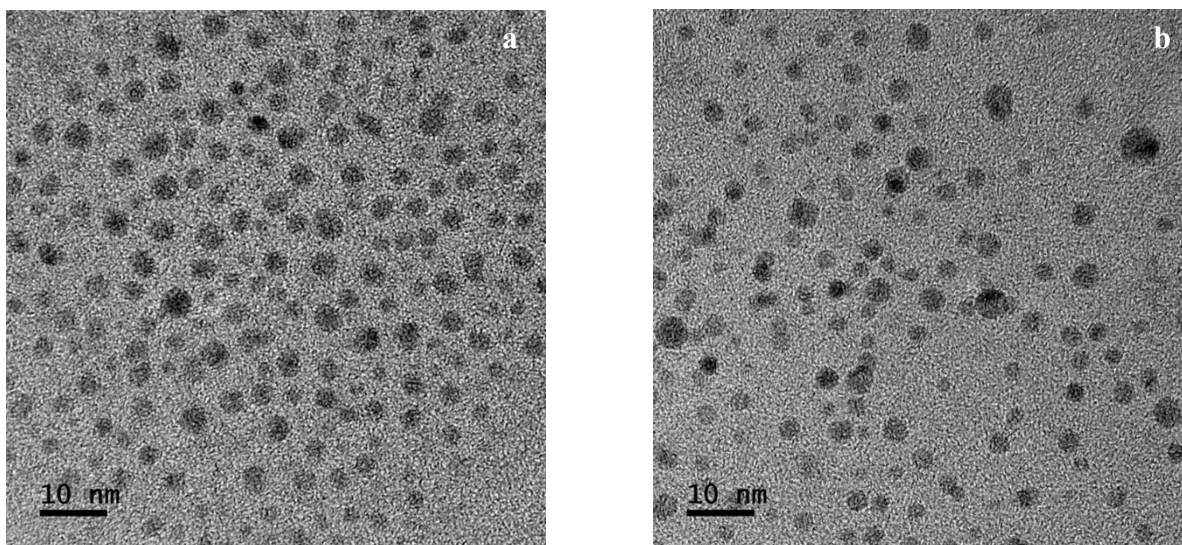


Figura 1. Micrografías de microscopía electrónica de transmisión (TEM) de: a) nanopartículas de quitosano (NPQs) y b) nanopartículas de tomillo (NPTs) (luego de la síntesis).

Cuadro 1. Resultado de la evaluación de las variables de calidad y fisiológicas y actividad antimicrobiana sobre jitomates tratados con los nanorecubrimientos por un periodo de almacenamiento de 7 días a una temperatura de 10 °C y humedad relativa de 70%.

Formulación	L	Hue ^o	Chroma	Firmeza (N)	pH	SST (%)	Carotenoides ($\mu\text{L g}^{-1}$)	PP (%)	CO ₂ (mL kg ⁻¹ h ⁻¹)	UFC
QS+NPQs (15%) + G	38.90 ^{ab}	49.10 ^{bc}	31.59 ^{bc}	24.02 ^{ab}	4.8 ^d	3 ^a	6.37 ^c	0.7 ^a	7.1 ^{bc}	42.25 ^a
QS+NPTs (15%) + G	38.72 ^{ab}	47.99 ^{bc}	29.04 ^{ab}	20.73 ^{ab}	5.1 ^f	4 ^b	2.38 ^a	1.1 ^a	3.1 ^{abc}	69.00 ^a
QS+NPQs (30%) + G	39.38 ^{ab}	48.17 ^{bc}	35.28 ^{cd}	21.55 ^{ab}	4.7 ^c	3 ^a	3.85 ^{bc}	1.2 ^a	6.3 ^{bc}	627.25 ^d
QS+NPTs (30%) + G	37.07 ^a	47.46 ^{bc}	26.16 ^a	22.53 ^{ab}	4.7 ^c	4 ^b	4.13 ^{bc}	0.8 ^a	8.9 ^c	668.25 ^d
QS+NPQs (45%) + G	37.92 ^a	54.45 ^c	29.53 ^{ab}	17.06 ^a	4.4 ^b	4 ^b	5.45 ^d	1.2 ^a	3.8 ^{abc}	294.00 ^c
QS+NPTs (45%) + G	37.92 ^a	47.16 ^b	29.45 ^{ab}	22.24 ^{ab}	4.2 ^a	4 ^b	4.41 ^{bc}	1.0 ^a	7.9 ^{bc}	192.00 ^b
C (-)	38.96 ^{ab}	48.51 ^{bc}	29.55 ^{ab}	18.89 ^a	4.9 ^e	4 ^b	4.62 ^{cd}	1.0 ^a	1.7 ^a	17.75 ^a
C (+)	40.51 ^b	38.80 ^a	37.90 ^d	28.52 ^b	4.7 ^c	5 ^c	3.62 ^b	0.8 ^a	1.9 ^{ab}	NC

Letras diferentes dentro de las columnas indican que las formulaciones son estadísticamente diferentes, usando la comparación de medias de Tukey ($p < 0.05$).

QS = quitosano, NPQs = nanopartículas de quitosano; NPTs = nanopartículas de tomillo; G = glicerol; C (-) = control sin bacteria inoculada; C (+) = control con bacteria inoculada; L= luminosidad; SST = sólidos solubles totales; PP = pérdida de peso; UFC= Unidades Formadoras de Colonias; NC = no contables.

(30%) + G y C (+), respectivamente. Por otra parte, la menor pérdida de firmeza se registró con la formulación QS+NPQs (15%) + G con un valor de 24.02 N y para el control positivo, en contraste con la formulación QS+NPQs (45%) + G en el cual los jitomates presentaron un valor promedio final de 17.06 N. Tanto el pH como los SST, presentaron diferencias estadísticas significativas entre formulaciones. Para el pH, el valor menor (4.2) correspondió a los jitomates de la formulación QS+NPTs (45%) + G y el mayor (5.1) para los de la formulación QS+NPTs (15%) + G. Los valores de SST variaron entre 3-5%, obteniéndose un 3% en los frutos de las formulaciones QS+NPQs (15%) + G y QS+NPQs (30%) + G y un 5% para el C (+). De igual forma, se observaron diferencias significativas en el contenido de carotenoides ($p < 0.05$) durante el período de almacenamiento. El contenido menor de carotenoides correspondió a los frutos de la formulación QS+NPTs (15%) + G y el mayor para QS+NPQs (15%) + G, siendo 2.38 y 6.37 $\mu\text{L g}^{-1}$, respectivamente. En cuanto a la PP, no se observaron diferencias significativas entre las

formulaciones y el control durante el período de almacenamiento, evidenciándose un efecto protector del recubrimiento en la pérdida de peso. Finalmente, de los resultados obtenidos en la respiración (CO₂), se observa que todas las formulaciones tuvieron valores mayores de CO₂ con respecto a los controles C (-) y C (+). Para las formulaciones con NPQs, a medida que aumentó la concentración de nanopartículas (15, 30 y 45%), hubo una disminución de la respiración en el fruto (7.1, 6.3 y 3.8 mL kg⁻¹ h⁻¹), respectivamente.

Relativo a la actividad antibacteriana, se observó que la menor cantidad de UFC correspondió a los frutos del C (-) con 17.75 UFC y a las formulaciones QS+NPQs (15%) + G y QS+NPTs (15%) + G, con valores de 42.25 y 69.00 UFC. Los mayores valores de UFC se obtuvieron para las formulaciones con 30% de nanopartículas (NPQs y NPTs). Las formulaciones con 45% de nanopartículas (NPQs y NPTs) presentaron valores intermedios, encontrándose diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre las formulaciones. En la Figura 2, se observa el efecto del recubrimiento en los controles y en las

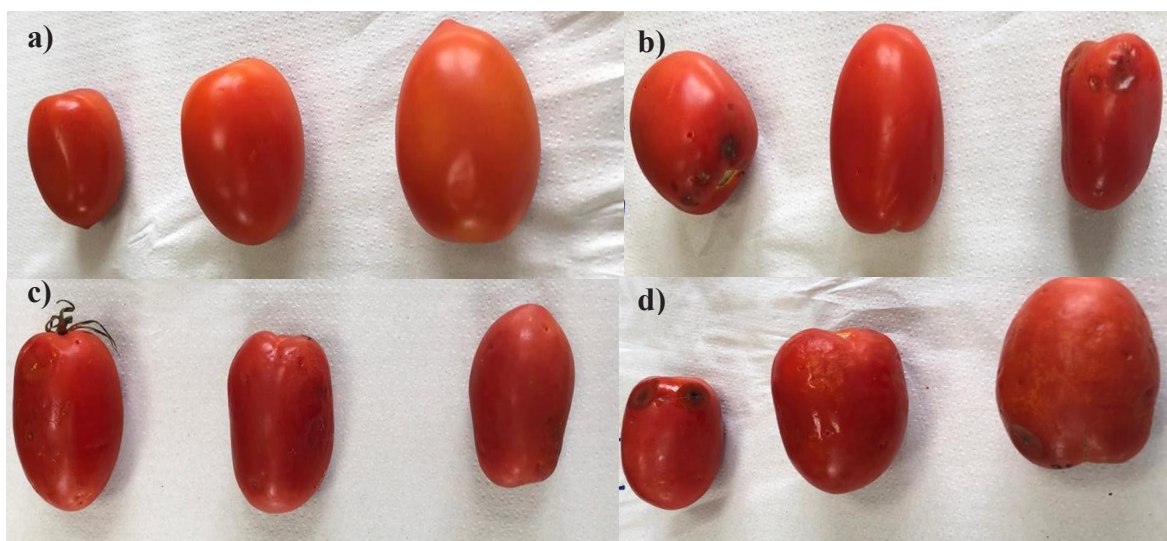


Figura 2. Daño observado en jitomate por la infección de *P. carotovorum* a los 7 días de almacenamiento a una temperatura de 10 °C y humedad relativa de 70% en: a) C (-), b) C (+), c) QS+NPQs (15%) + G y d) QS+NPTs (30%) + G (C = control; QS = quitosano; NPQs = nanopartículas de quitosano; G = glicerol; NPTs = nanopartículas de tomillo).

formulaciones QS+NPQs (15%) + G y QS+NPTs (30%) + G.

Entre las principales funciones de los recubrimientos comestibles, se encuentra la extensión de la vida de anaquel del fruto. Por ejemplo, la pérdida de peso está asociada con la evaporación de agua o deshidratación de la superficie del fruto, siendo el jitomate muy sensible debido a lo delgado de su cutícula. El uso de recubrimientos a base de quitosano ha permitido establecer una barrera al paso de los gases, reduciendo la transferencia de agua y consecuentemente, su evaporación (García *et al.*, 2014). Como se observó en los resultados, no hubo diferencias estadísticas significativas entre las diferentes formulaciones en cuanto a la pérdida de peso. Resultados similares se reportaron en la literatura (Divya *et al.* 2018), donde recubrimientos basados en nanopartículas de quitosano, evitaron la pérdida de peso en berenjena, jitomate y chile, ya que las nanopartículas disminuyeron la permeabilidad al vapor de agua, siendo efectivas como barrera a los gases. Por otra parte, relativo a la

firmeza, resultados similares reportaron García *et al.*, (2014), los cuales mencionan que la disminución de la firmeza se ha asociado a la degradación de la pectina, causando un reblandecimiento del fruto. De los resultados, se puede observar que los jitomates tratados con la mayoría de las formulaciones, tuvieron una firmeza mayor, comparados con C (-) y menor respecto a C (+). En el caso de los frutos de los nanorecubrimientos que sólo contenían NPQs, hubo una disminución de la firmeza con el incremento de la concentración de nanopartículas en la formulación, siendo de 24.02 N para QS+NPQs (15%) + G y de 17.06 N para QS+NPQs (45%) + G. Esta tendencia también la reportó por Gad *et al.*, (2017), obteniendo una firmeza mayor en guayaba, para concentraciones bajas de NPQs en goma Xantán en comparación con las concentraciones más altas de NPQs. En cuanto a los resultados asociados con la respiración para las NPQs, se puede observar, que a una concentración mayor de nanopartículas QS+NPQs (45%) + G, disminuyó la velocidad de respiración del jitomate (3.8 mL kg⁻¹

h⁻¹) en comparación con la menor concentración QS+NPQs (15%) + G (7.1 mL kg⁻¹ h⁻¹) (Ali *et al.*, 2010). Por otra parte, para las NPTs, tanto para la firmeza, como para la respiración, no se obtuvo una tendencia definida.

En trabajos previos (Sotelo-Boyás *et al.*, 2015), se evaluó la actividad antibacteriana *in vitro* de NPQs y NPTs en *P. carotovorum* midiéndose el halo de inhibición (mm), resultando más efectivas las NPTs que las NPQs. En esta investigación, se obtuvo que las concentraciones QS+NPQs (15%) + G y QS+NPQs (30%) + G, tuvieron un mayor efecto inhibitorio comparado con QS+NPTs (15%) + G y QS+NPTs (30%) + G. Por otra parte, para la concentración del 45%, se observó que las QS+NPTs (45%) + G tuvieron un mayor efecto inhibitorio en relación a las QS+NPQs (45%) + G. De la literatura, es bien conocido que tanto el quitosano como el aceite esencial de tomillo poseen actividad antibacteriana (Bautista-Baños *et al.*, 2017). En este estudio, para el tomillo, el mayor efecto inhibitorio se presentó para bajas concentraciones en la formulación QS+NPTs (15%) + G. En general, se observó que para las formulaciones con NPQs, los jitomates tratados con el recubrimiento QS+NPQs (15%) + G, mantuvieron una mayor firmeza y una mayor actividad antibacteriana contra *P. carotovorum*. De igual forma, para las formulaciones con NPTs, la formulación QS+NPTs (15%) + G, tuvo la menor tasa de respiración y presentó la mayor inhibición contra *P. carotovorum*.

LITERATURA CITADA

- Ali A, Maqbool M, Ramachandran S and Alderson P. 2010. Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology* 58: 42-47. <http://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.05.005>
- Bautista-Baños S, Ventura-Aguilar RI, Correa-Pacheco ZN and Corona-Rangel ML. 2017. Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest – a review. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 23(2):103-121. <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.030>
- Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S, Valle-Marquina MA and Henández-López M. 2017. The effect of nanostructured chitosan and chitosan-thyme essential oil coatings on *Colletotrichum gloeosporioides* growth *in vitro* on cv Hass avocado and fruit quality. *Journal of Phytopathology* 165:297-305. <http://dx.doi.org/10.1111/jph.12562>
- Divya K, Smitha V and Jisha MS. 2018. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. *International Journal of Biological Macromolecules* 114:572-577. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.130>
- Gad M and Zag Zog O. 2017. Mixing xanthan gum and chitosan nano particles to form new coating for maintain storage life and quality of Elmamoura guava fruits. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(11):1582-1591. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.611.190>
- García M, Casariego A, Díaz R and Roblejo L. 2014. Effect of edible chitosan/zeolite coating on tomatoes quality during refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 26(3):238-246. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v26i3.16620>
- Hassan B, Ali S, Ijaz A, Mahmood K and Akhtar N. 2018. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 109:1095-1107. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>
- Lal P, Xiang X, Heiden P. 2015. Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. *International Journal of Biological Macromolecules* 77:36-51. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.039>
- Mari M, Bautista-Baños S and Sivakumar D. 2016. Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds. *Postharvest Biology and Technology* 122:70-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.014>
- Robledo N, Vera P, López L, Yazdani-Pedram M, Tapia Ca and Abugoch L. 2018. Thymol nanoemulsions incorporated in quinoa protein/chitosan edible films; antifungal effect in cherry tomatoes. *Food Chemistry* 246:211-219. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.032>
- Sotelo-Boyás ME, Correa-Pacheco ZN, Bautista-Baños S and Corona-Rangel ML. 2017. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens. *LWT - Food Science and Technology* 77:15-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.022>
- Sotelo-Boyás ME, Valverde-Aguilar G, Plascencia-Jatomea M, Correa-Pacheco ZN, Jiménez-Aparicio A, Solorza-Feria J, Barrera-Necha L and Bautista-Baños S. 2015. Caracterización de nanopartículas de quitosano adicionadas con aceites

esenciales. Efecto *in vitro* en *Pectobacterium carotovorum*. Revista Mexicana de Ingeniería Química 14(3):589-599. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_artext&pid=S1665-27382015000300003

Wang C, Deng Z, Xie Z, Chu X, Chang J, Kong D, Li B, Zhang H and Chen L. 2015. Construction of a genome-scale metabolic network of the plant pathogen *Pectobacterium carotovorum* provides new strategies for bactericide discovery. FEBS Letters 589:285-294. <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.010>