

## Obtención de Biopelículas conteniendo Extracto Acuoso de *Eucalyptus camaldulensis* y su Incidencia en la Vida Útil Microbiológica de Rodajas de *Carica papaya* L.

Rafael E. González, Yurleidis Altamar e Ian Castro

Universidad de Cartagena, Piedra de Bolívar - Av Del Consulado, Calle 30 N° 48-157.,  
Cartagena-Colombia. (e-mail: rgonzalezc1@unicartagena.edu.co)

Recibido Mar. 18, 2015; Aceptado May. 29, 2015; Versión final Jul. 24, 2015, Publicado Abr. 2016

---

### Resumen

Se elaboraron biopelículas activas utilizando extracto acuoso del eucalipto rojo (*Eucalyptus camaldulensis*) en forma de microcápsulas como agente antimicrobiano con el fin de aumentar la vida útil microbiológica de rodajas de papaya (*Carica papaya* L). Para la estimación de la vida útil se estudió la cinética de crecimiento de microorganismos indicadores, modelada mediante la ecuación de Baranyi y Robert utilizando el programa DMFit con el fin de obtener los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano. Se determinaron los componentes mayoritarios presentes en los extractos acuosos utilizando cromatografía de gases. Finalmente la ecuación de Monod-Hinshelwood fue utilizada para estimar la vida útil microbiológica. Los resultados indicaron que es posible utilizar las biopelículas activas para la conservación de rodajas de papaya, debido a que se obtuvieron incrementos de 43 días aproximadamente en la vida útil microbiológica de la papaya recubierta con las biopelículas activas.

*Palabras clave:* *Eucalyptus camaldulensis*; *Carica papaya*; vida útil microbiológica; biopelículas activas

## Obtaining Biofilms Containing Aqueous Extract of *Eucalyptus camaldulensis* and its Incidence on the Microbiological Shelf Life of *Carica papaya* Slices

### Abstract

Active biofilms were developed using aqueous extract of red Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) in the form of microcapsules as antimicrobial agent, with the objective of increasing the microbiological shelf life of sliced papaya (*Carica papaya*). To estimate the shelf life, growth kinetics using indicator organisms were modeled using the equation of Baranyi and Robert by means of the DMFit program obtaining the kinetic parameters for microbial growth. Also the main compounds present in the aqueous extracts were determined employing gas chromatography. Finally, Hinshelwood-Monod equation was used to estimate the microbiological shelf life. The results indicated that the active biofilms can be used to preserve papaya slices because increments around 43 days were obtained in the microbiological shelf life of coated papaya.

*Keywords:* *Eucalyptus camaldulensis*; *Carica papaya*; microbiological shelf life; active biofilms

## INTRODUCCIÓN

El eucalipto, es uno de los géneros botánicos exóticos más conocidos y cultivados a nivel mundial, es originario de Australia y pertenece a la familia de las Myrtaceae, se distinguen una gran variedad de especies de crecimiento rápido en el que se cuentan actualmente cerca de 900, especialmente de climas mediterráneos, tropicales o subtropicales (Tyagi y Malik, 2011). El eucalipto rojo nativo (*Eucalyptus camaldulensis*), es actualmente una de las especies de eucalipto de mayor interés para investigaciones científicas acerca de la composición química y propiedades de su extracto como posible sustancia antimicrobiana (Taur et al., 2010). Por lo anterior, es posible utilizar sustancias naturales con capacidad antimicrobiana con el fin de evitar la proliferación de microorganismos perjudiciales en diversos sistemas alimentarios, aumentando así la frescura y conservación de los mismos. Se debe tener en cuenta que algunos de los compuestos con actividad antibacteriana pueden perder su efecto al entrar en contacto con los factores intrínsecos propios de los alimentos. En este sentido, la microencapsulación es una técnica que podría ser utilizada para proteger principios activos sensibles y utilizarlos así en matrices alimentarias. La microencapsulación es una técnica que consiste en englobar un principio activo con el fin de protegerlo de las condiciones ambientales deletéreas y está basada en la liberación del ión calcio desde un complejo insoluble en una solución biopolimérica aniónica, esto se lleva a cabo por acidificación de un sistema aceite-ácido soluble (González et al., 2014)

Por lo mencionado anteriormente, sería interesante utilizar microcápsulas conteniendo compuestos antibacterianos en biopelículas activas, con el fin de liberar gradualmente su contenido en productos alimenticios. Las biopelículas activas surgen como una alternativa al uso de materiales termoplásticos que han sido usados como empaques para la conservación, transporte y almacenamiento de alimentos debido a su estabilidad y resistencia. Sin embargo, los materiales termoplásticos generan problemas ambientales (Del-Valle et al., 2005). Sobre las biopelículas activas se han estudiado las propiedades mecánicas (González et al., 2015a), ópticas y de barrera (Cortes et al., 2014) pero pocas investigaciones se han llevado a cabo sobre su influencia en la vida útil microbiológica de alimentos de cuarta gama.

Los productos alimenticios de cuarta gama o mínimamente procesados han despertado gran interés debido a que conservan mayoritariamente sus propiedades naturales, por lo cual son fácilmente susceptibles de alteración (Robles, 2007). Dentro de este grupo de alimentos se encuentran las frutas como la papaya (*Carica papaya L*), que es un fruto climatérico importante en la fruticultura colombiana con una producción anual estimada en 65 mil toneladas al año (Agronet, 2008), su maduración ocurre rápidamente poco después de la cosecha, caracterizándose por ser una fruta que tiene una vida útil corta al presentar un elevado contenido de humedad (alrededor del 90%) y una textura susceptible a daños mecánicos (Sañudo et al., 2008). La vida útil microbiológica de productos alimentarios puede estimarse apoyándose en de modelos matemáticos como el de Baranyi y Robert (1994) el cual es uno de los modelos estáticos mayormente utilizados en modelamiento bacteriano (Lee et al, 2014) a fin de obtener los parámetros cinéticos que finalmente son empleados en ecuaciones como la de Arrhenius, tan utilizada en la predicción de vida útil fisicoquímica o la ecuación de Monod-Hinshelwood usada con frecuencia para estudiar el crecimiento bacteriano (González 2015b). Según los comercializadores, las mayores pérdidas de la fruta son ocasionadas por mal manejo del fruto, resultando con magulladuras, maltrato, pudrición por antracnosis y otros hongos (15%) y manipulación excesiva (75%) (Miranda et al., 2014). Los supermercados y almacenes de cadena tienen exigencias a la hora de comprar frutas y hortalizas; dentro de tales requerimientos está la aplicación de recubrimientos superficiales, especialmente ceras que reducen la tasa de respiración, la pérdida de agua y mejoran la apariencia, ya que dan brillo a la superficie (Elshiekh y AbuBakr, 2008). Se han realizado estudios de conservación de la papaya asociados al uso de recubrimientos, evaluando diversos parámetros fisicoquímicos (Almeida et al., 2011; Miranda et al., 2014) pero pocos estudios se han desarrollado sobre la vida útil microbiológica utilizando como microorganismos indicadores los hongos y levaduras en rodajas de papaya. La presente investigación, tiene como objetivo estudiar la influencia de biopelículas a base de microcápsulas conteniendo extracto acuoso de *E. camaldulensis* en la vida útil microbiológica de las rodajas de la papaya (*Carica papaya L*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Material vegetal y obtención del extracto acuoso de Eucalipto*

Las rodajas de papaya (2 cm x 2 cm) provinieron de muestras de papaya fueron compradas en un supermercado local teniendo en cuenta el grado de maduración (madurez de 1/2 color amarillo-naranja en 50 % de la cáscara) y sin ningún tipo de daño mecánico o magulladuras. Las hojas de *E. camaldulensis* recolectadas en el corregimiento de Arjona, ubicado al Norte del Departamento de Bolívar (Colombia) a 14°3' latitud Norte y 75°19'40" longitud Oeste. Las hojas se almacenaron en un ambiente seco y oscuro, seleccionando aquellas libres de cualquier agente contaminante. Luego se lavaron con una solución clorada (25 ppm) durante 15 minutos. Posteriormente se realizó un enjuague de las hojas con suficiente agua

destilada estéril para retirar los residuos de hipoclorito; seguidamente se procedió a realizar un triturado, utilizando para ello una licuadora con recipientes de vidrio estériles, en presencia de agua destilada estéril. Subsiguientemente, el triturado fue filtrado en dos etapas, una utilizando gasa y la siguiente, empleando papel de filtro Whatman realizando la filtración tres veces. Finalmente, los extractos fueron esterilizados por medio de filtración por membrana (poro 0.45  $\mu\text{m}$ ). El extracto final se transfirió a viales estériles y se almacenaron a 4°C hasta su utilización.

#### Obtención de las microcápsulas

Las microcápsulas se elaboraron a través del proceso de gelación iónica interna; esta técnica consiste en la formación de una emulsión agua/aceite. La fase acuosa se obtuvo mezclando un volumen del extracto acuoso con alginato (0.5% p/v) y  $\text{CaCO}_3$  (0.3% p/v). Posteriormente esta fase es adicionada en aceite vegetal en una proporción (2:1) extracto-aceite bajo agitación constante, después de 15 minutos, se incorporó ácido cítrico al sistema hasta alcanzar un pH de 4 con el fin obtener las microcápsulas por gelificación del alginato. Finalmente, el aceite es retirado por adsorción y las microcápsulas contenidas en la fase acuosa son centrifugadas con disolución salina utilizando una centrifuga Porta-Spin™PX C826 a 3500 rpm/10 min y almacenadas a 4°C hasta su uso.

#### Perfil cromatográfico del extracto acuoso

El perfil cromatográfico del extracto acuoso de eucalipto se llevó a cabo antes y después del proceso de microencapsulación (previa destrucción de las microcápsulas). 50  $\mu\text{l}$  de cada extracto fue aforado hasta 450  $\mu\text{l}$  con diclorometano; posteriormente se transfirió a un vial para cromatografía de gases de 2 mL. Para el análisis del extracto se utilizó un cromatógrafo de gases – Agilent Technologies 7890A, acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C y un sistema de datos HP Chem Station empleando una columna capilar DB-5MS (J & W Scientific, Folsom, EE.UU.) con fase estacionaria de 5% fenilpolimetilsiloxano (60 m x 0.25 mm, D.I. x 0.25  $\mu\text{m}$ , df) para la separación de las mezclas. Se programó una temperatura en horno desde 45°C (5 min) hasta 150°C (2 min) a razón de 4°C/min.

#### Obtención de biopelículas

La solución utilizada para obtener las biopelículas fue preparada disolviendo alginato (1% p/v), almidón de maíz (1% p/v) y proteína de suero lácteo (1 % p/v) en agua destilada a 80 °C bajo agitación constante durante de 30 minutos, luego glicerol al 20 % (v/v) fue adicionado y se disminuyó la temperatura de la preparación para incorporar posteriormente las microcápsulas elaboradas en el apartado anterior. En seguida la preparación fue vertida en cajas de Petri estériles y sometidas a un proceso de secado a 30 °C durante 48 horas. Finalmente, las biopelículas se aplicaron por presión a las rodajas de papaya y la preparación resultante se almacenó a temperatura ambiente con una humedad relativa del 80%.

#### Estimación de la vida útil microbiológica de rodajas de *C. papaya L*

Las rodajas de papaya fueron divididas en dos lotes. El primer grupo fue recubierto con las biopelículas conteniendo microcápsulas cargadas con el extracto acuoso de *E. camaldulensis*, mientras el segundo grupo fue tomado como muestras control (sin adición de biopelículas). Varias cinéticas de crecimiento microbiano fueron llevadas a cabo para los dos grupos de *C. papaya L*, utilizando como microorganismos indicadores hongos y levaduras, los cuales están directamente correlacionados con la vida útil de este tipo de productos alimentarios. La cuantificación de hongos y levaduras se llevó a cabo por medio de recuento en placa profunda en agar Saboraud. Las cinéticas de crecimiento se realizaron a tres diferentes temperaturas (10, 17 y 27 °C) para posteriormente realizar los cálculos a 4 °C de la vida útil microbiológica. Los datos obtenidos son modelados matemáticamente utilizando la ecuación de Baranyi y Roberts, (1994) (Ver Ecuación 1) por medio del programa de computo DMFit 2.0 con el fin de obtener los parámetros cinéticos de crecimiento.

$$y(t) = y_0 + \mu_{\max} + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-vt} + e^{-h_0} - e^{-vt-h_0}) - \frac{1}{m} \ln \left( 1 + \frac{e^{m\mu_{\max} + \frac{1}{\mu_{\max}} \ln(e^{-vt} + e^{-h_0} - e^{-vt-h_0})}}{e^{m(y_{\max} - y_0)}} \right) \quad (1)$$

Donde  $y(t)$  es la concentración celular o el diámetro de las colonias,  $y_0$  es la concentración o diámetro inicial,  $\mu_{\max}$  es la velocidad específica de crecimiento.  $\left(\frac{1}{h}\right)$ ,  $m$  es un parámetro de curvatura para caracterizar la transición de la fase exponencial,  $v$  es un parámetro de curvatura para caracterizar la transición a la fase exponencial y  $h_0$  es un parámetro adimensional que cuantifica el estado fisiológico inicial de las células. Una vez los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano son obtenidos, se estima la vida útil microbiológica por medio de la ecuación de Monod-Hinshelwood (ecuación 2).

$$ts = \frac{\log N_s - \log N_0}{\log 2} \times T_d \quad (2)$$

Donde  $ts$  es el tiempo necesario para que se desarrolle la alteración en el alimento,  $N_s$  (ufc/g) es el valor correspondiente a la población de seguridad (valor máximo permisible antes de considerarse alterado el producto),  $N_0$  (ufc/g) es el valor correspondiente a la población inicial presente en el producto y  $T_d$  es el tiempo de duplicación de la población alterante específica.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### *Obtención del extracto acuoso y perfil cromatográfico del extracto acuoso*

Los resultados que se obtuvieron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del extracto acuoso de eucalipto rojo, revelan los principales componentes químicos, destacándose la cumarina (H-1-Benzopyran-2-ona, 7-(diethylamino)-4-methyl) con 49.52%, seguido del ácido 2-Propenoico, oxybis (2,1-ethanedioxy-2,1-ethanedioyl) ester, con 14.51%, Bencimidazol (N-Bencil-1H-benzimidazol) con 12.95%, Naftiridina (1,8-Naphthyridine, 3,5-dimethyl) con 2.74%, Fenetil Benzonitrilo (Benzonitril, m-phenetil) con 2.73%, ácido alfa bencilsuccínico (alpha.-Benzylsuccinic acid) con 2.69%, metilfenil-1H-indol (1H-Indole, 5-methyl-2-phenyl) con 2.52%, lo que representa más del 85% del total registrado. De los componentes mencionados anteriormente las Naftiridinas, Cumarinas, bencimidazol y 1H-Indole- 5-methyl-2-phenyl presentan capacidad antimicrobiana.

Luego de llevar a cabo el proceso de microencapsulación del extracto acuoso, únicamente se determinó la presencia del metilfenil-1H-indol (1H-Indole-5-methyl-2-phenyl) en el perfil cromatográfico de las microcápsulas que fueron adicionadas a las biopelículas; por lo cual se atribuye la capacidad antimicrobiana del extracto al 1H-Indole, 5-methyl-2-phenyl; corroborando así lo reportado por Anand et al., (2013) quienes evidenciaron la capacidad antimicrobiana de éste compuesto contra el crecimiento de hongos como *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus terreus*, y *Aspergillus flavus* confirmando de esta manera lo expuesto por Voigt et al., (2011) y Pereira et al., (2014) sobre la capacidad antimicrobiana presente en los extractos acuosos y aceites esenciales elaborados con hojas de árboles de eucalipto.

### *Obtención de las microcápsulas*

El método de microencapsulación utilizado consiste en la formación de una emulsión entre dos fases, una hidrófoba y otra hidrófila; en donde por agitación, se origina una gran cantidad de gotas, las cuales son gelificadas por acidificación con ácido cítrico; ya que se libera el calcio por reacción de sustitución de la sal utilizada ( $\text{CaCO}_3$ ). En este trabajo, fueron obtenidas microcápsulas con alginato con una relación 1:2 agua/aceite, en donde la separación de las fases aplicando una fuerza centrífuga (5000 rpm/10min) puede ser obtenida. Resultados similares fueron reportados por González et al., (2014) quienes elaboraron microcápsulas a base de alginato y gelatina para microencapsular una bacteria probiótica como *Lactobacillus acidophilus*.

### *Obtención de biopelículas*

Las biopelículas obtenidas a base de alginato, almidón de maíz y proteína de suero lácteo fueron visiblemente homogéneas, además permitieron una buena adherencia a la superficie de la fruta, una posible explicación a este comportamiento puede ser atribuido al entrecruzamiento entre las cadenas de alginato, al calcio y demás componentes que conforman la estructura de la biopelícula (Tapia et al., 2008) similar comportamiento igualmente fue reportado por Narsaiah et al., (2015) en recubrimientos de alginato en cortes de papaya. Con respecto a la actividad antimicrobiana de las biopelículas, se apreció un efecto antimicrobiano debido a la disminución del número de microorganismos presentes en las muestras de *C. papaya L*, este efecto es atribuido a los compuestos mencionados previamente, los cuales se encuentran en el extracto acuoso de *E. camaldulensis*.

### *Estimación de la vida útil en rodajas de C. papaya*

La determinación de la vida útil, desde el punto de vista microbiológico se llevó a cabo luego de realizar las cinéticas de crecimiento de hongos y levaduras las cuales fueron modeladas matemáticamente utilizando la ecuación de Baranyi y Roberts, (1994). En las curvas de crecimiento microbiano es posible apreciar las distintas fases que determinan las curvas (fase de adaptación y logarítmica). Igualmente, es importante destacar el efecto de las temperaturas de incubación (10, 17 y 27°C) sobre la fase logarítmica principalmente. Como se muestra en la figura 1 en ambos tratamientos (con y sin biopelícula) se apreciaron diferencias en la fase de adaptación y logarítmica, en esta última se puede apreciar un incremento en la

pendiente al aumentar la temperatura, este comportamiento es típico debido a que esta temperatura se acerca a la óptima de crecimiento de los hongos y levaduras. Igualmente, se observa que los microorganismos presentes en las muestras de *C. papaya L.* recubiertas tienen una fase estacionaria prolongada. Similar comportamiento fue encontrado por González et al., (2015b) cuando biopelículas activas a base de alginato, almidón de maíz conteniendo extracto acuoso de toronjil (*Melissa officinalis L.*) entran en contacto con bacterias aerobias mesófilas creciendo sobre camarón blanco (*Penaeus vannamei*). Aunque generalmente este comportamiento es atribuido al agotamiento de los nutrientes presentes en el substrato, no se debe descartar el mencionado efecto antimicrobiano que ejerce el extracto acuoso de *E. camaldulensis*.

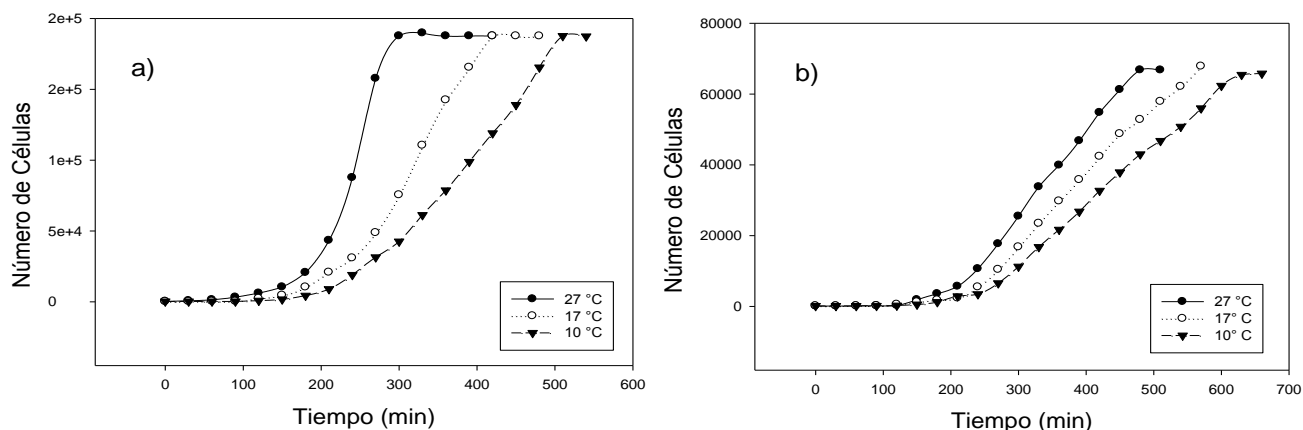


Fig.1: cinéticas de crecimiento a diferentes temperaturas a: sin biopelículas, b: con biopelículas

La vida útil microbiológica de un producto alimenticio se puede estimar obteniendo los parámetros cinéticos de crecimiento microbiano en la fase logarítmica, donde las células bacterianas se encuentran sanas y estables desde un punto de vista fisiológico. La velocidad de crecimiento específica ( $\mu$ ) para cada temperatura corresponde al valor de la pendiente de la recta de la fase logarítmica, mientras que el tiempo de duplicación ( $T_d$ ) es el cociente de  $\ln 2/\mu$ . Posteriormente se grafican los valores de  $T_d$  contra las temperaturas evaluadas, se obtiene la ecuación de la recta de la forma  $Y=mx+b$ ; donde  $x$  equivale al valor de la temperatura a la cual se pretende predecir la vida útil microbiológica ( $4^\circ\text{C}$ ). Finalmente el valor del  $T_d$  final se reemplaza en la ecuación de Monod Hinshelwood con el fin de determinar la vida útil microbiológica final (ver tabla 1).

Tabla 1: vida útil microbiológica estimada para las rodajas de papaya a  $4^\circ\text{C}$

Rodajas de papaya	$T_d$ (h)	Vida útil (días)
Sin biopelícula	81.395	49.956
Con Biopelícula	118.775	93.420

Obteniendo los  $T_d$  es posible predecir el tiempo que tardará la población inicial de microorganismos en alcanzar los niveles tolerables de microorganismos en un alimento que corresponden a  $10^6$  UFC/g (NZFSA, 2005). Se observaron diferencias en los  $T_d$  con respecto a las rodajas de papaya sin recubrir ( $T_d$ : 81.395 h) y aquellas que fueron recubiertas ( $T_d$ : 118.775 h), lo cual se refleja en la vida útil microbiológica para cada una de las muestras, obteniendo valores de 49.956 días y 93.420 días para las rodajas de papaya sin y con biopelículas respectivamente.

## CONCLUSIONES

Es posible incrementar la vida útil microbiológica de las rodajas de *C. papaya L.* utilizando biopelículas a base de alginato, almidón de maíz, proteína de suero lacteo y conteniendo como sustancia antimicrobiana extractos acuosos de *E. camaldulensis* microencapsulados. Es recomendable realizar un estudio más amplio que incluya análisis sensoriales y exámenes fisicoquímicos de la papaya, así como evaluar la cinética de liberación de los compuestos antimicrobianos microencapsulados.

## REFERENCIAS

Agronet, Área cosechada, producción y rendimiento de papaya, 1992-2006. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible desde Internet en: <http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/repparam.asp>. (con acceso 19/07/15) (2008)

- Almeida, C., y otros cuatro autores, Estudio de la conservación de la papaya (*Carica papaya* L.) asociado a la aplicación de películas comestibles, *Rev Ven Cien y Tecnol Alim.* 2 (1), (2011)
- Anand, R. y otros dos autores, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of N-[(5'-Substituted-2'-phenyl-1H-indol-3'-yl)methylene]-5Hdibenzo[b,f]azepine-5-carbohydrazide Derivatives, *J. Chem*, Article ID 530135, (2013)
- Baranyi, J y T. Roberts, *A dynamic approach to predicting bacterial growth in food*, *Int. J. Food Microbiol*, 23, 277–294 (1994)
- Cortés, J. y otros cuatro autores, Evaluación de propiedades mecánicas, ópticas y de barrera en películas activas de almidón de yuca, *Biotechnol Sec Agrop Agroind*, 2 (1), 88-97 (2014)
- Del-Valle, V. y otros tres autores, Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life, *Food Chem*, 91, 751–756 (2005)
- Elshiekh, F. y Abu-Bakr, A, Effect of Harvesting Method on Quality and Storability of Grapefruits., *U. of K. J. Agric. Sci*, 16(1), 1-14 (2008)
- González, R. y otros dos autores, *Efecto de la microencapsulación sobre las propiedades reológicas y fisicoquímicas del yogurt blando*, *Inf. Tecnol*, 25 (6), 45-56 (2014)
- González, R. y otros dos autores, Caracterización viscoelástica de biopelículas obtenidas a base de mezclas binarias, *Inf. Tecnol*, 26 (3), en prensa (2015a)
- González, R. y otros dos autores, Obtención de biopelículas binarias activas y su efecto en la vida útil microbiológica del camarón blanco (*Penaeus vannamei*), *Inf Tecnol*, 26(5), en prensa (2015b)
- Lee, Y. y otros cinco autores, Predictive model for the growth kinetics of *Listeria monocytogenes* in raw pork meat as a function of temperature, *Food Cont*, 44, 16-21(2014)
- Miranda, A. y otros dos autores, Efectos de dos recubrimientos sobre la calidad de la papaya (*Carica papaya*) variedad tainung, *Tem Agra*, 9(1), 7-18 (2014)
- Narsaiah, K. y otros ocho autores, Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.), *Post Biol Technol*, 100, 212–218 (2015)
- NZFSA, *A Guide to Calculating the Shelf Life of Foods: Information Booklet for the Food Industry*. New Zealand Food Safety Authority, P.O. Box 2835, Wellington, New Zealand ISBN 0–478-07865-X. (2005)
- Pereira, V. y otros tres autores, Antibacterial activity and synergistic effects between *Eucalyptus globulus* leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (*Pseudomonas aeruginosa*), *Indust Cr Prod*, 52, 1– 7 (2014)
- Robles, M. y otros cinco autores, Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud, *Interciencia*, 32(4), 227-230 (2007)
- Sañudo, J. y otros cinco autores, Control de maduración en frutos de papayas (*Carica papaya* L.) con 1-metilciclopropeno y 2-acido cloro etilfosfónico, *Rev Fit Mex*, 31(002), 141-147 (2008)
- Tapia, M. y otros cinco autores, Use of alginate and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya, *Food Hydrocol*, 22, 1493–1503 (2008)
- Taur, J. y otros dos autores, Chromatographic evaluation and anthelmintic activity of *Eucalyptus globulus* oil. *Pharmacognosy Res*, 2 (3), 125-126 (2010)
- Tyagi, A. y A. Malik, Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms, *Food Chem*, 126, 228–235 (2011)
- Voigt, F. y otros cuatro autores, *Comparison of several hydroalcoholic extracts from plants with antiseptic/disinfectant ethnographic indication*, *Rev Cubana Plant Med*, 16(3) (2011)