



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**DESARROLLO DE UN ENVASE ACTIVO LIBERADOR
DE ANTIFÚNGICO PARA EL CONTROL DE
ANTRACNOSIS EN CHIRIMOYA**
(*Annona cherimola* Mill.).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

KARLA CINTHIA VALDÉS RODRÍGUEZ

ASESORA: DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ

COASESORA: M. EN C. ALMA ADELA LIRA VARGAS

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. EN C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNANDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos a comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Desarrollo de un envase activo liberador de antifúngico para el control de antracnosis en chirimoya (Annona cherimola Mill.)

Que presenta la pasante: Karla Cinthia Valdés Rodríguez
Con número de cuenta: 306275234 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de Abril de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Juan Manuel Aceves Hernández	
VOCAL	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	Dra. Sara Esther Valdés Martínez	
2do. SUPLENTE	M. en C. María Guadalupe Amaya León	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT: Desarrollo de envases activos para la conservación de productos frescos y mínimamente procesados (IT201513), de la Dirección General de Asuntos del personal Académico de la UNAM.

A decorative scroll with a quill pen resting on it. The scroll is unrolled, showing text in a serif font. The quill is positioned diagonally across the scroll. The background is a light, neutral color.

DEDICATORIA

A MI FAMILIA

*Dedico con todo mi cariño esta tesis
a aquellos seres que han contribuido
en mi formación como ser humano
ya que con su apoyo fueron un
impulso para concluir esta página
importante de mi vida.*

*Porque familia no sólo es la de
sangre, también se integran
quienes crean un lazo
imborrable en nuestro corazón.*



AGRADECIMIENTOS



A Dios por darme la oportunidad de descubrir a lo largo del tiempo las cosas maravillosas que nos provee el Universo y a mi Ángel guardián por ser un guía incondicional en el terreno espiritual.

A mis papas, quienes además de darme la vida me han enseñado su valor todos estos años, gracias por apoyar las decisiones que he tomado ante los retos impuestos y, más aún, gracias por sus aciertos y desaciertos porque todos ellos me permiten crecer día a día. A Margarita, por mostrarme la fortaleza y dedicación propias de una madre y sacrificar tu vida profesional para encaminar nuestra niñez y adolescencia. A Carlos, por procurar que nunca nos faltara nada y por empujarme a descubrir mi potencial desde niña.

A mis hermanos, esas dos personitas que tanto esperé de pequeña. Les agradezco por el simple hecho de existir y por formar un excelente equipo de tres personalidades tan diferentes que han intercambiado infinidad de vivencias. A Alexis, mi hermanito centrado que desde muy niño tuviste la madurez de comprenderme y darme un consejo cuando lo he necesitado. A Omar, mi hermanito rebelde por recordarme a diario que aún la idea más loca se puede llevar a cabo mientras creamos en ella.

A mis abues, mis segundos padres, por convertir en un cuento de hadas mi infancia y acogerme en sus brazos durante las tormentas. A mi abuelito Miguel por ser mi mentor de vida durante mis primeros 17 años y a mi abuelita Elena quien siempre ha representado la dulzura que llena de alegría a la familia.

A mi tío Cesar, por permanecer al pie del cañón y por darme ese empujoncito extra para lograr los objetivos, con esto se cumple mi parte de la promesa. A mi tío Miguel, quien siempre aporta su granito de arena en el nicho familiar y a mis tías Adriana y Bárbara, por entrar en la familia y volverse parte del apoyo. A mis primitos Adrián y Miguel quienes me recuerdan a diario lo sano que es dejar salir nuestro niño interno.

A mis amigas de la prepa, Sandrís, Lau, Marianís y Bere, por todas esas increíbles aventuras que vivimos en aquella etapa trascendental y por conservar aún esa bella amistad después de que la vocación nos llamó a caminar por rumbos diferentes.



AGRADECIMIENTOS



A mis amigos de la Universidad, Estéfany, Aldo, Rosario, Marisol, Rubén y Analí. Gracias por trascender la barrera del compañerismo, por los instantes de diversión y por motivarme cuando la voluntad comenzaba a flaquear, cada uno de ustedes se ha convertido en parte importante de mi vida.

A Anahí, por ser mi confidente y mi mano derecha, por los buenos momentos y situaciones difíciles que nos han servido para madurar. Gracias por mostrarme lo bello de un mundo que no conocía y por enseñarme a mirar otra perspectiva del que creía conocer.

A mis asesoras de tesis, la Dra. Andrea Trejo y Adela por ser el timón en este último suspiro de mi etapa universitaria y, junto con Selene, por formar el mejor taller, un espacio en el que se impulsan los sueños estudiantiles. Son ustedes un gran ejemplo de admiración y respeto.

A mis sinodales, por el tiempo que invirtieron en la revisión de esta investigación ya que cada una de sus sugerencias me permitió ampliar el conocimiento acerca del tema y mejorar la tesis.

A mis compañeros del taller, Marisol, Bety, Ahtziri, Rodrigo, Mauricio y Jhony por ser parte de esta última etapa de la carrera, el compartir con ustedes el proceso de realización de tesis fue una grata experiencia.

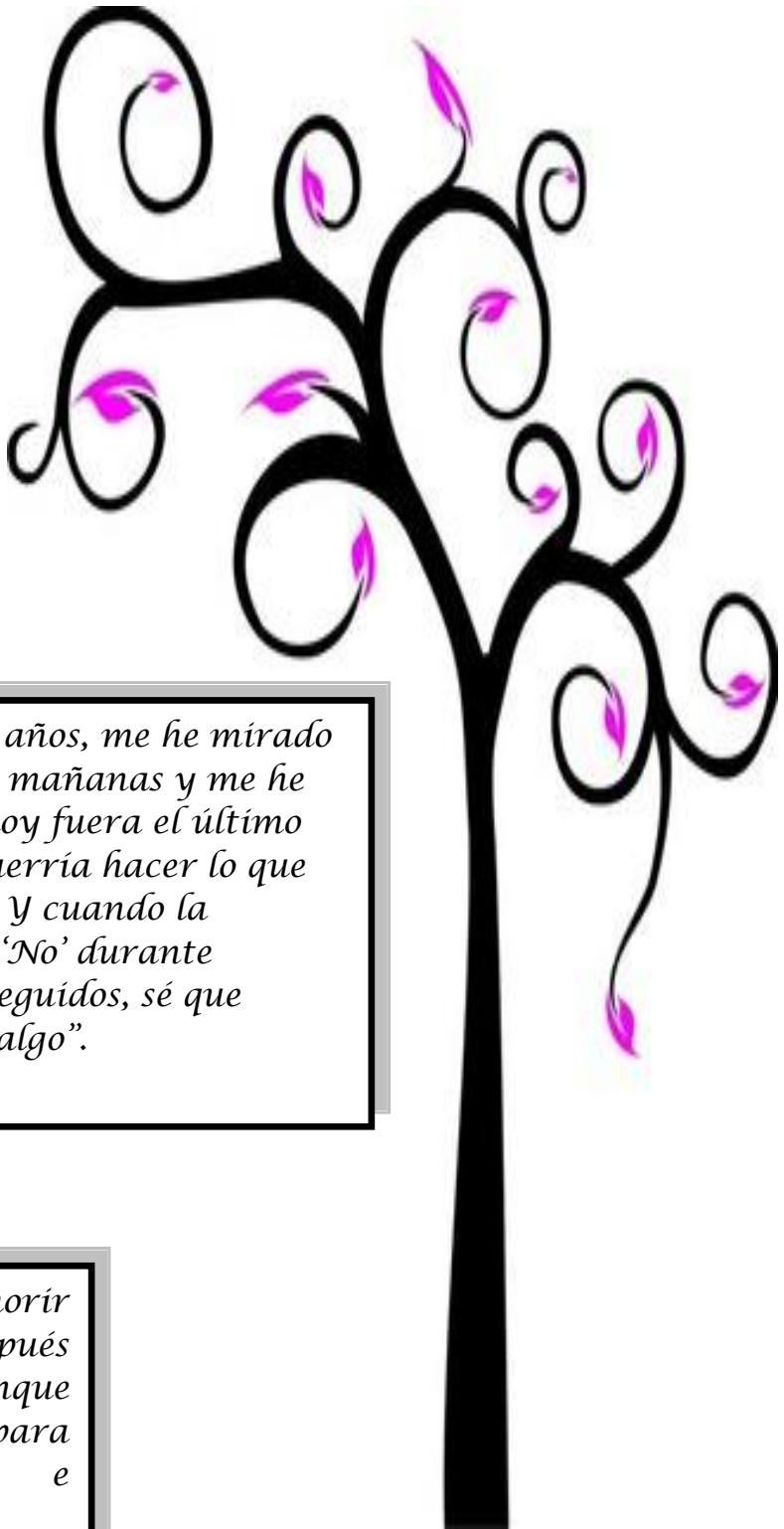
A mis profesores, en especial a la I. A. Laura Cortazar, la Dra. Clara Inés Álvarez, la Dra. Andrea Trejo, el Ing. Antonio Trejo, el Dr. Francisco Montiel y el M. en C. Víctor Ávalos, personas comprometidas que demuestran a diario la verdadera vocación de la enseñanza, gracias a ustedes conocí el valor y responsabilidad que conlleva el hacerse llamar “Ingeniero en Alimentos”

A la UNAM, nuestra Máxima casa de estudios, por ser una plataforma de realización profesional que imparte educación de calidad al alcance de cualquiera que busca ese sueño de superación, gracias por abrirme las puertas.

*“El viaje es lo que nos da la felicidad, no el destino”.
El camino del guerrero*

*“En los últimos 33 años, me he mirado al espejo todas las mañanas y me he preguntado: ‘¿Si hoy fuera el último día de mi vida, querría hacer lo que voy a hacer hoy?’ Y cuando la respuesta ha sido ‘No’ durante demasiados días seguidos, sé que necesito cambiar algo”.
Steve Jobs*

*“En esta vida hay que morir varias veces para después renacer. Y las crisis, aunque atemorizan, nos sirven para cancelar una época e inaugurar otra”.
Eugenio Trías*





ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>iv</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>vi</i>
RESUMEN	<i>vii</i>
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1. Generalidades de la chirimoya	4
2.1.1. Origen	4
2.1.2. Taxonomía y morfología	4
2.1.3. Importancia económica	6
2.1.4. Variedades	7
2.1.5. Composición química y cambios durante la maduración	8
2.1.6. Plagas y enfermedades	10
2.1.6.1. Antracnosis	12
2.1.7. Métodos de conservación	16
2.2. Generalidades de envases activos	17
2.2.1. Definición	17
2.2.2. Clasificación	18
2.3. Generalidades de recubrimientos comestibles	18
2.3.1. Definición y origen	19
2.3.2. Propiedades	19
2.3.3. Componentes de formación	22
2.3.3.1. Matriz	22
➤ Alginatos	23
➤ Mucílago de nopal	24
2.3.3.2. Aditivos	26
2.4. Generalidades de aceites esenciales	27
2.4.1. Definición	28
2.4.2. Plantas utilizadas para la extracción de aceites esenciales.	29



2.4.3. Métodos de extracción	31
3. OBJETIVOS	35
3.1 Objetivo general	35
3.2 Objetivos particulares	35
4. MATERIALES Y MÉTODOS	37
4.1 Cuadro metodológico	37
4.2. Material biológico	38
4.3. Pruebas in-vitro de <i>Colletotrichum g.</i> en aceites esenciales	38
4.3.1. Crecimiento del hongo	38
4.3.2. Extracción de aceites esenciales de Orégano y Hoja Sen.	38
4.3.3. Evaluación de actividad antifúngica de los aceites esenciales.	39
4.4. Elaboración de los recubrimientos y formación de las películas comestibles.	39
4.4.1 Caracterización de la película	40
4.4.1.1. Propiedades físicas	40
4.4.1.2. Propiedades de barrera	41
4.5. Prueba <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum g.</i> en prototipos de envases activos	43
4.5.1. Crecimiento del hongo	43
4.5.2 Crecimiento del moho en medio adicionado con el prototipo	43
4.6. Evaluación del efecto de la aplicación de los envases activos en la calidad de chirimoyas	43
4.6.1. Tratamiento de la muestra	43
4.6.2. Pruebas <i>in vivo</i>	44
4.6.2.1. Preparación del inóculo	44
4.6.2.2. Inoculación de chirimoyas	44
4.6.2.3. Aplicación de tratamientos en chirimoyas	44
4.6.2.4. Técnicas analíticas	45
4.6.3. Pruebas de calidad	46
4.6.3.1. Aplicación de tratamientos en chirimoyas	46
4.6.3.2. Técnicas analíticas	46



4.7. Análisis estadístico	48
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
5.1. Evaluación de la actividad antifúngica de los aceites esenciales.	50
5.2. Caracterización de películas comestibles	53
5.2.1. Propiedades físicas	53
5.2.1.1. Color	53
5.2.1.2. Transparencia	57
5.2.1.3. Espesor	58
5.2.2. Propiedad de barrera	60
5.2.2.1. Permeabilidad a vapor de agua (PVA)	60
5.3. Evaluación de la actividad antifúngica de los prototipos de envases activos.	61
5.4. Evaluación del efecto de la aplicación de tratamientos en la vida útil de las chirimoyas	68
5.4.1. Pruebas de calidad	68
5.4.1.1. Pérdida de peso	68
5.4.1.2. Color	71
5.4.1.3. Firmeza	74
5.4.1.4. Sólidos solubles totales	76
5.4.1.5. Acidez titulable y pH	78
5.4.2. Prueba <i>in vivo</i>	80
5.4.2.1. Índice de deterioro (ID)	80
6. CONCLUSIONES	88
7. RECOMENDACIONES	91
8. REFERENCIAS	93



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Botella asa fitomorfa de cerámica:chirimoya, 900-700 a.C.	4
2. Producción estatal de chirimoya en el año 2012 (Ton.).	7
3. Plagas que atacan a la chirimoya.	11
4. Morfología del moho <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	13
5. Eventos entre el patógeno y el hospedero dentro de la infección quiescente por <i>C. gloeosporioides</i> .	14
6. Ciclo de vida de la antracnosis causada por <i>Glomerella cingulata</i> y <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	15
7. Monómeros del ácido algínico	23
8. Bloques poliméricos del ácido algínico	24
9. Estructura química del mucílago de nopal.	25
10. Compuestos bioactivos del aceite esencial de Orégano	31
11. Hidrodestilación de aceites esenciales de Hoja Sen y Orégano	39
12. Colorímetro Minolta CR-300	40
13. Espectrofotómetro GENESYS 10 UV-Visible	41
14. Micrómetro digital Mitutuyo IP65	41
15. Diagrama de bloques del tratamiento de la muestra.	45
16. Refractómetro manual ATAGO 2011	46
17. Potenciómetro pHep1	47
18. Penetrómetro Tr, FT327	47
19. Efecto inhibitorio sobre el crecimiento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> durante prueba in vitro con aceites esenciales de Orégano y Hoja Sen a 1000, 2000 y 3000 ppm	50
20. Luminosidad de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1)	54
21. Croma de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%)	55
22. Tono de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%)	56
23. Transmitancia de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%)	58
24. Espesor de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%)	59



25. Permeabilidad a vapor de agua de películas comestibles con base en alginato de sodio (A) y mucílago de nopal (M) a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%)	60
26. Efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> durante prueba <i>in vitro</i> con prototipos de envases activos	66
27. Porcentaje de pérdida de peso de chirimoyas almacenadas en refrigeración	69
28. Cambios en la luminosidad de chirimoyas almacenadas en refrigeración	71
29. Cambios en el Tono (°Hue) de chirimoyas almacenadas en refrigeración	72
30. Cambios en el Cromo de chirimoyas almacenadas en refrigeración	73
31. Cambios en la Firmeza de chirimoyas almacenadas en refrigeración	75
32. Sólidos solubles totales (°Bx) de chirimoyas durante pruebas de calidad en almacenamiento refrigerado	76
33. Cambios en la Acidez titulable de chirimoyas almacenadas en refrigeración	78
34. Cambios en el pH de chirimoyas durante pruebas de calidad en almacenamiento refrigerado	79
35. Índice de deterioro de chirimoyas infectadas durante prueba <i>in vivo</i> en almacenamiento refrigerado	85



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Clasificación taxonómica de la chirimoya	5
2. Partes de la planta del chirimoyo	5
3. Variedades del fruto de chirimoya	8
4. Composición química de la chirimoya	9
5. Principales enfermedades que atacan a la chirimoya	11
6. Clasificación taxonómica del agente causal de la antracnosis	13
7. Tratamientos poscosecha aplicados a chirimoya	16
8. Clasificación de los envases activos	18
9. Características de películas y recubrimientos comestibles	20
10. Propiedades de las películas y recubrimientos comestibles	21
11. Clasificación y propiedades de las matrices formadoras de películas y recubrimientos comestibles	22
12. Clasificación de aditivos	26
13. Aplicación de recubrimientos comestibles a frutos	27
14. Plantas utilizadas para aceites esenciales	29
15. Métodos de extracción de aceites esenciales	32
16. Formulaciones de prototipos de envases activos evaluados en pruebas <i>in vitro</i>	43
17. Formulaciones de tratamientos aplicados en chirimoyas	44
18. Evolución de crecimiento del moho <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> durante la prueba <i>in vitro</i> con aceites esenciales de hoja Sen y Orégano	52
19. Evolución de crecimiento del moho <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> durante la prueba <i>in vitro</i> con envases activos	63
20. Cambios de la epidermis durante la maduración de chirimoyas en almacenamiento refrigerado	81
21. Cambios de la pulpa durante la maduración de las chirimoyas en almacenamiento refrigerado	84



RESUMEN

El objetivo de este estudio fue desarrollar un envase activo liberador de agente antifúngico con base en mucílago de nopal o alginato de sodio adicionado con aceite esencial de Orégano u Hoja Sen que controle antracnosis y que permita alargar la vida útil de chirimoya.

Para las pruebas *in vitro* con aceite esencial a 1000, 2000 y 3000 ppm se utilizó el método de difusión en agar. Los aceites esenciales (AE) estudiados fueron extraídos de dos plantas (Orégano y Hoja Sen) del desierto mexicano por hidrodestilación.

Se evaluaron las propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad a vapor de agua) a películas comestibles de mucílago de nopal o alginato de sodio a tres concentraciones (0.5, 0.75 y 1%), adicionadas con 0.5% de glicerol y tween 80. Además se realizaron las pruebas *in vitro* de los prototipos de envases activos mediante la adición de las matrices a 0.75 y 0.1%, y los aceites esenciales de Orégano y Hoja Sen a 1000 y 3000 ppm, respectivamente.

Finalmente, se realizaron pruebas de calidad e *in vivo* a chirimoyas en estado de madurez fisiológica, la inoculación de los frutos se realizó con una solución de esporas (9×10^5 esporas/mL) de *Colletotrichum gloeosporioides* por el método de frotación y después de 24 h fueron aplicados los tratamientos seleccionados de las pruebas anteriores para evaluar su efecto sobre la vida útil de los frutos.

El efecto antifúngico del AE de orégano manifestó una inhibición completa del hongo desde la concentración más baja (1000ppm), mientras que el AE de Hoja Sén presentó una menor inhibición micelial, siendo la concentración más alta de 3000 ppm la que más se aproximó al efecto exhibido por el AE de Orégano.

Las películas elaboradas con la matriz de alginato de sodio mostraron una mayor luminosidad, croma, tono, un espesor similar, y menor permeabilidad a vapor de agua con respecto a las formulaciones de mucílago de nopal.

Además, en las pruebas *in vitro* de los prototipos de envases activos todos mostraron actividad antifúngica; sin embargo, los prototipos adicionados de AE de



Orégano con cualquiera de las dos matrices exhibieron la mayor inhibición de crecimiento micelial.

Finalmente, en las pruebas *in vivo* realizadas a las chirimoyas infectadas de manera previa a la aplicación de los envases activos se observó una disminución en el índice de deterioro en comparación con los frutos sin tratamiento. En las pruebas de calidad para los frutos con envase activo, mantuvieron una menor pérdida de peso, el menor deterioro del parámetro de color, y no se observó efecto en el cambio de pH y acidez con respecto a las chirimoyas sin envase activo.



1. INTRODUCCIÓN

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) es una fruta andina que está ganando importantes mercados en el mundo, autores de Latinoamérica la señalan como una de las frutas tropicales más finas (Cerdas *et al.*, 2007; Rivas, 2010).

Actualmente, España es el mayor productor de chirimoya en el mundo. Otros países importantes en su producción son: Perú, Chile, Bolivia, Ecuador y México. Sin embargo, comparado con otras especies frutales, comercialmente la chirimoya es un cultivo de menor importancia en estos países (Biodiversity International y CHERLA, 2008).

En México la chirimoya se distribuye principalmente en los estados de Morelos, Hidalgo y Michoacán, cuya producción nacional en el 2012 llegó a las 496.4 ton. La importancia de este cultivo radica en su alto valor comercial, ya que existe un gran potencial para ser exportado (Rivas, 2010). Sin embargo, es un fruto climatérico de difícil manejo y muy sensible a daños mecánicos y físicos causados por plagas y enfermedades como la antracnosis. Para combatir estos problemas se han aplicado bajas temperaturas, efecto del 1-metilciclopropeno, atmósferas modificadas y controladas en el almacenamiento de la chirimoya, algunos de estos métodos pueden provocar desórdenes fisiológicos que afectan la calidad del fruto (Li *et al.*, 2009; Maldonado *et al.*, 2004; Montero *et al.*, 1995;).

Una alternativa muy prometedora para la conservación de los frutos es el empleo de envases activos, definidos como el sistema alimento-envase-entorno que actúa de forma coordinada para mejorar la inocuidad y la calidad del alimento envasado y aumentar su vida útil. Estos están formados por recubrimientos comestibles, estructurados alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en soluciones conformadas por polisacáridos, proteínas o lípidos, y un amplio rango de aditivos, incluyendo compuestos antimicrobianos (Avendaño, 2009; Figueroa *et al.*, 2011).

El mucílago de nopal es un carbohidrato complejo que puede representar una excelente opción para el desarrollo de recubrimientos comestibles en países como México, donde el nopal es altamente producido a bajo costo, así mismo, los cladodios de esta planta resultan un producto de desecho después de la poda que



podrían ser aprovechados para la extracción del mucílago. Este hidrocoloide ha sido objeto de numerosos estudios para su aplicación en la industria alimentaria ya que modifica la viscosidad, elasticidad, retención de agua y tiene un alto poder gelificante y emulsificante (Abraján, 2008; Espino *et al.*, 2010; Sepúlveda *et al.*, 2007;).

Por otro lado, el alginato de sodio, uno de los principales componentes estructurales de la pared celular de las algas cafés, es conocido como un biopolímero hidrofílico que cumple la función de recubrimiento debido a sus propiedades coloidales únicas que incluyen su uso como espesante, estabilizador de emulsiones, formador de suspensiones y de geles. Además este hidrocoloide está incluido en la lista de aditivos alimenticios que son reconocidos como inocuos y seguros según la FDA y el Codex Alimentarius, por tal motivo es muy utilizado actualmente en diversas aplicaciones (Valero *et al.*, 2012; Yabur, 2005).

Entre los aditivos naturales se encuentran los aceites esenciales los cuales presentan inhibición contra hongos y bacterias, ya que se ha evaluado la actividad fungicida *in vitro* de monoterpenos comúnmente encontrados en estos sobre *Rhizoctonia solani*, los cuales inhiben el 100% el crecimiento del hongo a diferentes concentraciones (Cueto, 2008; Ramos, 2010).

Por ende el objetivo de esta investigación se enfoca en el desarrollo de un envase activo liberador de agente antifúngico a base de mucílago de nopal o alginato de sodio adicionado con aceite esencial de Orégano u Hoja Sen que controle antracnosis y que permita alargar la vida útil de chirimoya.

ANTECEDENTES





2.- ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la chirimoya

2.1.1 Origen

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) es una fruta nativa de las regiones altoandinas de Ecuador y Perú que poco a poco va ganando mercados en el mundo. Existe evidencia arqueológica de su existencia en las culturas pre-incas de *A. Muricata* y de *A. Cherimola*, la cual consiste en datos lingüísticos, restos botánicos de dichas plantas y representaciones en cerámica de sus frutos (Figura 1) (Morales *et al.*, 2006; Rivas, 2010).



Figura 1. Botella asa fitomorfa de cerámica:chirimoya, 900-700 a.C.
Fuente: Museo chileno de arte precolombino (2013).

El origen del nombre proviene del quechua *chirimuya*, que significa “semillas frías”, ya que germina en elevadas altitudes (Samaniego, 2009). Sin embargo, ha sido difícil por la abundancia de chirimoyas en muchos países de Centro y Sudamérica, fijar con exactitud el lugar de procedencia de esta especie y siempre se ha señalado que es originaria de América del sur, pero en los últimos años hay investigadores europeos que ubican su origen en Mesoamérica (de México a Panamá) (Cerdas *et al.*, 2007).

2.1.2. Taxonomía y morfología

El número de género y especies en la familia *Annonaceae* es aún debatido. Sin embargo, de todas ellas, un limitado número de especies produce frutos



comestibles como es el caso del chirimoyo, su clasificación taxonómica se presenta en la Tabla 1 (Pinto *et al.*, 2005).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la chirimoya

Reino:	<i>Vegetal</i>
División:	<i>Antofitas</i>
Subdivisión:	<i>Angiosperma</i>
Clase:	<i>Dicotiledóneas</i>
Subclase:	<i>Coripétalas</i>
Familia:	<i>Annonaceae</i>
Género:	<i>Annona</i>
Especie:	<i>Annona Cherimola Mill.</i>

Fuente: Toro (2009).

El chirimoyo es la especie más representativa de la familia *Annonaceae*, esta planta tiene particularidades que la diferencian de las demás especies de la familia, dichas características propias del fruto se muestran en la Tabla 2 (Pinto *et al.*, 2005).

Tabla 2. Partes de la planta del chirimoyo.






Partes	Descripción
<p>Semillas</p> 	<p>Las semillas son escasas y de color variable: negro y café oscuro o claro, las cuales tienen 1.5 a 2 cm de largo y aproximadamente 1 cm de ancho.</p>
<p>Árbol</p> 	<p>Árbol erecto de poco desarrollo, de aspecto arbustivo y extendido; mide de 5 a 9 m de altura y sus ramas están densamente cubiertas de vellos. Presenta ramificaciones bajas formando “faldones” y las ramas jóvenes están cubiertas de un fieltro de pelos grisáceos. Su desarrollo se produce a los 4 ó 5 años si no ha sido injertado.</p>



Tabla 2. Partes de la planta del chirimoyo (Continuación).	
Partes	Descripción
<p>Fruto</p> 	<p>Conjunto carnosos (sincarpo) de forma primitiva con carpelos dispuestos en espiral que se unen después de la fructificación. Cada segmento de carne contiene una semilla. Cónico o en forma de corazón, alcanza entre 10 y 25 cm de longitud, 15 cm de anchura, pesa entre 250 a 800 g, la pulpa es blanquecina, cremosa, azucarada, ligeramente ácida, con fuerte aroma, delicada y muy digestiva. Cuando alcanza la madurez se torna de un color verde pálido a cremoso y cuando está demasiado maduro la piel adquiere un tono marrón oscuro o negro.</p>
<p>Hojas</p> 	<p>Son alternas, ovaladas a elípticas de 8 a 14 cm de largo y 4 a 8 cm de ancho, de color verde oscuro en el as y con pubescencia muy suave en el envés, las hojas se renuevan una vez al año. El peciolo de la hoja es corto y hueco en la parte de inserción con el tallo y oculta y protege las yemas que darán origen al próximo brote.</p>
<p>Flores</p> 	<p>Son blancas, cremas o amarillo verdosas, muy aromáticas, solitarias y conformadas por tres pétalos externos de 1 a 3 cm de largo que albergan en su interior pétalos rudimentarios; las flores aparecen entre los 2 a 3 años de siembra en las condiciones de la región. Las flores pueden presentarse solitarias o en grupos de 2 a 3. Es hermafrodita con una marcada dicogamia protogínica (maduración en primera fase de órganos femeninos con la maduración posterior de los órganos masculinos) para evitar la autopolinización.</p>

Fuente: Agronline (2012); FAO (2006); Galiano (2009); León (2000); Rivas (2010); Toro (2009); Pinto *et al.* (2005).

2.1.3. Importancia económica

Actualmente, el chirimoyo está presente en sitios naturales o en huertos semi-domesticados en los valles interandinos del Ecuador, Perú y Bolivia. Sin embargo, España es el mayor productor de chirimoyo en el mundo. Otros países importantes



en producción del chirimoyo son: Perú, Chile, Bolivia, Ecuador , México y Estados Unidos. Sin embargo, comparado con otras especies frutales, comercialmente el chirimoyo es un cultivo de menor importancia en esos países (Biodiversity International y CHERLA, 2008).

Además, el potencial económico de la diversidad de chirimoyo está infravalorado debido a la reducida vida útil (alrededor de 14 días) y a las pérdidas en el rendimiento causadas por plagas, alta sensibilidad a magulladuras y producción en áreas poco accesibles, caracterizadas por una infraestructura limitada de transporte, riego y almacenamiento (Biodiversity International y CHERLA, 2008).

En México la chirimoya se distribuye en los estados de Hidalgo, Morelia y Morelos, su producción por estado en el año 2012 se muestra en la Figura 2.

La importancia de este cultivo radica en su alto valor comercial, ya que existe un gran potencial para ser exportado a Estados Unidos, Japón y Europa. Por sus excelentes características organolépticas, se considera la mejor fruta dentro de las anonáceas (Rivas,2010).

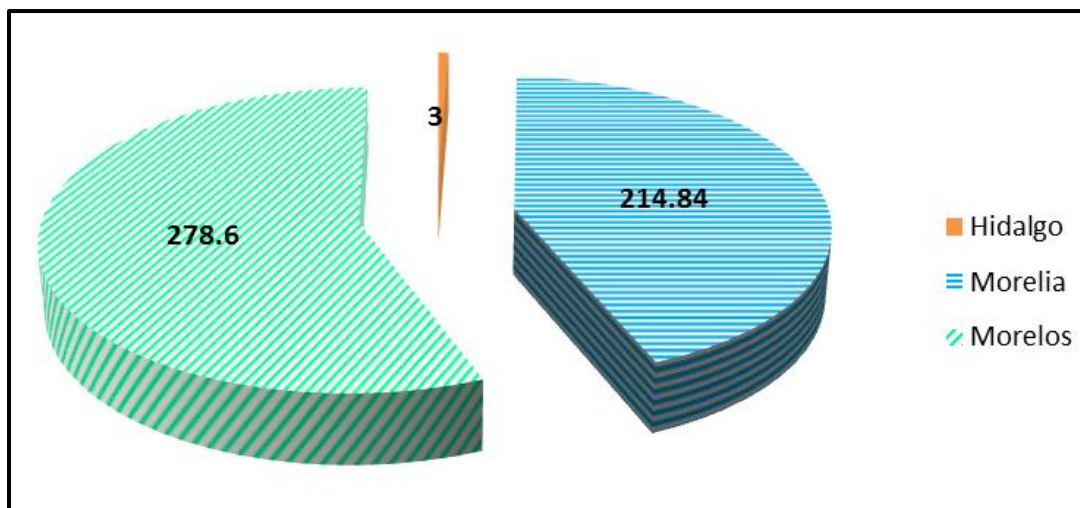
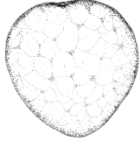
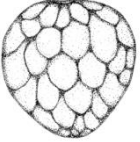
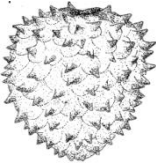

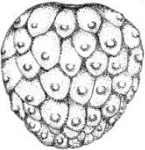


Figura 2. Producción estatal de chirimoya en el año 2012 (Ton.).
Fuente: SIAP-SAGARPA (2013).

2.1.4 Variedades

Se conocen numerosas formas de chirimoya, la mayoría seleccionadas en regiones templadas. La forma de los carpelos en su exterior constituye un carácter que permite reconocer los cultivares, de esta manera se conocen cinco formas principales que se muestran en la Tabla 3 (Rivas, 2010).



Tabla 3. Variedades del fruto de chirimoya	
<p>Laevis (Lisa)</p> 	<p>El fruto tiene la piel lisa, ya que los bordes de los carpelos quedan fundidos y son poco aparentes. Es uno de los tipos más finos de chirimoya, de más fácil transporte por la ausencia de protuberancias sensibles a los golpes.</p>
<p>Impresa (Depresiones suaves)</p> 	<p>Forma cónica; la corteza es tersa y presenta depresiones suaves en la piel, semejando a la impresión de los dedos de una mano. La pulpa es dulce y muy jugosa.</p>
<p>Tuberculada (Protuberancias medianas)</p> 	<p>Son frutos que poseen una cubierta fuertemente reticulada, y cuando pequeños, protuberancias marcadas, las que se atenúan al madurar, adquiriendo una forma más o menos redondeada o globosa. La corteza es de color verde oscuro y de maduración tardía.</p>
<p>Marmillada (Protuberancias largas)</p> 	<p>Es similar a la anterior, se diferencia en que las protuberancias son más largas y suavemente cónicas. Es de buen tamaño, aromática y con bajo contenido de semillas.</p>
<p>Umbonada (Protuberancias pequeñas)</p> 	<p>Frutos con la piel reticulada, numerosos carpelos y protuberancias aguzadas. Su tamaño es medio con una forma semejante a una piña y baja resistencia al transporte.</p>

Fuente: Rivas (2010); Galiano (2009).

2.1.5. Composición química y cambios durante la maduración.

En cuanto a la composición nutrimental del fruto (Tabla 4), destaca el elevado contenido de agua y carbohidratos. El contenido de agua de las frutas depende de la que haya tenido disponible el tejido al efectuarse la cosecha, y los carbohidratos predominantes son la glucosa y la fructosa. Tiene un bajo contenido de grasas, pero dado su alto contenido de azúcares, su valor calórico es de moderado y alto. Este contenido energético permite al fruto su inclusión en dietas donde el aporte energético deba ser alto como en periodos de crecimiento y desarrollo, población



físicamente activa y personas convalecientes. El porcentaje de proteínas se reporta como el más alto entre las anonas comercialmente importantes (Pinto, 2005; Rivas, 2010).

Respecto a otros nutrientes, destaca su contenido de calcio, hierro, potasio, vitamina C, tiamina, riboflavina y niacina. Por un lado, las vitaminas del grupo B son necesarias para el metabolismo de los carbohidratos; y minerales como el potasio son necesarios para la transmisión y generación del impulso nervioso, la actividad muscular normal e intervienen en el equilibrio del agua en la célula (Pinto, 2005; Rivas, 2010; Samaniego, 2009).

Tabla 4. Composición química de la chirimoya por cada 100g.	
Componente	
Humedad	75.7g
Carbohidratos	22 g
Fibra	1.8 g
Proteínas	1.0 g
Cenizas	1.0 g
Grasas	0.1 g
Fósforo	47 mg
Calcio	24 mg
Hierro	0.4 mg
Vitamina A	0.01 UI
Tiamina	0.06 mg
Riboflavina	0.14 mg
Niacina	0.75 mg
Ácido ascórbico	4.3 mg
Potasio	264 mg
Magnesio	18 mg
Ácido fólico	14 mcg
Calorías	81

Fuente: Adaptación de Besana Portal Agrario (2008) y Eroski (2008).

Como en la mayoría de los frutos climatéricos, en la chirimoya el carbono está almacenado en su mayor parte en forma de almidón en los amiloplastos. El



contenido de almidón de la chirimoya oscila entre un 10-12% del peso total y durante el proceso de maduración a 22°C se produce su degradación, de forma similar a lo observado en otros frutos. Después de 6 días a 22°C en las células de mesocarpio casi todo el almidón se ha hidrolizado y como consecuencia se produce la acumulación de glucosa y fructosa, es en este momento cuando el fruto del chirimoyo alcanza la calidad óptima para su consumo. La acumulación de mono y disacáridos como consecuencia de la hidrólisis del almidón produce un aumento del contenido de sólidos solubles totales (SST), aunque existen diferencias entre variedades, alcanza un valor de entre 18-24 °Bx (Sevillano, 2007).

Durante la maduración de la chirimoya, al igual que en otros frutos tropicales y subtropicales, se produce una disminución acentuada del pH del mesocarpio como consecuencia de la generación y acumulación de diferentes ácidos orgánicos. El ácido orgánico mayoritario responsable del aumento de acidez no ha sido identificado en chirimoya. Se conoce que en *Annona atemoya* es el ácido málico. Otro ácidos orgánicos que pueden contribuir en la disminución del pH son el ácido cítrico y el ácido ascórbico, ya que han sido determinados en otras especies de Anonas (Sevillano, 2007).

2.1.6. Plagas y enfermedades

Las labores previas y posteriores a la cosecha son determinantes, ya que la fruta es expuesta a varios factores que pueden ocasionar diferentes daños (golpes, heridas, exceso de manipuleo, deshidratación) hasta que el fruto llega a los anaqueles de los supermercados, lo que afecta su apariencia y puede convertirse en puerta de entrada a plagas y microorganismos que producen pudriciones. En consecuencia, toda labor que se realice en la plantación de anona, tanto antes como durante la fructificación (formación del fruto), tiene como fin reducir las pérdidas de los frutos y obtener la mejor calidad de éstos (Cerdas, 2007).

Dentro de las plagas que atacan a la chirimoya, la mosca de la fruta (*Ceratitis capitata*) es una de las más trascendentes (Figura 3). Las hembras adultas ovopositan 1 ó 2 mm por debajo del pericarpio. Las larvas al alimentarse de la pulpa de los frutos originan su caída. Afecta sobre todo en plantación de piel fina, acelerando el proceso de maduración de la fruta. Otras plagas importantes son



Optatus sp, *Cerconota anonella*, *Cydia sp* *Tecla ortignus* (Castro, 2007; Samaniego, 2009).

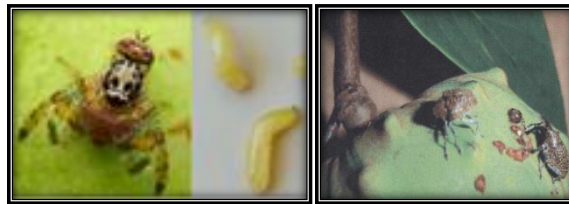


Figura 3. Plagas que atacan a la chirimoya. a) *Ceratitits capitata*, b) *Optatus* sp.

Por otro lado, se han observado diferentes enfermedades que afectan principalmente el follaje y el fruto, las cuales se describen en la Tabla 5.






Tabla 5. Principales enfermedades que atacan a la chirimoya.		
Enfermedad	Síntoma	Control
<p>Antracnosis <i>Colletotrichum gloeosporioides</i></p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Pequeñas manchas hundidas, necróticas, irregulares, de color marrón oscuro. • Formación de micelios de color rosado. • En avanzado estado de antracnosis se presentan fisuras que penetran la pulpa. • Puntos negros formando círculos concéntricos en las lesiones. 	<ul style="list-style-type: none"> • No dejar residuos dentro de la plantación ni colocar frutas cosechadas directamente en suelo. • No dejar frutos dañados adheridos a árboles, recolectarlos del suelo para quemarlos o aislarlos de la plantación donde se aplica un fungicida (captan). El material se cubre con plástico 30 días. • Realizar poda de saneamiento en floración y fructificación.
<p>Mancha gris <i>Phomopsis anonacearum</i></p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Se introduce por heridas. • Pudrición acuosa, con un micelio amarillento, espeso, semejante a un moho blanco. La lesión es firme, posteriormente los tejidos afectados se endurecen, pero pocas veces la mancha profundiza. La pulpa no sufre daño. 	<ul style="list-style-type: none"> • Realizar poda de saneamiento y eliminar los residuos. • Los frutos dañados no deben estar en contacto con los sanos y se introducen en bolsas plásticas o se incineran.
<p>Moho gris <i>Botrytis cinerea</i></p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Áreas cubiertas con moho aterciopelado de color gris y posteriormente se producen pudriciones blandas. • Se propaga por contacto de los frutos aunque éstos no presenten heridas ni magulladuras. 	<ul style="list-style-type: none"> • Almacenar la cosecha en sitios ventilados. • El patógeno vive en el suelo y prefiere desechos vegetales. Por esto, se debe evitar el contacto de los frutos con el suelo.



Tabla 5. Principales enfermedades que atacan a la chirimoya (Continuación).

Enfermedad	Síntoma	Control
Pudrición blanda <i>Rhizopus ssp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Inicialmente la lesión es redondeada, de apariencia y consistencia blanda y rápido avance, con abundante crecimiento algodonoso y grisáceo. • Penetra principalmente por la inserción del pedúnculo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Recolectar la cosecha con extremo cuidado para evitar heridas y golpes que son puntos de ingreso del moho. • Previo a la cosecha las frutas se desinfectan por 10 s en una solución clorada a razón de 5 mL por L de agua.
Moho azul verdoso <i>Penicillium ssp.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Al inicio produce manchas acuosas superficiales de diferente forma y tamaño. • Al pasar los días se introduce en el fruto que rápidamente pudre y da origen a un moho blanco en el área central del daño. La zona de esporas es de color verde azulado a verde olivo. • Penetra a través de heridas y puede afectar el receptáculo, también se transmite por contacto de frutos enfermos con sanos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Recolectar y destruir los residuos de cosecha. • Evitar cosechar frutos húmedos. • Evitar ocasionar heridas en los frutos.

Fuente: Castro (2007); Cerdas *et al.* (2007).

2.1.6.1. Antracnosis

La antracnosis se ha considerado como la enfermedad fúngica de mayor relevancia económica, por las pérdidas que ocasiona, en un sin número de cultivos (Tous, 2008).

Dentro de la elevada gama de microorganismos, que hacen parte de la diversidad presente en el planeta, se encuentra al grupo de los hongos. Los resultados de recientes investigaciones muestran como estos microorganismos, entre ellos *Colletotrichum spp*, agente causal de la antracnosis, están dotados de una alta capacidad de adaptación, hecho que los convierte en organismos capaces de habitar distintos lugares bajo condiciones ambientales muy diversas (Tous, 2008).



En México *C. gloeosporioides* (Tabla 6) se ha asociado con la antracnosis del fruto de chirimoya con incidencia de 50 a 70%. Este hongo forma su fase sexual *in vitro*, *Glomerella cingulata* (Stoneman) (Tabla 6) (Villanueva, 2005).

Tabla 6. Clasificación taxonómica del agente causal de la antracnosis.

	Estado anamorfo (asexual)	Estado teleomorfo (sexual)
Reino:	<i>Fungi</i>	<i>Fungi</i>
Subdivisión:	<i>Deuteromycotina</i>	<i>Ascomycotina</i>
Clase:	<i>Deuteromycetes</i>	<i>Pyrenomycetos</i>
Orden:	<i>Melaconiales</i>	<i>Sphaeriales</i>
Género:	<i>Colletotrichum</i>	<i>Glomerella</i>
Especie:	<i>Gloeosporioides</i>	<i>Cingulata</i>

Fuente: Parra (2008).

Colletotrichum gloeosporioides es un hongo de distribución cosmopolita y con predominancia en los trópicos y subtropicos. Este hongo muestra un crecimiento lento *in vitro*, el conidio se produce en masas mucilaginosas de color rosado (Figura 4a) (Rodríguez *et al.*, 2008; Tous, 2008).

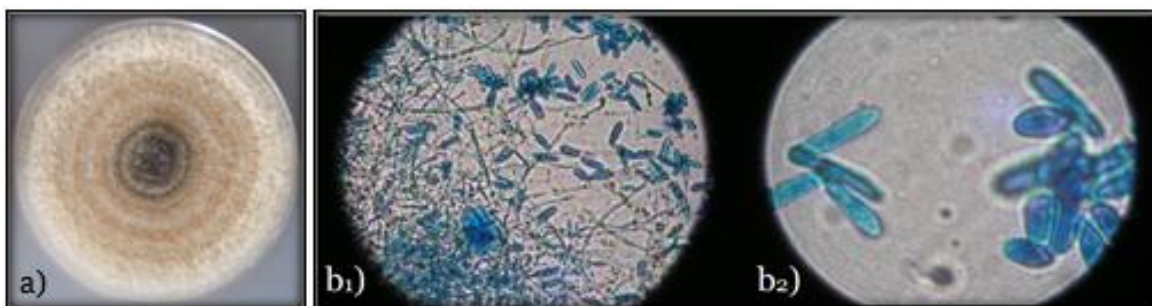


Figura 4. Morfología del moho *Colletotrichum gloeosporioides*. a) Imagen macroscópica; b) Imagen microscópica, b₁) Micelio y conidios, b₂) Conidios. Fuente: Parra (2008).

En la naturaleza vive de la materia orgánica y en ocasiones especiales tiene la capacidad de volverse patógeno, prefiriendo atacar tejidos muy jóvenes o muy viejos y físicamente débiles. Los ataques más severos a los frutos ocurren cuando coinciden el estado más susceptible del cultivo (floración fructificación) con un tiempo lluvioso y días de permanente humedad relativa, mayor del 90%. La fuente del inóculo puede provenir de cualquier parte del árbol. El hongo puede infectar



entre los 20 y 28°C, pero su característica óptima de crecimiento es de 27±1°C; el pH óptimo de crecimiento es de 5.5 a 7 (Jairo y Chavarriaga, 2007; Rodríguez, 2008).

Este mohó presenta un micelio septado de coloración castaña clara, produce conidios hialinos unicelulares con morfología de bala los cuales a su vez son producidos en estructuras especializadas llamadas acérvulos que se forman en la superficie de los tejidos infectados; los acérvulos son subepidérmicos con forma de disco de color oscuro y presenta setas oscuras, estos emergen a través de la superficie, están formados por pseudoparénquima con paredes delgadas o gruesas; los conidióforos son elongados con numerosos conidios. Típicamente presenta setas o espinas negras en los bordes o entre el conidióforo (Figura 4b) (Parra, 2008; Tous, 2008).

Una característica de algunas especies de *Colletotrichum*, es que pueden causar infecciones latentes o quiescentes sobre los frutos, que posteriormente se desarrollan durante la fase de maduración. La infección quiescente se describe como una relación parasítica latente, que después de un tiempo prolongado cambia a una forma activa (Figura 5) (Jairo y Chavarriaga, 2007; Parra, 2008).

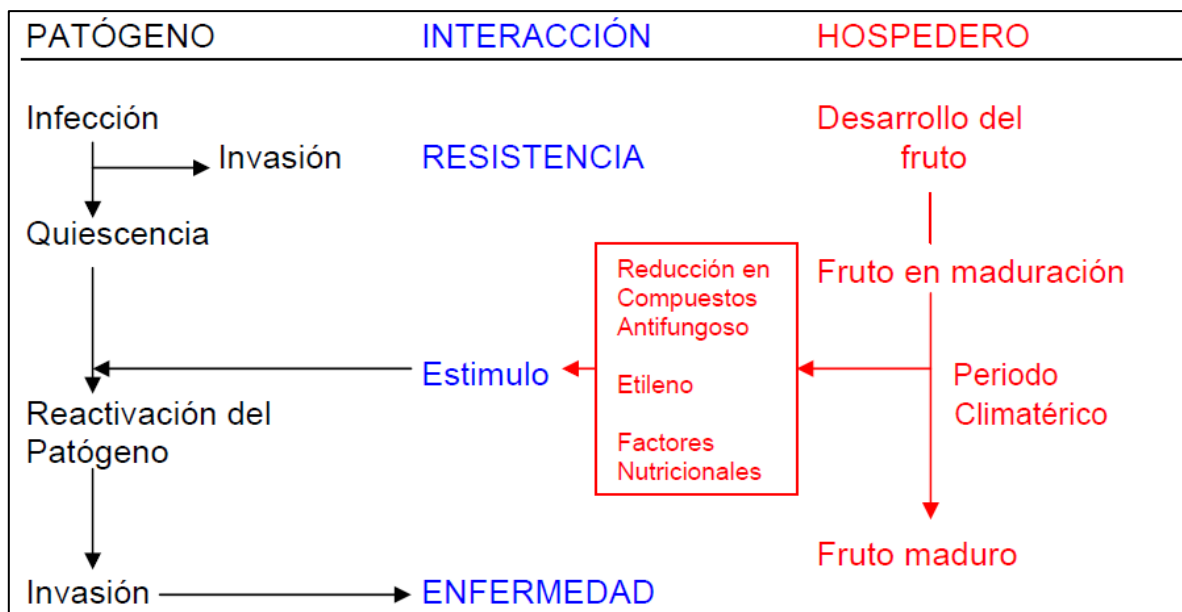


Figura 5. Eventos entre el patógeno y el hospedero dentro de la infección quiescente por *C. gloeosporioides*. Fuente: Arauz (2000).



➤ **Etiología y epidemiología de la antracnosis.**

Posterior a la infección inicial que genera el hongo mediante la adhesión de sus conidios transportados en el agua a los tejidos sanos, el micelio crece intercelularmente durante cierto tiempo antes de que las células empiecen a colapsarse y pudrirse. El micelio del hongo produce entonces acérvulos, estos constan de un estroma micelial que puede contener pocas o muchas capas de células de espesor. Una vez dispersos los conidios formados en los acérvulos, éstos se adhieren a la superficie del hospedero por medio de una capa mucilaginosa compuesta de polisacáridos y glucoproteínas presente en el acérvulo, posteriormente germinan en un periodo de 12 a 24 horas y luego producen un tubo germinal llamado apresorio que penetra la cutícula directamente. La hifa infectiva penetra directamente la cutícula colonizando la pared celular de las células del hospedero (Figura 6). Existen varias formas de penetración, una de ellas es a través de aberturas naturales como estomas, lenticelas y otras por penetración directa o a través de heridas (Parra, 2008; Rodríguez, 2008; Tous, 2008).

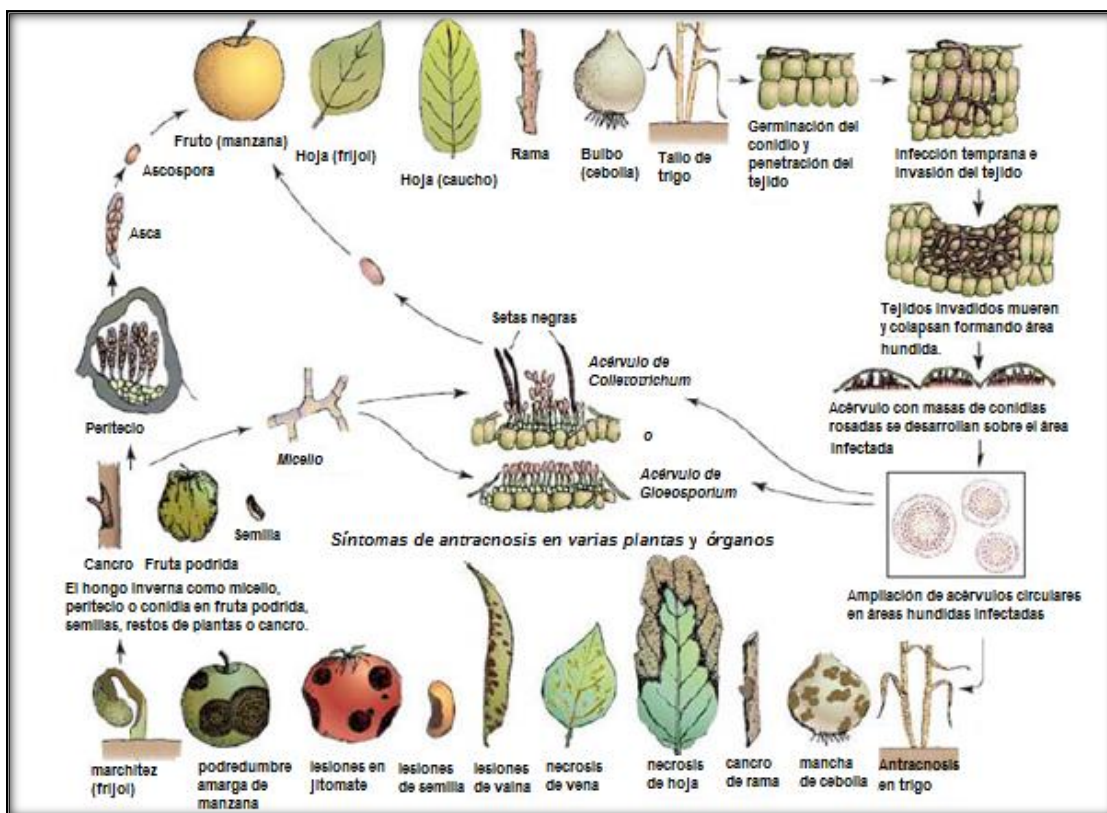


Figura 6. Ciclo de vida de la antracnosis causada por *Glomerella cingulata* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Fuente: Agrios (2002).



En cultivos de Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) las características de los conidios aislados son cilíndricas, ovoides-alargados, piriformes-alargados y gigantes (Tous, 2008).

2.1.7. Métodos de conservación

En la mayor parte de los países, la producción de muchos de los cultivos alimentarios percederos es estacional, lo que hace que sólo se disponga de ellos durante breves periodos del año. Durante ese tiempo se producen en cantidad superior a la capacidad de absorción del mercado, de modo que los excedentes de muchas de esas cosechas se tienen que elaborar y conservar a fin de no desperdiciar alimentos y de que el productor no pierda ingresos (FAO, 1993).

La conservación del alimento consiste en mantener el mayor tiempo posible el grado más alto de calidad, tratando de disminuir los efectos de los diversos mecanismos de alteración. Para ello, hay que limitar cuáles son las cualidades que se desean preservar, conocer los mecanismos de las alteraciones de dichas cualidades y definir las técnicas de conservación que se adecúen al producto. (Marzo, 2010).

La chirimoya es un producto altamente sensible y perecedero por sus características de alta respiración, transpiración, producción de etileno y dinámica actividad enzimática, las cuáles se estimulan por muchos factores en producción, en cosecha y postcosecha, generando entre otros efectos, pardeamiento y amargor, agravado por la poca consistencia y resistencia de su cobertura externa. Una vez que la chirimoya ha sido seleccionada y clasificada, se aplican tratamientos poscosecha con el objetivo de reducir los ataques de hongos a la fruta y así alargar su periodo de almacenamiento (Tabla 7) (Cerdas, 2007; Toro, 2009).

Tabla 7. Tratamientos poscosecha aplicados a chirimoya.



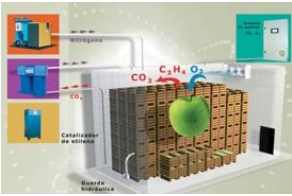
Tratamiento	Principio	Condiciones	Referencias
1-Metilciclopropeno (1-MCP) 	Es un gas inocuo utilizado a bajas concentraciones que bloquea la acción del etileno, hormona involucrada en el proceso de la maduración.	500nL/L, 16 h en cámara cerrada, 20°C	Cai-rong <i>et al.</i> (2009)



Tabla 7. Tratamientos poscosecha aplicados a chirimoya (continuación).

Tratamiento	Principio	Condiciones	Referencias
Refrigeración 	Es el proceso de reducción y mantenimiento de la temperatura de un objeto o espacio, se realiza extrayendo energía del cuerpo con mayor temperatura al de menor temperatura.	8-10 °C, 15-20 días.	Toro (2009)
Atmósferas controladas 	Se realiza de forma que se pueda corregir la composición de los gases manteniéndolos continuamente entre unos valores prefijados. Esto se hace en cámaras	3-5% O ₂ y 5-10% CO ₂ . Hasta 6 semanas a 10°C en 5% O ₂ y ya maduras a 20°C.	Samaniego (2009)

Existen otras tecnologías que no han sido aplicadas en chirimoya; sin embargo, han probado tener beneficios en otras frutas, entre ellas encontramos a los envases activos, congelación, irradiación, etc.

2.2. Generalidades de envases activos

2.2.1. Definición.

Los envases activos se definen como aquellos en los que componentes auxiliares han sido deliberadamente incluidos dentro o sobre cualquiera de los materiales del envase o en el espacio de cabeza, es decir incluyendo el componente activo en todo el material de envase o gracias a la utilización de sobres, bolsitas o etiquetas; para mejorar el rendimiento del sistema de envasado (Avendaño, 2009; Robertson, 2010).

Hotchkiss presenta la definición de envase activo, aquel que interacciona directamente con el producto y/o con su entorno para mejorar uno o más aspectos de su calidad o seguridad. De otro modo podemos definir el envase activo como el sistema alimento-envase-entorno que actúa de forma coordinada para mejorar la inocuidad y la calidad del alimento envasado y aumentar su vida útil (Avendaño, 2009).



2.2.2. Clasificación.

Se reconocen muchas ventajas que ofrecen los envases activos en sus diferentes manifestaciones (Tabla 8):

- Capacidad de respuesta del envase frente a los cambios que en él se producen.
- Realización de operaciones como calentamientos, enfriamientos o fermentaciones que se pueden realizar dentro del mismo envase.
- Reducción del empleo de aditivos o conservantes los cuales se pueden incorporar en el mismo envase (Avenidaño, 2009).

Tabla 8. Clasificación de los envases activos		
Tipo de envase activo	Principio activo	Aplicaciones
Control de humedad	Gel de sílice, Óxido de calcio, sales de poliacrilato, amidas modificadas.	Pastillas de purga para carne fresca Maduración de quesos
Absorbedores / emitidores de oxígeno	Sales ferrosas, Ácido ascórbico, sulfitos, catecol, algunos tipos de nylon, glucosa oxidasa.	Envasado en atmósferas modificadas Prevención de oxidación en panadería y productos cárnicos
Absorbedores y adsorbedores de etileno	Permanganato de potasio, carbón activo, zeolitas.	Control de maduración de frutos
Antimicrobianos	Bacteriocinas, dióxido de cloro, ácido orgánico, Quitosán, extractos naturales y aceites esenciales.	Control microbiano

Fuente: Brody *et al.*, (2008); Robertson (2010);

2.3. Generalidades de recubrimientos comestibles.

Las películas y recubrimientos comestibles con propiedades antimicrobianas han innovado el concepto de envase activo, siendo desarrollados para reducir, inhibir o detener el crecimiento de microorganismos en la superficie de los alimentos. El deterioro y los patógenos pueden ser reducidos gracias a la incorporación de agentes antimicrobianos en las películas y recubrimientos comestibles (Falguera *et al.*, 2011).



2.3.1. Definición y origen.

El empleo de embalajes o envolturas comestibles para la protección de alimentos se practica de forma empírica desde hace mucho tiempo. Por ejemplo, podemos citar la protección frente a la desecación e intercambios gaseosos de trozos de carne mediante recubrimiento con grasa (que se practica en Europa desde el siglo XVI), de algunos productos de bollería con azúcar o chocolate o de ciertas frutas por recubrimientos con películas de cera (practicado en China desde el siglo XII) (Bureau y Multon, 1995).

Los recubrimientos se aplican y se forman directamente sobre el alimento, mientras que las películas son estructuras independientes que se añaden a continuación (Bureau y Multon, 1995).

Un recubrimiento comestible se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento. Dichas soluciones formadoras del recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Figuroa *et al.*, 2011).

2.3.2. Propiedades

Uno de los problemas más importantes que ocurren en la preservación de los alimentos es la transferencia de masa del producto y su medio circundante y/o entre dos diferentes partes en un producto. Un envase ideal para uso alimentario debe controlar dicha transferencia de masa y proveer de protección mecánica contra el estrés mecánico durante la producción, transporte y almacenamiento (Risch, 2000).

Las consecuencias de la transferencia de masa en los alimentos son a menudo modificaciones de textura, color, sabor y aroma durante el almacenamiento, pero la transferencia de masa también puede inducir alteraciones fisicoquímicas, bioquímicas y microbiológicas, induciendo la pérdida de su calidad (Risch, 2000).



Las características del material o materiales de los envases que constituyen el envase condicionan sus funciones, y deben permitir lentificar la evolución fisicoquímica y microbiana del producto alimentario (Jeantet *et al.*, 2010).

Un embalaje en forma de película, revestimiento o capa delgada protectora se califica como comestible cuando forma parte integrante del alimento y se consume como tal. A causa de esta doble función de embalaje y de constituyente del alimento, las películas y revestimientos comestibles ofrecen numerosas ventajas, aunque también deben cumplir una serie de condiciones que se resumen en la Tabla 9 (Bureau y Multon, 1995).

Tabla 9. Características de películas y recubrimientos comestibles.	
VENTAJAS	CONDICIONES REQUERIDAS
✓ Consumo directo con el producto	✓ Palatabilidad (Solubilidad, dispersabilidad en la boca o durante su preparación)
✓ Materiales poco costosos	✓ Propiedades organolépticas compatibles con la naturaleza del alimento
✓ Posibilidad de envase individual	✓ Conservación suficiente
✓ Mejora de las propiedades mecánicas, organolépticas, nutricionales y de conservación	✓ Tecnología simple
✓ Retardo de la transferencia de agua, gases, grasas y solutos	✓ Ausencia de toxicidad
✓ Disminución de las pérdidas de sustancias volátiles (aromas)	✓ Composición acorde con la reglamentación relativa a la aplicación alimentaria
✓ Mejora de la cohesión y conservación de la integridad del alimento, manipulación fácil	✓ Termosellable y/o buena adhesión a la superficie del alimento
✓ Protección frente a contaminantes microbianos u otros, y frente a ciertos agentes externos (H ₂ O, O ₂ , etc.)	✓ Funcional en las condiciones de empleo
✓ Reducción o supresión del embalaje no comestible	
✓ Disminución de la contaminación medioambiental	

Fuente: Bureau y Multon (1995).

El uso de recubrimientos en aplicaciones alimentarias y en especial en productos altamente perecederos, como los pertenecientes a la cadena hortofrutícola, se basa en ciertas características tales como costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas, propiedades ópticas, su efecto frente al flujo de gases,



resistencia estructural al agua, a microorganismos y a su aceptabilidad sensorial. Algunas de estas propiedades se presentan en la Tabla 10 (Quintero *et al.*, 2010).

Tabla 10. Propiedades de las películas y recubrimientos comestibles.		
Propiedad	Tipo	Descripción
Físicas	Color	Cuando la luz incide sobre la superficie de un objeto, es reflejada, absorbida o transmitida como resultado de las interacciones de la luz-objeto que determinan el color, el brillo y la transparencia que presenta la superficie del objeto.
	Transparencia	La opacidad de la película, contraria a la transparencia, se puede determinar midiendo el espectro de absorbancia (400-800 nm) de la muestra con un espectrofotómetro. Este parámetro puede dar indicios de la estructura de la película: estructuras rugosas generalmente son más opacas.
Barrera	Permeabilidad a gases	La permeabilidad es una forma de cuantificar la facilidad con que un material puede ser traspasado por una sustancia. Estas transferencias bidireccionales se pueden producir en fase líquida, o más generalmente en fase gaseosa. Las transferencias de vapor de agua o de gas a través de un material están descritas por la teoría de la permeabilidad, que implica una transferencia por difusión molecular impuesta por una diferencia de concentración del compuesto, que difunde de una parte a otra del material. La permeabilidad se describe a menudo como la sucesión de tres etapas: el compuesto se adsorbe en el material, difunde a través del material bajo la acción del gradiente de concentración y se desorbe por evaporación.
	Permeabilidad a vapor de agua	En el estado estacionario, para una temperatura y un gradiente de presión parcial constantes y un material inerte e isotrópico, las transferencias por difusión unidireccionales de materia están descritas por la primera ley de Fick.
Mecánicas	Tensión máxima	Se considera que las propiedades mecánicas del film son buenas cuando se obtiene un equilibrio en la estructura química del film, para lo cual, los factores importantes son la <i>tensión máxima</i> (máxima tensión que puede soportar antes de romperse), el <i>porcentaje de elongación</i> (porcentaje en que ha cambiado la longitud original) y el <i>módulo de elasticidad</i> (cociente entre la tensión y la elongación en la región elástica, medida de la rigidez de la película).
	Resistencia a la ruptura	
	Módulo de elasticidad	

Fuente: Abraján (2008); Marzo (2010); Ramos *et al.* (2010).



2.3.3. Componentes de formación.

2.3.3.1. Matriz

Existen básicamente dos tipos de biomoléculas empleadas para la elaboración de películas y recubrimientos comestibles, los hidrocoloides (proteínas o carbohidratos) y los lípidos. Generalmente ambos se usan combinadamente para contrarrestar las deficiencias que presenta cada grupo por separado (Abraján, 2008).

La eficiencia funcional de las películas y recubrimientos comestibles depende básicamente de la naturaleza de sus componentes y de la composición y estructura. La elección de las sustancias formadoras de la película y/o de los aditivos activos está en función del objetivo, naturaleza del producto y del método de aplicación (Tabla 11) (Abraján, 2008).

Tabla 11. Clasificación y propiedades de las matrices formadoras de películas y recubrimientos comestibles.		
Matriz	Características	Ejemplos
Lípidos	<ul style="list-style-type: none"> • Barrera eficaz frente a la humedad. • Soporte de aditivos liposolubles. • Protección contra abrasión de superficie a manipulación posterior o en escaldado de frutas. • Mala estabilidad (frente a oxidación) • Malas propiedades mecánicas. • Brindan características organolépticas desagradables. 	Alcoholes grasos Ácidos grasos Aceites vegetales Ceras Resinas
Polisacáridos	<ul style="list-style-type: none"> • Buenas propiedades mecánicas de adherencia y flexibilidad • Barrera eficaz frente a los gases (O_2 y CO_2) • Barrera eficaz frente a aceites y grasas. • Propiedades de barrera deficientes frente a la humedad, sobre todo en humedades relativas elevadas. • Dado su carácter hidrofílico, son solubles en agua caliente, y se disuelven sin alterar las propiedades sensoriales del alimento sobre el cual están aplicados. 	Alginato de sodio Almidón Carboximetilcelulosa Carragenanos Pectinas



Tabla 11. Clasificación y propiedades de las matrices formadoras de películas y recubrimientos comestibles (continuación).

Matriz	Características	Ejemplos
Proteínas	<ul style="list-style-type: none"> • Barrera eficaz frente a los gases (O_2 y CO_2). • Barrera deficiente al vapor de agua. • Tienden a ser quebradizos por lo que necesitan el uso de un plastificante que le proporcione flexibilidad. 	Albúmina de huevo Caseína Colágeno Gelatina Proteína de suero de leche

Fuente: Abraján (2008); Bureau y Multon (1995); Figueroa *et al.* (2011); Marzo (2010); Ramos *et al.* (2010).

➤ *Alginatos*

El alginato es un polisacárido que representa uno de los componentes estructurales de la pared celular de las algas café de las *Feoficeae*, cuya función principal es la de dar fuerza y flexibilidad a las algas. En su estado natural, se presentan como una mezcla de sales de los cationes que comúnmente se localizan en el agua de mar. Comercialmente se extrae de *Macrocystispyrifera*, *Laminaria hyperborea*, *L. digitata* y *Ascophyllumnodosum* (Badui, 2006; Yabur, 2005).

El alginato comercial es una sal, la mayoría de las veces la sal sódica, de un ácido poliurónico, el ácido algínico. Su estructura química corresponde a un polímero lineal de moléculas de ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico y ácido $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico (Figura 7). La relación de concentraciones de estos azúcares varía según la fuente botánica y el grado de madurez de la planta; esto influye a su vez en la viscosidad que se logra con sus soluciones. Por otro lado, estos dos monómeros se encuentran, bien en regiones homogéneas (compuestas exclusivamente de una unidad o de la otra), o bien en regiones en las que están mezclados (Fennema, 2000).



Figura 7. Monómeros del ácido algínico. a) Ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico, b) Ácido $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico. Fuente: González (2009).



Los segmentos que contienen sólo unidades de ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico se les conoce como bloques M, y los que contienen sólo unidades de ácido $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico, como bloques G. Las regiones de bloques M son planas y en forma de cinta, similar a las cadenas de celulosa, debido a que el tipo de enlace es siempre ecuatorial-ecuatorial. Las regiones de bloques G poseen una conformación plegada (corrugada), como resultado de los enlaces de tipo axial-axial (Figura 8). Porcentajes de los dos tipos de bloques dan lugar a que los alginatos de algas distintas posean propiedades diferentes. Las soluciones de los alginatos sódicos son muy viscosas (Fennema, 2000).

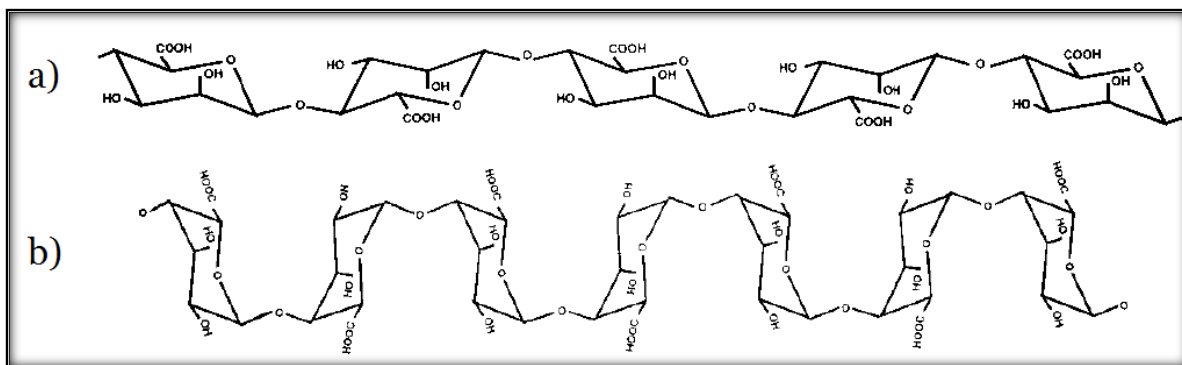


Figura 8. Bloques poliméricos del ácido alginico. a) Bloques M, b) Bloques G.
Fuente: González (2009).

Los alginatos que presentan grandes regiones de bloques G dan lugar a la formación de un gel de fuerza alta, mientras que los alginatos que presentan grandes regiones de bloques M dan lugar a la formación de una gel de fuerza media pero con una alta resistencia a la sinéresis (Yabur, 2005).

El alginato ha sido preponderante en la obtención de recubrimientos comestibles debido a sus propiedades coloidales únicas y a su habilidad para formar geles fuertes o polímeros insolubles al reaccionar con cationes metálicos multivalentes tales como el calcio (Fan *et al.*, 2009).

➤ *Mucílago de nopal*

El mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) es un polisacárido con peso molecular que va desde 2.3×10^4 hasta 4.3×10^6 Da. Este compuesto se presenta tanto en los cladodios como en la piel y pulpa de la fruta, aunque en muy diversas proporciones (González *et al.*, 2011).



Entre su composición se encuentran, en mayor parte, unidades de azúcar de D-galactosa (18.4%), L-arabinosa (42.4%), D-xilosa (24.5%) y L-ramnosa (6.4%), así como ácido galacturónico (8.4%), este último está presentes en cantidades pequeñas comparadas con las pectinas. La proporción de estos monómeros en la molécula varía de acuerdo a diversos factores como: variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores. El mucílago está presente como su sal de calcio en las células de mucílago del parénquima de la penca (Aguilar, 2007; Abraján, 2008).

Este es un polisacárido ácido (pH=4.5 a 5.7) que posee una estructura ampliamente ramificada. Las unidades de azúcares del mucílago forman un polisacárido ramificado de ácido galacturónico y ramnosa como unidades centrales. Las cadenas laterales tienen a su vez un esqueleto formado de β -galactosa, el cual se encuentra unido a ramnosas en el eje central, y ramificaciones laterales de arabinosa, xilosa y galactosa (Figura 9) (Aguilar, 2007).

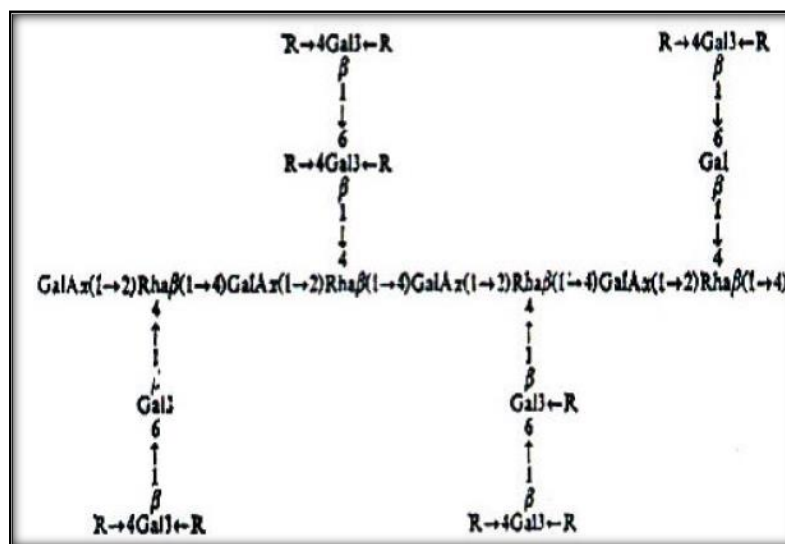


Figura 9. Estructura química del mucílago de nopal.
Fuente: Aguilar (2007).

Tomando en cuenta el grado de madurez del nopal, se pueden desarrollar aplicaciones como aditivos naturales para la industria alimentaria a partir del mucílago del nopal, ya que se obtienen espesantes, reemplazantes de grasas, estabilizadores de emulsiones, películas comestibles y recubrimientos para alargar



la vida de anaquel y mejorar la calidad de alimentos frescos, congelados y procesados (González *et al.*, 2011).

2.3.3.2. Aditivos

Los aditivos son componentes de las películas y de los recubrimientos comestibles que pueden generar diferentes acciones dentro de los mismos, mejorando sus propiedades mecánicas, protectoras, sensoriales o nutricionales. Estos pueden ser tecnológicos o funcionales (Tabla 12), los primeros le otorgan al recubrimiento una propiedad mecánica, mientras que los funcionales le otorgan un comportamiento específico (Bureau y Multon, 1995; Marzo, 2010).

Tabla 12. Clasificación de aditivos		
Aditivo	Características	Ejemplos
Plastificante	Sustancia no volátil con un alto punto de ebullición que modifica las propiedades fisicoquímicas y mecánicas del polímero al que se añade. Su función es atenuar las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de polímeros adyacentes, lo que origina un aumento en la flexibilidad de las películas con una menor fuerza de tensión y facilita la elongación. Permite la obtención de una película menos frágil, más flexible y más dócil.	<ul style="list-style-type: none"> ✿ Mono, di, y oligosacáridos (sacarosa, glucosa y fructosa) ✿ Polioles (glicerol, polietilenglicol, sorbitol) ✿ Lípidos y derivados (ácidos grasos, monoglicéridos y sus ésteres, acetoglicéridos, fosfolípidos)
Surfactantes	Es la sustancia que reduce la tensión interfacial entre dos superficies en contacto. Existen tres grupos de surfactantes en función de su estructura molecular: aniónicos, iónicos y catiónicos. Proporcionan estabilidad a las emulsiones y mejora la adhesión del recubrimiento sobre el producto que sea aplicado.	<ul style="list-style-type: none"> ✿ Lecitinas ✿ Polisorbatos ✿ Monoglicéridos ✿ Ésteres de sacarosa
Antioxidantes	Se añaden para incrementar la estabilidad y mantener el valor nutricional y color de los productos protegiendo frente al enranciamiento, la degradación y decoloración oxidativa.	<ul style="list-style-type: none"> ✿ Ácido cítrico ✿ Ácido ascórbico ✿ Compuestos fenólicos








Tabla 12. Clasificación de aditivos (continuación).

Aditivo	Características	Ejemplos
Antimicrobianos	Agentes añadidos con la intención de retardar el crecimiento de levaduras, mohos y bacterias. Existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante.	<p>Químicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ácido sórbico • Benzoato potásico • Sorbato potásico <p>Naturales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aceites esenciales • Extractos acuosos

Fuente: Bureau y Multon (1995); Marzo (2010).

La tabla 13 muestra la aplicación de recubrimientos comestibles en frutos, realizado en recientes investigaciones.

Tabla 13. Aplicación de recubrimientos comestibles a frutos

Fruto	Recubrimiento	Aditivos	Efecto	Referencia
 Fresa	Almidón de yuca y proteína aislada de soya	<ul style="list-style-type: none"> • 0.4% Aceite de canola • 2.0% Glicerol • 0.4% Tween 60 	Aumento de vida de anaquel	Saavedra-Alguecira (2010)
 Guayaba	Gelatina y CMC	<ul style="list-style-type: none"> • 0.2-0.5% Glicerol 	Menor pérdida de peso y mejor preservación de la firmeza.	Aguilar <i>et al.</i> (2012)
 Limón persa	Goma de mezquite, cera de candelilla y cera de abeja	<ul style="list-style-type: none"> • 0.1% Benzoato de sodio 	Menor pérdida de peso, alteración inexistente de los parámetros de calidad en los 25 días de prueba.	Bósquez (2003)
 Nopal	Mucílago de nopal	<ul style="list-style-type: none"> • 1.5% Glicerol • 1.5% Polietilenglicol • 0.1% Ácido oleico 	Disminución de tasa de respiración	González, <i>et al.</i> (2011)
 Uva	HPMC	<ul style="list-style-type: none"> • 0-3% Sorbestero 80 y 20 • 0-3% Mono-diglicéridos de ácidos grasos • Própolis 	Efecto antifúngico, menor pérdida de peso, disminución del pardeamiento, mejora del brillo y calidad microbiológica.	Pastor (2010)

2.4. Generalidades de aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son aditivos naturales que más interés han generado en los últimos años en la industria de alimentos ya que han demostrado poseer propiedades antimicrobianas que no sólo se limitan al efecto antibacterial sino que



incluyen características antivirales, antimicóticos, antioxidantes, antitoxigénicas, antiparasitarias e incluso insecticidas. Estas propiedades están relacionadas con la naturaleza de los AE en la planta la cual comúnmente hacen parte de factores pre infección (sustancias almacenadas en los tejidos vegetales listas para su expulsión ante el ataque de agentes patógenos en la planta; un símil a los antígenos del sistema inmune en los animales) (Arce, 2011).

2.4.1. Definición

Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de la materia vegetal (flores, botones semillas, hojas, corteza, tronco, hierbas, frutas y raíces); generalmente son menos densos que el agua, y confieren el sabor y aroma característico del cultivo de donde provienen (Arce, 2011; Ramos *et al.*, 2010).

Poseen un color en la gama del amarillo, hasta transparentes en algunos casos. Son inflamables, no son tóxicos aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides; sufren degradación química en presencia de luz solar, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada. Son solubles en los disolventes orgánicos comunes y casi inmiscibles en disolventes polares asociados (agua, amoniac) (Cerpa, 2007).

Como metabolitos secundarios, los AE están conformados por compuestos de diferente naturaleza, la mayoría de los cuales comprenden sustancias terpenoides junto con oxigenadas (alcoholes, ésteres, éteres, aldehídos y compuestos fenólicos). Los aceites esenciales pueden englobar más de 60 compuestos individuales, donde los componentes primarios aportan cerca del 85% del AE, y el resto sólo están presentes como trazas (Arce, 2011).

Los compuestos más frecuentes derivan biológicamente del ácido mevalónico y se les cataloga como terpenos, siendo los más abundantes los monoterpenos (C₁₀) y los sesquiterpenos (C₁₅) (Yáñez *et al.*, 2007).

Los mecanismos de acción de los diversos compuestos orgánicos de las plantas son variables: por ejemplo, la toxicidad de los fenoles se atribuye a la oxidación de compuestos, los terpenos están involucrados en el rompimiento de membrana, a



través de los compuestos lipofílicos; se ha postulado que los alcaloides se intercalan en la doble cadena del ADN. Otro estudio indica que los componentes de los aceites esenciales interfieren con las funciones de permeabilidad de membrana celular (Borboa *et al.*, 2010).

El uso de estos compuestos en hongos se puede dar afectando etapas del desarrollo como la germinación de esporas, formación de estructuras de penetración, desarrollo de micelio y esporulación (Quintana *et al.*, 2010).

2.4.2. Plantas utilizadas para la extracción de aceites esenciales.

Los aceites esenciales se encuentran en abundancia en el reino vegetal y se pueden localizar en diferentes partes de la planta como lo muestra la tabla 14.






Tabla 14. Plantas utilizadas para aceites esenciales.	
Planta	Descripción
<p>Anís (hierba, semilla)</p> 	<p>Los aceites esenciales de anís (<i>Piper auritum</i>), obtenidos de diferentes plantas pertenecientes a este género, inhiben el crecimiento de un amplio grupo de microorganismos que causan infecciones importantes al hombre, las plantas y los animales. El componente mayoritario identificado en el aceite fue el monoterpeno oxigenado safrol (74.29%) según la investigación realizada por Sánchez <i>et al.</i> (2009).</p>
<p>Orégano (hoja)</p> 	<p>Presenta más de 60 especies de plantas de aroma y sabor característico utilizadas principalmente como especias. La mayoría de ellas pertenecen a las familias <i>Lamiaceae</i> y <i>Verbenaceae</i> de las cuales las más importantes son las del orégano europeo (<i>Origanum sp.</i>) y del orégano mexicano (<i>Lippia sp.</i>).</p> <p>En el aceite esencial se han identificado 33 compuestos que incluyen alcoholes, éteres, fenoles y una cetona. Los componentes mayoritarios son timol que representa del 40 al 60% del total de compuestos volátiles, carvacrol (5-25%), β-mirceno, α-terpineno, γ-terpineno y p-cimeno.</p>
<p>Tomillo (hoja)</p> 	<p>El tomillo (<i>Thymus vulgaris L.</i>) es una especie que se comercializa en fresco o seco, principalmente para la extracción de su aceite esencial, existe evidencias sobre las propiedades del aceite entre las que destacan su acción antiespasmódica, antimicrobiana, antifúngica y propiedades antioxidantes.</p> <p>La composición del aceite esencial incluye carvacrol y timol, además puede contener cimeno, p-terpineno, linalol, borneol, geraniol y cariofileno.</p>



Tabla 14. Plantas utilizadas para aceites esenciales (continuación).

Planta	Descripción
Cítricos (cáscara) 	De la cáscara de la naranja se pueden obtener aceites esenciales que se utilizan como aromatizantes en diferentes industrias. El aceite esencial de limón y naranja contiene más del 90% de <i>d</i> -limoneno, componente mayoritario en su composición normal y además, en menor proporción poseen una gran cantidad de terpenos.
Hojasén 	El hojasén (<i>Flourensia cernua D.C</i>) es un arbusto aromático caducifolio endémico del desierto de Chihuahua, es una planta usada tradicionalmente por la población mexicana para combatir enfermedades gastrointestinales. Se han realizado estudios sobre la actividad antibacteriana y antifúngica de sus extractos; sin embargo, la investigación de sus aceites esenciales ha sido muy limitada.

Fuente: Cueto (2008); Guerrero-Lagunes *et al.* (2011); Sánchez *et al.* (2009); Tellez y Estell (1997); Yañez *et al.* (2007); Zavala *et al.* (2010).

➤ *Aceite esencial de Orégano*

Orégano es el nombre común para más de sesenta especies de plantas con aroma y sabor característicos. La mayoría pertenece a las familias *Lamiaceae*, género *Origanum* y *Verbenaceae* género *Lippia* (Kintzios, 2002).

El Orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer, *Lippia graveolens*) es una planta distinta a sus homólogos europeos. Posee un sabor más fuerte comparado con otras variedades que es atribuido a su alto contenido de aceites esenciales. La planta completa contiene aceite esencial (1.8%), glucósidos saponínicos, taninos, triterpenos, celulosa, pigmentos y elementos minerales. (Cueto, 2010; Flores *et al.*, 2004).

El aceite esencial de Orégano ha sido reconocido como un importante agente antioxidante y se ha demostrado su actividad antifúngica contra hongos contaminantes de alimentos (Cueto, 2010).

Se han identificado 33 compuestos en el aceite esencial de *Lippia graveolens* que incluyen alcoholes, éteres, fenoles y una cetona. Los componentes mayoritarios son el timol (40-60%), carvacrol (5-25%), p- cimeno (7.7-9.2%), 1-8 Cineol (4.5-4.8%),



β -mirceno (0.9-1.5%) y, γ -terpineno metil, Cariofileno, Linalool, Terpeneol en menor proporción (Figura 10) (Cueto, 2010; Flores *et al.*, 2004).

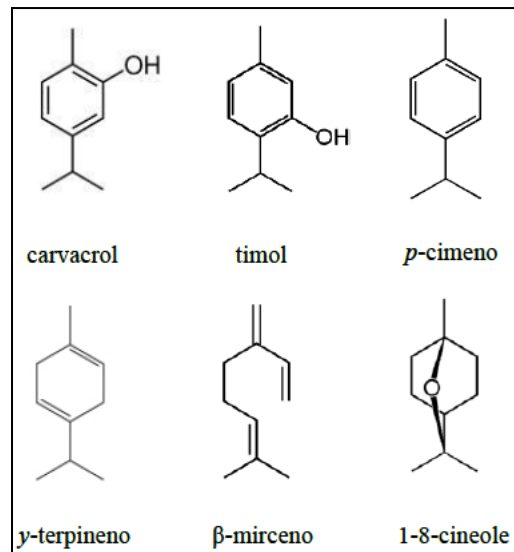


Figura 10. Compuestos bioactivos del aceite esencial de Orégano.
Fuente: Cueto (2010).

➤ *Aceite esencial de Hoja Sen*

Flourensia cernua D.C. es un arbusto caducifolio aromático endémico de las zonas desérticas del norte de México y del sur de Estados Unidos (Tellez y Estell, 1997).

Son muy pocos los estudios que se han realizado sobre su aceite esencial, en el cual se identificaron 94 compuestos cuyos componentes mayoritarios fueron el β -eudesmol (24.5%), α -eudesmol (6.9%), limoneno (6.6%), γ -eudesmol (4.6%), mirceno (3.8%), borneol (3.3%) y d-3-careno (3.0%), los mismos que podrían conferirle una capacidad antimicrobiana al aceite esencial (Tellez y Estell, 1997).

2.4.3. Métodos de extracción

Para obtener un extracto, es importante identificar la hierba deseada y la parte que contiene los constituyentes útiles. Adicionalmente, la determinación de una técnica precisa de cosecha y métodos de preservación de la planta por utilizar es de crucial importancia. El mecanismo de extracción involucra dos fenómenos físicos: difusión a través de la pared celular y el lavado de los contenidos celulares, una vez que las paredes se han roto (Azuola y Vargas, 2007).



Antes de comenzar el proceso de extracción, es importante considerar las características generales del compuesto de interés, las características del solvente así como también analizar el proceso a emplear en función de obtener el compuesto de interés sin riesgos y con un alto rendimiento. Aunque la tendencia es aplicar una técnica estándar para obtener el extracto crudo, es conveniente tener presente que un gran número de compuestos de origen natural no permite que un solo proceso de extracción se adecúe a la obtención de todos ellos, sino que existen procesos individuales de acuerdo al tipo de compuesto (Márquez, 2003).

En la Tabla 15 se describen los métodos más representativos de extracción de aceites esenciales.




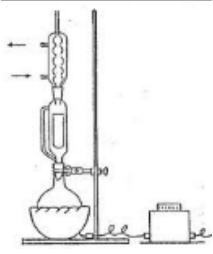
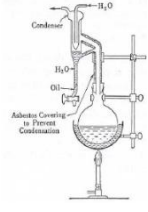
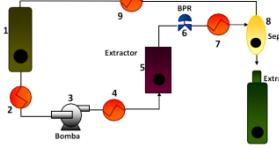
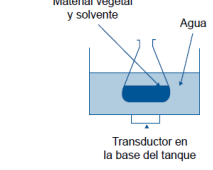
Tabla 15. Métodos de extracción de aceites esenciales	
Extracción con solventes fijos (grasas y aceites)	
<p>Enflorado (frío)</p> 	<p>Este método se usa para flores cuyo contenido en aceite esencial es bajo y se queda en el agua de destilación, o para las que producen aceite esencial aún después de la recolección. El material vegetal es puesto en contacto con una grasa. La esencia se solubiliza en la grasa que actúa como vehículo extractor.</p> <p>Se efectúa sobre placas de vidrio que van montadas en el centro de un marco, las placas se apilan unas sobre otras en un sótano. A las 24 ó 48 horas, cuando las flores empiezan a marchitarse, se retiran y se cargan de nuevo estos bastidores.</p> <p>La grasa recogida de los bastidores se introduce en unas batidoras en las que se mezcla con alcohol etílico y se bate durante varios días. Si es concentrado a vacío se elimina el alcohol y se obtiene el absoluto de enflorado, en forma de mezcla semisólida de color oscuro. Su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.</p>
<p>Grasa en caliente</p> 	<p>Es el método más antiguo. Se trabaja con la misma grasa empleada en el enflorado, se mezcla con las flores y se mantiene a una temperatura de 80°C durante 2 h. La carga de flores se renueva y se someten a presión para recuperar la grasa. La grasa saturada con aceite esencial se trata de igual forma que el enflorado pero proporciona un producto de menor calidad debido a la temperatura de operación, con la ventaja de que requiere menos mano de obra.</p>
Extracción con solventes orgánicos	
<p>Maceración</p> 	<p>Es una extracción realizada a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal fragmentado en un solvente (etanol preferentemente) hasta que este penetre y disuelva las porciones solubles. Se deja en reposo entre 2 a 14 días con agitación esporádica, luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto.</p>



Tabla 15. Métodos de extracción de aceites esenciales (continuación).

Extracción con grasa	
Lixiviación o percolación	Es de los procesos más difundidos pues se puede realizar con solventes orgánicos en frío para preservar los compuestos termolábiles. Consiste en colocar el material fragmentado en un embudo o recipiente cónico, y se hace pasar un disolvente a través del mismo. No es apropiado para resinas o materiales que se hinchen dado que el disolvente no percolará. Se requiere agregar disolvente constantemente.
Soxhhlet 	<p>Método en caliente que se desarrolla empleando solventes con puntos de ebullición bajo, para evitar degradación de la muestra. Conveniente para extraer los extractos crudos de las plantas.</p> <p>El aparato consta de un matraz bola en donde ebulle el disolvente, sus vapores se condensan encima de la muestra y la maceran momentáneamente la. Cuando la cámara que contiene la muestra se ha llenado, se produce el sifonamiento de la solución resultante que cae sobre el matraz. Esta operación se repite sucesivamente, con lo cual la solución contenida en el matraz se va enriqueciendo con los productos aislados.</p>
Extracción con agua	
Hidrodestilación 	La materia prima vegetal es cargada en un matraz bola, formando un lecho fijo compactado, se agrega agua que se calienta hasta ebullición, el vapor atraviesa la cámara y arrastra las esencias, con un refrigerante se condensa el agua. Posee un ramal lateral, por el cual, el agua es desplazada para favorecer la acumulación del aceite. El vapor condensado acompañante del aceite esencial, es llamado “agua floral”. El proceso termina, cuando el volumen del aceite esencial acumulado no varíe con el tiempo.
Métodos no convencionales	
Fluidos supercríticos 	Los fluidos supercríticos poseen propiedades híbridas entre un líquido y un gas: capacidad para disolver solutos, miscibilidad con gases permanentes, alta difusividad y baja viscosidad. La extracción con estos fluidos es una técnica de separación de sustancias disueltas o incluidas dentro de una matriz, que se efectúa por encima del punto crítico del solvente, basada en la capacidad que tienen determinados fluidos en estado supercrítico de modificar su poder de disolución.
Ultrasonido 	<p>El ultrasonido es una clase de onda mecánica longitudinal cuya frecuencia de vibración es mayor a los 20.000 ciclos por segundo, por ese motivo el oído humano no lo puede percibir.</p> <p>Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente.</p>
Extracción asistida por microondas	La irradiación de microondas causa movimiento de moléculas por migración de iones y rotación de dipolos que contribuyen a una rápida transferencia de energía al solvente y materia vegetal.

Fuente: Albarracín y Gallo (2003); Azuola y Vargas (2007); Cerpa (2007); Domínguez y Parzanese (2012); González (2004); González *et al.* (2009).

OBJETIVOS





3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL: Desarrollar un envase activo liberador de agente antifúngico a base de mucílago de nopal o alginato de sodio adicionado con aceite esencial de Orégano u Hoja Sen que controle antracnosis y que permita alargar la vida útil de chirimoya.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

OBJETIVO PARTICULAR 1: Evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de Orégano u Hoja Sen a tres concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm) a través de pruebas *in vitro* en *Colletotrichum gloeosporioides*.

OBJETIVO PARTICULAR 2: Formular y caracterizar películas modelo con base en una matriz de mucílago de nopal a tres concentraciones (0.5, 0.75, 1%) evaluando sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad a vapor de agua) para seleccionar las que presenten las mejores propiedades para ser aplicados como recubrimiento en chirimoya.

OBJETIVO PARTICULAR 3: Formular y caracterizar películas modelo con base en una matriz de alginato de sodio a tres concentraciones (0.5, 0.75, 1%) evaluando sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad a vapor de agua) para seleccionar las que presenten las mejores propiedades para ser aplicados como recubrimiento en chirimoya.

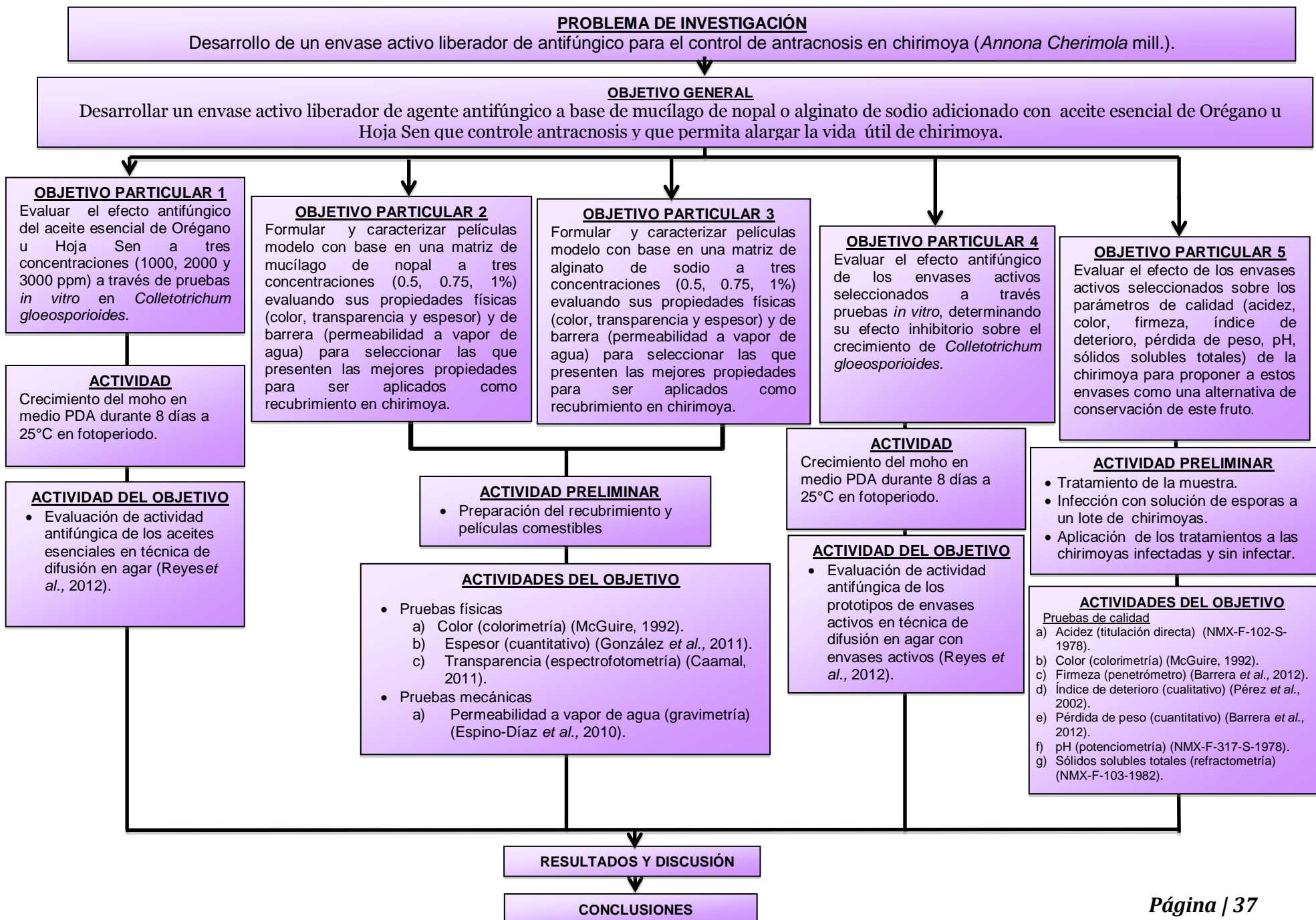
OBJETIVO PARTICULAR 4: Evaluar el efecto antifúngico de los envases activos seleccionados a través pruebas *in vitro*, determinando su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*.

OBJETIVO PARTICULAR 5: Evaluar el efecto de los envases activos seleccionados sobre los parámetros de calidad (acidez, color, firmeza, índice de deterioro, pérdida de peso, pH, sólidos solubles totales) de la chirimoya para proponer a estos envases como una alternativa de conservación de este fruto.

MATERIALES Y MÉTODOS



4.1. Cuadro metodológico.





4.2. Material biológico

Los frutos utilizados fueron chirimoyas provenientes del estado de Morelos adquiridas en la Central de Abastos de la Ciudad de México, los cuales se trasladaron al Laboratorio de Poscosecha de productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, en donde se acondicionaron para su posterior tratamiento.

Las plantas empleadas para la extracción de aceites esenciales fueron Orégano (*Lippia graveolens* H.B.K.) y Hoja Sen (*Flourensia Cernua* D. C.) provenientes del estado de Coahuila. La identificación de las plantas fue realizada en el Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

4.3. Pruebas *in-vitro* de *Colletotrichum g.* en aceites esenciales

4.3.1. Crecimiento del hongo

El medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) se preparó y se esterilizó durante 15 min. Posteriormente se acondicionó un área estéril en la cámara de flujo laminar en donde se realizó el vaciado del medio en cajas Petri de 8 cm de diámetro, y se dejó enfriar. Se rasparon fragmentos del moho previamente aislado y crecido por 10 días a 25°C, y se colocaron en forma equidistante en las cajas Petri. Finalmente las cajas petri se incubaron durante 10 días a 25°C para el crecimiento del hongo.

4.3.2. Extracción de aceites esenciales de Orégano y Hoja Sen.

La extracción de los aceites esenciales se llevó a cabo mediante la técnica de hidrodestilación (Figura 11). Primero se introdujeron 100 g de Orégano u Hoja Sen y 1 L de agua destilada en un matraz bola, se montó el hidrodestilador y se ejecutó la extracción durante 5 h a 98±3°C con agitación constante. Finalmente, el aceite obtenido se puso en contacto con Nitrógeno gaseoso y se almacenó a 0°C en un recipiente ámbar.

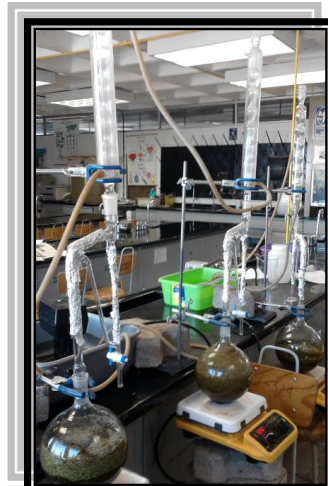


Figura 11. Hidrodestilación de aceites esenciales de Hoja Sen y Orégano.

4.3.3. Evaluación de actividad antifúngica de los aceites esenciales.

La evaluación de actividad antifúngica se realizó a través de la técnica de adición de extracto en el medio descrita en Reyes *et al.* (2012) en la cual se preparó el agar papa-dextrosa agar (PDA) y se mezcló con cada aceite esencial (Orégano u Hoja Sen) a tres concentraciones (1000, 2000 y 3000ppm). La mezcla se vació en cajas Petri de 8 cm de diámetro previamente marcadas y se dejó solidificar, se sembró el hongo previamente crecido de 10 días a 25°C en agar papa dextrosa, y se realizaron explantes en forma de discos de 0.5 cm que se colocaron en el centro de las cajas Petri. El crecimiento micelial de las muestras se evaluó al transcurrir los días midiendo los mm de extensión del micelio a la derecha, izquierda, arriba y debajo de la línea inicial marcada en la caja Petri. Finalmente, se calculó el porcentaje de inhibición de la siguiente manera (ec. 1) (Moreno *et al.*, 2011):

$$\%Crecimiento = \frac{\text{Diámetro de crecimiento del hongo con aceite esencial}}{\text{Diámetro de crecimiento del Control}} \quad (1)$$

$$\%Inhibición = 100 - \%Crecimiento$$

4.4. **Elaboración de los recubrimientos y formación de las películas comestibles.**

Los recubrimientos comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal se elaboraron cada uno a tres concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) y se utilizaron como aditivos glicerol al 0.5% y Tween 80 al 0.5%. Las dispersiones fueron aplicadas en



superficies no porosas con 50 mL en el caso de mucílago de nopal y 30 mL para alginato de sodio, se secaron a temperatura ambiente para formar la película y al término del secado se les realizaron las pruebas físicas y de barrera de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.4.1.

4.4.1. Caracterización de la película

4.4.1.1. Propiedades físicas

- *Determinación de color*

La medición de color se realizó en un colorímetro (Marca Minolta, modelo CR-300) (Figura 12) por el sistema Hunter Lab que arroja 3 parámetros de color representando la cromaticidad en coordenadas rectangulares; “Luminosidad (L)” que define el grado de intensidad lumínica desde negro=0 y blanco=100, “a” en el eje horizontal muestra desde valores negativos una inclinación al verde-azulado hasta un rojo-púrpura en sus valores positivos y “b” en el eje vertical contribuye en sus valores negativos con un azul hasta un amarillo en los positivos. Estos dos últimos parámetros representan las coordenadas del croma o saturación de color el cual se calculó con la ecuación ($C = \sqrt{a^2 + b^2}$) y a su vez también se obtuvo el tono o ángulo hue con la ecuación ($h^{\circ} = \arctan\left(\frac{b}{a}\right)$) que representa el color rojo-púrpura=0, amarillo=90, verde azulado=180 y azul=270 (McGuire, 1992).

El instrumento se calibró con una placa de cerámica y se realizó la medición a 6 cuadros de 2 cm² de la película sobre el fragmento de la placa de vaciado de cada una de las tres réplicas de cada formulación.



Figura 12. Colorímetro Minolta CR-300.



- *Determinación de transparencia*

Se introdujeron muestras rectangulares de la película en celdas que a su vez se colocaron en un espectrofotómetro (marca GENESYS 10 UV-Visible) (Figura 13) en forma perpendicular a la transmisión de la luz. En cada probeta se evaluó el porcentaje de transmitancia a una longitud de onda de 600 nm. Se utilizó una celda vacía para el registro de la muestra blanco y 6 muestras de cada formulación de película para la determinación.



Figura 13. Espectrofotómetro GENESYS 10 UV-Visible.

- *Determinación de espesor*

Para la medición de espesor se utilizó un micrómetro digital (marca Mitutuyo IP65) (Figura 14), el cual fue calibrado antes de iniciar la prueba. El espesor real de la película se obtuvo por diferencia entre los valores del espesor con película y sin ella. Los resultados se expresaron en mm (González et al., 2011).



Figura 14. Micrómetro digital Mitutuyo IP65.

4.4.1.2. Propiedades de barrera

- *Determinación de permeabilidad*

La evaluación de este parámetro se realizó a través del método de la técnica gravimétrica de la ASTM E-96,88 con algunas modificaciones realizadas por Mc-Hugh *et al.* (1993) citado en Espino-Díaz *et al.* (2010).



Dentro de las celdas de prueba de 8.4 cm de diámetro se colocó cloruro de calcio anhidro (CaCl_2) hasta la mitad del volumen de éstas para generar una humedad relativa (HR) de 0% en el interior. Las películas fueron desprendidas de la placa de vaciado sobre la que estaban y se sujetaron sobre las celdas de prueba para generar un sistema cerrado y mantener las condiciones de hermeticidad y HR en su interior.

Por otro lado, se acondicionó una cámara ambiental que presentara una HR de 100% que se consiguió con un humidificador, una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Para comenzar con la prueba se registró el peso inicial de las celdas y éstas se introdujeron en la cámara ambiental en lapsos de 90 minutos entre los que se monitoreó la ganancia de peso y se supervisó la temperatura y HR con un higrómetro, la prueba finalizó hasta completar 12 horas. Los resultados obtenidos de ganancia de peso contra tiempo se graficaron y se obtuvo la pendiente de la regresión lineal la cual representa la tasa de transmisión de agua (WVTR).

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) se calculó mediante las ecuaciones 2 y 3:

$$WVP = \frac{WVTR \cdot x}{p_3 - p_2} \quad (2)$$

$$p_2 = P - (P - p_1) \exp\left(\frac{R \cdot T \cdot WVTR \cdot \Delta Z}{P \cdot D}\right) \quad (3)$$

Donde: WVP es la permeabilidad a vapor de agua (g/msPa), WVTR es la tasa de transmisión de vapor de agua, x es el espesor de la película (m), p_3 es la presión de vapor de agua dentro de la cámara (KPa), p_2 es la presión de vapor de agua corregida (KPa), P es la presión atmosférica total (KPa), p_1 es la presión parcial del vapor de agua en la superficie del desecante dentro de la celda ($p_1=0$), T es la temperatura absoluta durante la prueba (K), R es la constante universal de los gases ($\text{m}^3\text{KPa}/\text{gK}$), D es el coeficiente de difusión de vapor de agua en aire ($\text{m}^2/\text{día}$) y ΔZ es el espacio entre solución y película (m^2).



4.5. Pruebas *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides* en prototipos de envases activos.

4.5.1. Crecimiento del hongo

El crecimiento previo de *Colletotrichum gloeosporioides* se realizó de acuerdo al procedimiento descrito en el apartado 4.3.1.

4.5.2. Crecimiento del moho en medio adicionado con el prototipo

El medio PDA se mezcló con la matriz polimérica (relación de 1:1) y con el aceite esencial a diferentes concentraciones y se dejó solidificar en las cajas de petri. Las formulaciones de los diferentes prototipos de envases estudiados se eligieron con base en los resultados obtenidos en los objetivos 1 y 2, las cuales se muestran en la tabla 16.

Tabla 16. Formulaciones de prototipos de envases activos evaluados en pruebas <i>in-vitro</i>				
Matriz polimérica		Aceite esencial	Aditivos	Código
0.75%	Mucílago de nopal	3000 ppm Hoja Sen	0.5% Glicerol	M.75-H
1.0%				M1-H
0.75%	Alginato de sodio			A.75-H
1.0%				A1-H
0.75%	Mucílago de nopal	1000 ppm Orégano	0.5% Tween 80	M.75-O
1.0%				M1-O
0.75%	Alginato de sodio			A.75-O
1.0%				A1-O

4.6. Evaluación del efecto de la aplicación de los envases activos en la calidad de las chirimoyas.

4.6.1. Tratamiento de la muestra

Los frutos fueron seleccionados y clasificados, eliminando aquellos que presentaran cualquier enfermedad o daño mecánico. Posteriormente se aplicaron los tratamientos por el método de inmersión y finalmente se les realizó una caracterización que consistió en la evaluación física, química y



fisicoquímica de las chirimoyas de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.6.3.

4.6.2. Pruebas *in vivo*

4.6.2.1. Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo se esterilizó una solución de 0.5% de tween 80 y posteriormente se agregaron 2 mL sobre las cajas Petri que contenían el hongo previamente crecido por 10 días en agar PDA a 25°C, con el fin de ayudar a arrastrar las esporas con un bisturí esterilizado. El sobrenadante obtenido fue filtrado por medio de una gasa y un embudo esterilizado previamente.

Una gota de la solución de esporas se colocó en el cubreobjetos y con ayuda del microscopio se enfocó la cámara de Neubauer para realizar el conteo y determinar la concentración en esporas/mL.

4.6.2.2. Inoculación de chirimoyas

La inoculación del moho *Colletotrichum gloeosporioides* se realizó por el método de frotación con una solución de 9×10^5 esporas/mL en un lote de 75 chirimoyas, y se incubaron 24 horas a 25°C para permitir la implantación del hongo.

4.6.2.3. Aplicación de tratamientos en chirimoyas.

El lote con 75 chirimoyas se separó en grupos de 15 chirimoyas para su evaluación los días 0, 5, 10, 15, 20 de almacenamiento.

Tabla 17. Formulaciones de tratamientos aplicados en chirimoyas.				
Formulación			Código	
Matriz	Aceite	Aditivos	No Infectadas	Infectadas
_____	_____	_____	C	CI
0.75% Mucílago de nopal	_____	0.5% Glicerol	M	MI
0.75% Alginato de sodio	_____		A	AI
0.75% Mucílago de nopal	1000ppm Orégano	0.5% Tween 80	MO	M-OI
0.75% Alginato de sodio			AO	A-OI

La aplicación de los tratamientos se realizó mediante la inmersión de los frutos seleccionados en su respectiva formulación (Tabla 17) durante 5 min, al terminar el tiempo de inmersión, se sometieron a un proceso de secado con aire forzado a



temperatura ambiente, finalmente se almacenaron y se les realizó una caracterización en sus parámetros de calidad, físicos y fisicoquímicos.

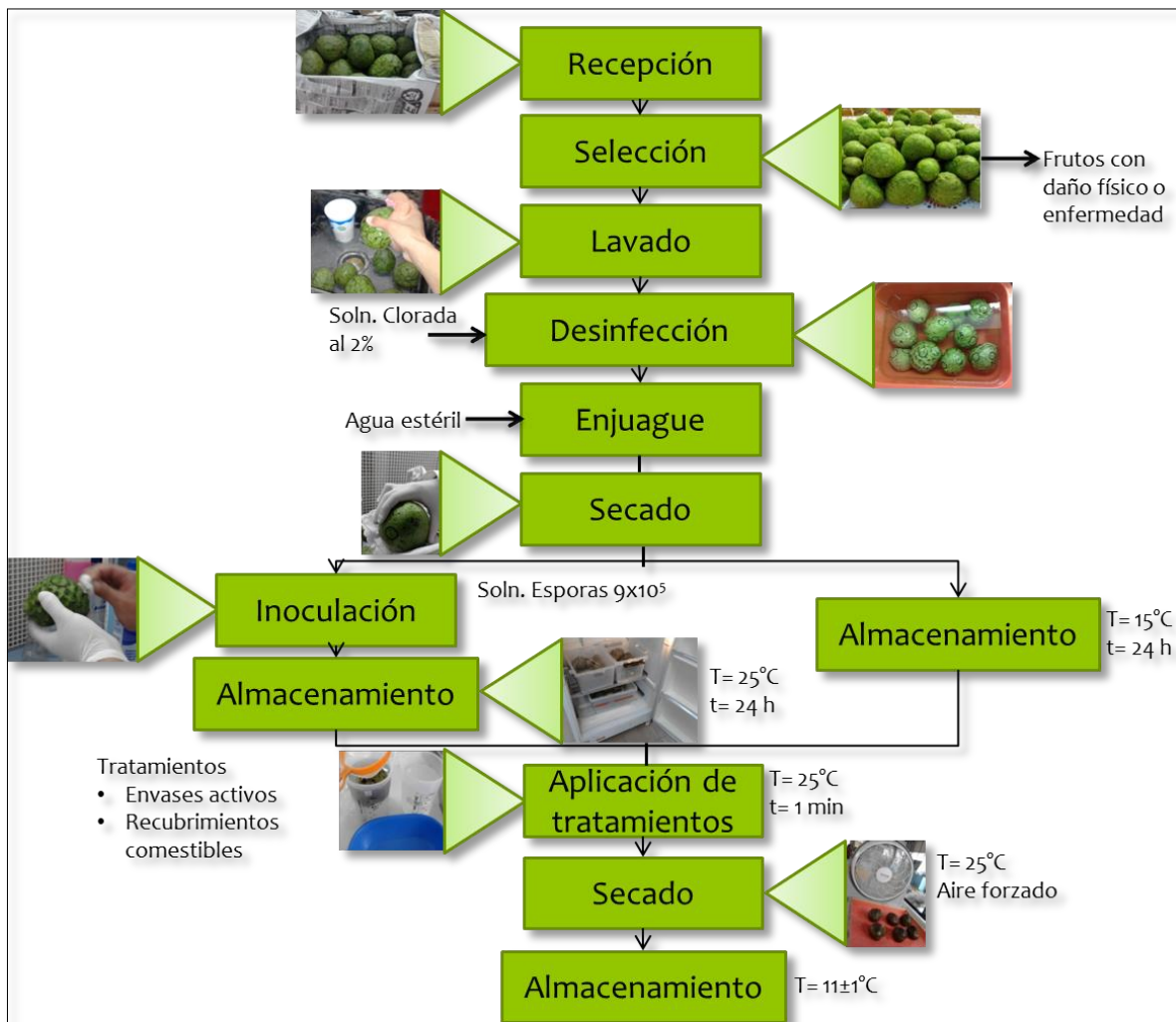


Figura 15. Diagrama de bloques del tratamiento de la muestra.

4.6.2.4. Técnicas analíticas

- Índice de deterioro

Los lotes de frutos de cada tratamiento se evaluaron visualmente durante los días de almacenamiento. Para el índice de deterioro se determinó el área del fruto dañado, incluyendo el ataque por hongos y daños mecánicos (Pérez *et al.*, 2002).

La escala hedónica se utilizó con el siguiente criterio: 1=sin daño, 2=bajo, 3=moderado y 4=severo, se consideró un daño bajo si el área de la superficie



dañada era inferior al 10%; y un daño severo cuando es superior al 20% (Pérez *et al.*, 2002).

Los resultados se expresan como el índice de deterioro (ID) a través la ecuación 4:

$$ID = (1n + 2n + 3n + 4n) \times N - 1 \quad (4)$$

Dónde: n: número de frutos clasificados en cada nivel de la escala hedónica, N: total de frutos analizados en cada tratamiento por día.

4.6.3. Pruebas de calidad

4.6.3.1. Aplicación de tratamientos en chirimoyas

Se realizó el mismo procedimiento del apartado 4.6.2.3 para los frutos sin infectar.

4.6.3.2. Técnicas analíticas

- Determinación de sólidos solubles

Los sólidos solubles se determinaron a través de la medición directa del jugo de la chirimoya con un refractómetro manual (ATAGO, 2011) (Figura 16) el cual se calibró de manera previa a la medición colocando una gota de agua destilada sobre la superficie del prisma y se ajustó la lectura a 0°Bx. Para iniciar la prueba se colocó una gota de jugo del fruto en el prisma del refractómetro y se leyó el porcentaje registrado, los resultados se reportan como °Brix (NMX-F-103-1982). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.



Figura 16. Refractómetro manual ATAGO 2011.

- Determinación de pH

La calibración del potenciómetro manual digital (HANNA, pHep1) (Figura 17) se realizó con las soluciones buffer, se enjuagó el electrodo con agua destilada y se secó antes de iniciar las determinaciones.



Figura 17. Potenciómetro pHep1

Se tomaron 10 mL de muestra filtrada, la cual se preparó previamente con 10 g de muestra del fruto homogeneizada y 90 mL de agua destilada, la medición del pH se realizó de manera directa al sumergir el electrodo en la solución a temperatura ambiente (NMX-F-317-S-1978).

- Determinación de acidez

La acidez se realizó de acuerdo al método de titulación directa con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N descrito en la Norma Mexicana NMX-F-102-S-1978, de tal manera que se introdujeron 10 g de muestra (preparada del mismo modo realizado para pH) en un matraz Erlenmeyer y se adicionaron 3 gotas de fenoftaleína al 1% como indicador y se llevó a cabo la titulación hasta observar un vire ligeramente rosa a pH 8.3. Los resultados se expresan como porcentaje de ácido málico.

- Determinación de firmeza

La firmeza del fruto se realizó por el método descrito en Barrera *et al.* (2012) a través de la utilización de un penetrómetro manual (Tr, FT327) (Figura 18) con una sonda cilíndrica de 8 mm de diámetro, la cual se colocó de manera perpendicular a la superficie de una de las caras laterales de la chirimoya. Los resultados se expresan como la fuerza necesaria para penetrar el fruto en Kg/cm².



Figura 18. Penetrómetro Tr, FT327



- Determinación de pérdida de peso

La pérdida de peso se determinó entre la diferencia del peso inicial y final de los frutos y se expresa como porcentaje de peso perdido del fruto (Barrera *et al.*, 2012).

- Determinación de color

La medición de color se realizó sobre la superficie del fruto por método descrito en el apartado 4.4.1.1.

4.7. Análisis estadístico

A los resultados obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de rango múltiple (Tukey) con un nivel de significancia de 0.05 con el programa estadístico SPSS versión 18, para determinar si existe diferencia significativa entre los tratamientos de estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN





5. Resultados

5.1. Evaluación de la actividad antifúngica de los aceites esenciales (AE).

Durante la prueba, el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* mantuvo un crecimiento micelial blanco grisáceo con masas de conidios color naranja-rosado que se vio afectado por la adición de los AE de Orégano y Hoja Sen (Tabla 18).

Las propiedades antifúngicas del aceite esencial de Hoja Sen se evaluaron en tres concentraciones sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* encontrándose que fue decreciente con respecto al tiempo (Figura 19).

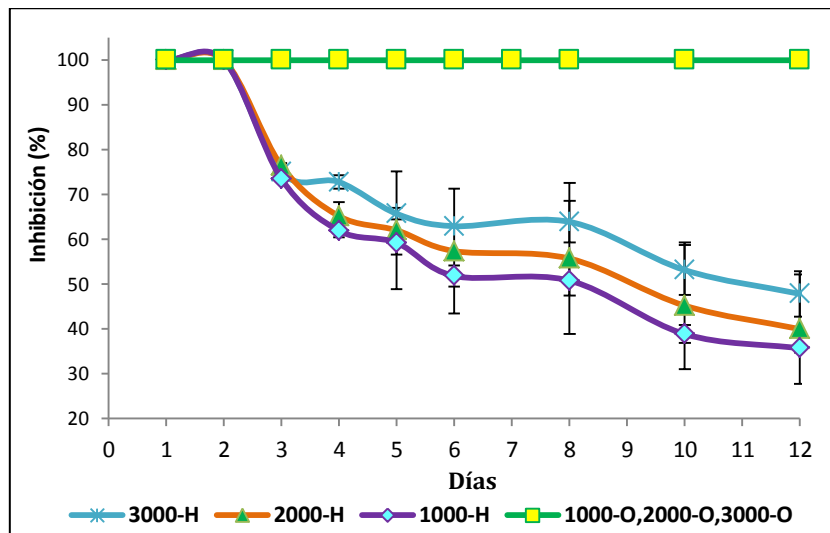


Figura 19. Efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* durante la prueba *in vitro* con aceites esenciales de Orégano (O) y Hoja Sen (H) a 1000, 2000 y 3000 ppm. Las barras verticales representan la desviación estándar.

En los primeros dos días de la prueba *in vitro* en las tres concentraciones de aceite esencial de Hojasén se inhibió por completo el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides*, comparado con el crecimiento exhibido por el hongo control de 5.25 mm radiales, las muestras añadidas con AE desde el día 2 presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto al crecimiento micelial del control.

En el día 3 ocurrió una disminución en la inhibición del crecimiento provista por los AE de manera similar entre ellos del 75%, que continuó en descenso hasta llegar a los 12 días de 35.7, 40 y 47.9% para las concentraciones de 1000, 2000 y 3000



ppm respectivamente, sin registrarse diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el porcentaje de inhibición con respecto a la concentración utilizada.

El efecto antifúngico de los aceites esenciales dependió principalmente de la cantidad y tipo de metabolitos secundarios que contienen. En el caso del Hoja Sen, existen diversos estudios sobre la actividad antifúngica de sus extractos; sin embargo, la investigación enfocada a sus aceites esenciales ha sido muy limitada.

Tellez y Estell (1997), en su trabajo de investigación identificaron los compuestos del aceite esencial de Hojasén de los cuales el β -eudesmol, α -eudesmol, limoneno, γ -eudesmol, mirceno, borneol y d-3-careno parecen ser los responsables de inhibir el crecimiento del moho en proporción mayoritaria.

La aplicación del aceite esencial de Orégano a las tres concentraciones estudiadas (1000, 2000 y 3000 ppm) mostró una inhibición total del crecimiento micelial del hongo durante toda la prueba (Figura 19 e).

La efectividad antifúngica del aceite esencial de Orégano se ha demostrado en numerosas investigaciones como es el caso del trabajo realizado por García *et al.* (2006) contra el moho *A. flavus* en donde reportó la actividad fungicida del aceite a partir de una concentración de 1000 ppm, similar a esta investigación.

Cueto (2008) demostró la inhibición de crecimiento micelial de *F. oxysporium* en concentraciones de AE de Orégano de 0.025-0.8 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Adicionalmente, Borboa *et al.* (2010) comprobó la actividad antibacteriana superior del AE de Orégano frente a *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*, en comparación con otros 18 AE, entre los que destacan AE de Tomillo y Canela.

Se presume que la actividad antifúngica de este aceite se debe a la presencia de 33 compuestos identificados entre los que se incluyen alcoholes, éteres, fenoles y una cetona. Los componentes mayoritarios son el timol, carvacrol, β -mirceno, α -terpineno, γ -terpineno y p-cimeno (Cueto, 2008).



Tabla 18. Evolución de crecimiento del moho *Colletotrichum gloeosporioides* durante la prueba *in vitro* con aceites esenciales de Hoja Sen y Orégano

	DÍA						
TRATAMIENTO	0	2	4	6	8	10	12
a) Control							
b) Hoja Sen 1000 ppm							
c) Hoja Sen 2000 ppm							
d) Hoja Sen 3000 ppm							
e) Orégano 1000, 2000, 3000 ppm							



Adicionalmente se han realizado investigaciones en las que han sido evaluados otros aceites esenciales en cuanto a su capacidad antifúngica frente al crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*, entre ellos se encuentran los aceites esenciales de Tomillo y de limón mexicano valuados por Bósquez *et al.* (2010), en donde las concentraciones de 0.06 a 0.104% para el AE Tomillo y de 0.08 a 0.1% para el AE de limón observaron el mínimo crecimiento de 0.5 mm al final de la prueba (5 días) con respecto a los 5 mm de crecimiento de su muestra control; no obstante, el AE esencial de Orégano de esta investigación inhibió de manera completa el crecimiento micelial hasta el día 12.

De esta manera, los aceites esenciales evaluados en esta investigación demostraron exhibir capacidad antifúngica; sin embargo, el aceite esencial de Orégano resultó ser el agente más efectivo para la inhibición del crecimiento del moho *Colletotrichum gloeosporioides* desde la concentración de 1000 ppm.

5.2. Caracterización de películas comestibles

5.2.1. Propiedades físicas

5.2.1.1. Color

- Luminosidad

Las películas con base en alginato de sodio presentaron valores de luminosidad de 83.54%, 2.44% superiores a los mostrados por las películas de mucílago de nopal que se ubicaron en un 81.1%, exhibiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) para este parámetro entre matrices poliméricas (Figura 20).

Por otra parte, no existió variación de luminosidad entre las tres concentraciones evaluadas para la matriz polimérica de alginato de sodio; sin embargo, las películas conformadas por mucílago de nopal, al aumentar las concentraciones las luminosidades manifestaron una tendencia en decremento, siendo la concentración al 1% la que presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con un valor de 81.09% que representó 0.66% menor luminosidad a los valores exhibidos a una concentración de 0.5% y 0.75%.

Este comportamiento se le adjudica a la adquisición de una apariencia más blanquecina al absorber agua en la matriz, lo que se refleja en los valores mayores



de luminosidad (Abraján, 2008). De este modo, los valores elevados de luminosidad presentados por las películas comestibles para las dos matrices poliméricas muestran la alta absorción de agua dentro de la estructura del gel.

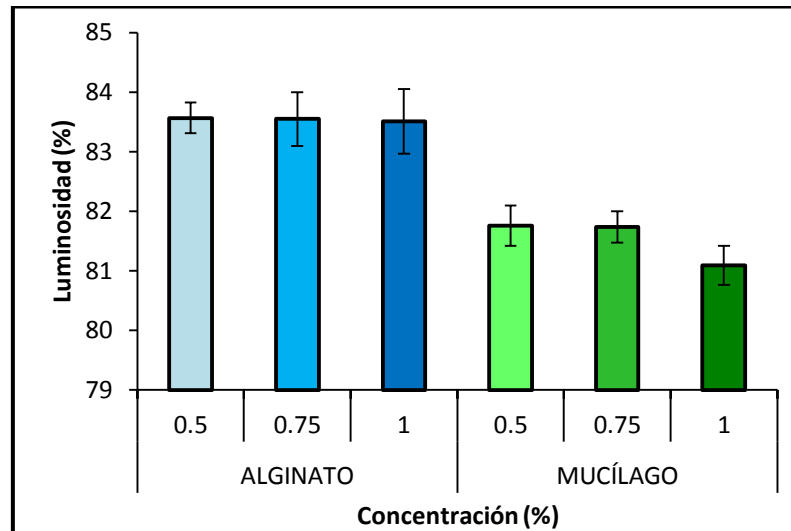


Figura 20. Luminosidad de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Los resultados reportados por Abraján (2008) para las películas de mucílago de nopal al 3% mostraron una notable disminución de luminosidad del 14.4% comparándolas con las películas al 1% de esta investigación, lo que confirma la tendencia en descenso de este parámetro al aumentar la concentración del polisacárido.

Con respecto a la matriz de alginato de sodio, Galus y Lenart (2013) reportaron valores de luminosidad de 91.05% en películas de alginato de sodio al 1.25% que mostraron un 7.5% superior comparado con los valores obtenidos en este trabajo.

- Croma

El croma de las películas (Figura 21) en general representó una saturación o pureza de color muy baja tendiendo a los grises; sin embargo, es importante señalar que debido a los altos valores de luminosidad, este no es un parámetro que afecte la apariencia visual al aplicarse en la superficie del fruto.

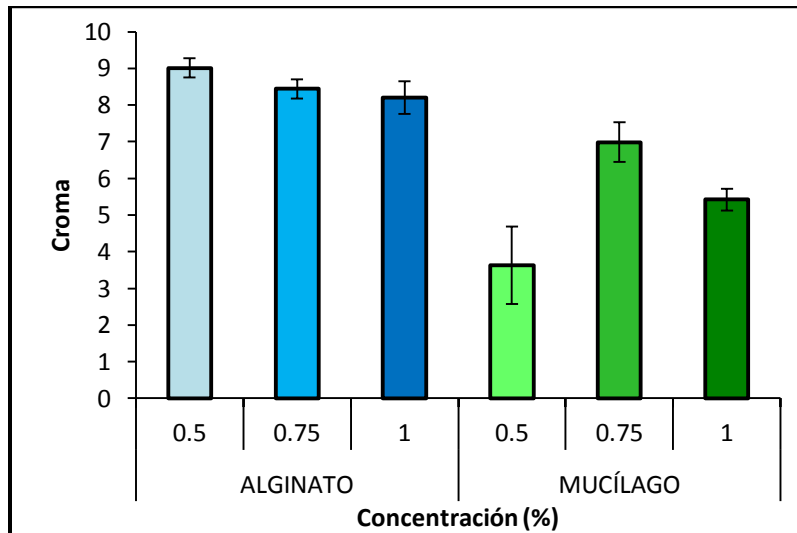


Figura 21. Croma de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Las películas elaboradas con alginato de sodio presentaron un valor promedio de croma de 8.5 exhibiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con el valor inferior de 5.4 mostrado por las de mucílago de nopal.

Entre concentraciones, las películas de alginato de sodio no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) para este parámetro; las películas de mucílago de nopal mostraron una tendencia decreciente en las concentraciones de 0.75 y 1%, no obstante la concentración de 0.5% mostró un valor más bajo de 3.6, por lo que, para esta matriz la concentración de 0.75% presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con las de 0.5 y 1%.

Abraján (2008) reportó valores de croma de 28.7 en películas de mucílago de nopal, los cuales se encuentran 23.4 unidades por encima de los valores obtenidos en esta investigación.

García *et al.* (2009) explica que un color es más sucio cuando más se va acercando a la escala de grises, siendo su tipo de tonalidad cada vez más indefinido, llegando a ser grises blancos o negros. De este modo, las películas comestibles evaluadas en esta investigación, al presentar valores altos de luminosidad, como se mencionó anteriormente, adquirieron una apariencia más blanquecina, provocando una



pureza de color mínima lo que se reflejó directamente en los altos valores de croma reportados.

- Tono

Las tonalidades mostradas por las películas de alginato de sodio se ubicaron en un valor promedio de 292.5 °hue inclinado al campo de los azules. Por su parte, las de mucílago de nopal mostraron un valor promedio de 77.2 °hue, exhibiendo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la matriz de alginato de sodio, lo que las situó en tonalidades amarillo rojizas, resultado de un probable pardeamiento ocurrido en su proceso de transformación o secado (Figura 22).

Por otro lado, no se presentó efecto significativo ($p \geq 0.05$) con el incremento de la concentración para este parámetro.

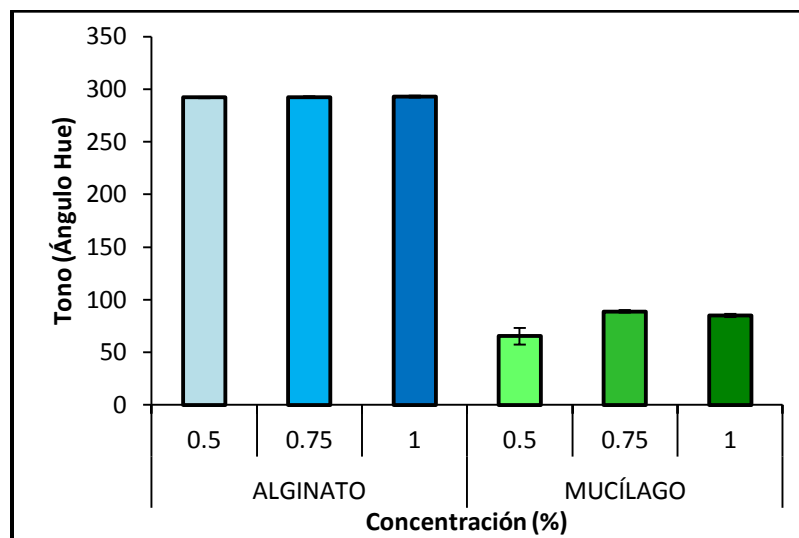


Figura 22. Tono de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Los resultados obtenidos en esta investigación para las películas con base en mucílago de nopal fueron similares a los reportados por Abraján (2008), ya que sus películas de mucílago de nopal tuvieron un promedio de 70.8°hue a 52% de Humedad Relativa.

Este parámetro es de suma importancia al definir el tipo de fruto al que se necesite recubrir ya que el tono del recubrimiento puede afectar las características visuales



de su superficie. Sin embargo, debido a los valores elevados de luminosidad, el tono no se percibió de manera visual y por lo tanto no constituiría afección alguna sobre el color original del fruto al que se requiera aplicar el recubrimiento.

De los tres parámetros evaluados de color se puede decir que la película comestible con base en alginato de sodio al presentar los valores de luminosidad y pureza más altas en cualquiera de sus concentraciones, comparada con la matriz de mucílago de nopal, representa la mejor alternativa de aplicación como vehículo del agente bioactivo para la formación de los envases activos.

5.2.1.2. Transparencia

Las películas conformadas por alginato de sodio mostraron una transmitancia promedio de 70.6% (Figura 23), presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a las películas de mucílago de nopal que tuvieron valores de 42.4%. Lo anterior posiciona a las películas de alginato de sodio con la mayor transparencia en cualquiera de sus concentraciones en comparación con las de mucílago de nopal.

Por otro lado, ocurrió una tendencia en decremento de transmitancias al aumentar las concentraciones de las dos matrices poliméricas, lo cual generó diferencia significativa entre ellas ($p \leq 0.05$).

Valle et al. (2008), en su investigación con películas de CMC y goma arábiga reportaron valores de transmitancia de 80.76%; además las películas de HPMC de Pastor (2010) presentaron transmitancias de 80.01 %, lo que representó un 10.2% y 9.45% superiores respectivamente a los valores obtenidos por las películas evaluadas en el presente trabajo.

Los valores reportados por Abraján (2008), para sus películas de mucílago de nopal a una HRE de 52%, fueron de 70%, 27.56% superior a las películas de la misma matriz en esta investigación, este resultado indicó una deficiente transmisión de luz a través de la película por lo que, para el parámetro de transparencia, las películas de mucílago de nopal de esta investigación presentaron características inferiores en comparación con las de alginato de sodio.

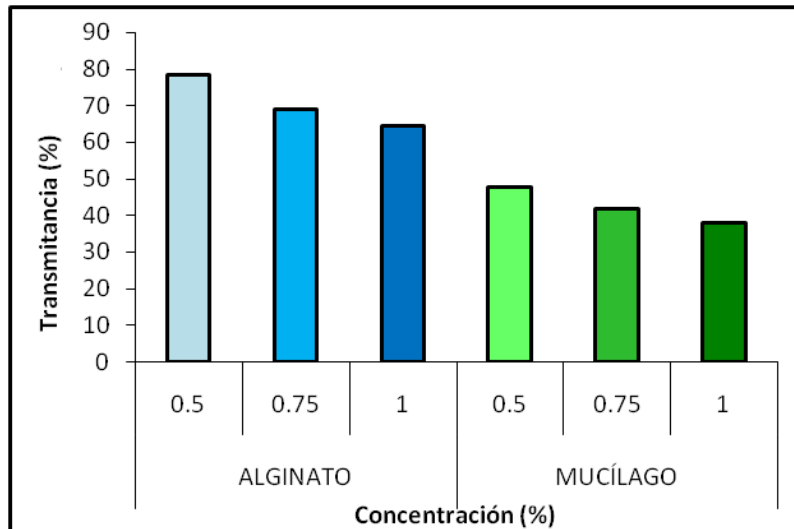


Figura 23. Transmitancia de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Abraján (2008) afirma que este parámetro puede dar indicios indirectos de la estructura de la película: estructuras rugosas, generalmente son más opacas, es decir, menos transparentes. Lo anterior confirma que la estructura del mucílago de nopal presenta una estructura más rugosa que la del alginato de sodio al estar formada por ácido galacturónico y ramnosa como unidades centrales y cadenas laterales de un esqueleto formado de β -galactosa, el cual se encuentra unido a ramnosas en el eje central, y ramificaciones laterales de arabinosa, xilosa y galactosa.

De acuerdo a los resultados anteriores se concluyó que la matriz de alginato de sodio al 0.05% presentó las mejores características de este parámetro; sin embargo, se puede afirmar que las películas de alginato de sodio presentaron características de transparencia adecuadas en todas sus concentraciones debido a que el porcentaje de transmitancia fue lo suficientemente elevado para permitir el paso de luz a través de la película.

5.2.1.3. Espesor

Las películas de alginato de sodio exhibieron espesores de película de 0.046 mm similares al 0.043 de mucílago de nopal por lo que no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en este parámetro por el cambio de matriz (Figura 24).



Por su parte, el espesor guardó una relación directa al incremento de la concentración de las matrices poliméricas en la película comestible; sin embargo, este aumento no generó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las tres concentraciones estudiadas.

El espesor de película de alginato de sodio al 1.25% reportado por Galus y Lenart (2012) fue de $1.25E-2$ mm, lo que difiere de los $5.0E-2$ mm de la concentración al 1% de la presente investigación lo que pudo deberse a la dependencia que existe con el método de preparación y las condiciones de secado, así como de la fuente botánica y grado de madurez de la planta de donde se realizó la extracción, ya que esto aporta a su vez una variante en la proporción de las dos moléculas del polisacárido (ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico y ácido $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico) (Fenemma,2000).

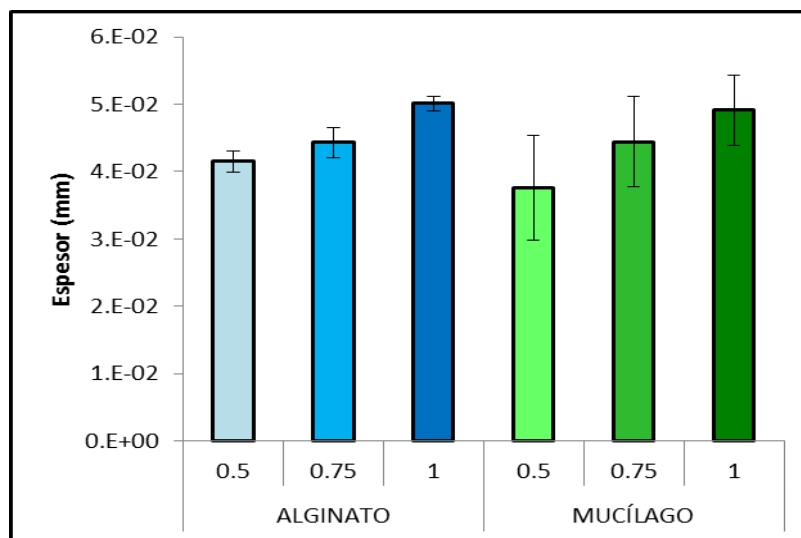


Figura 24. Espesor de películas comestibles con base en alginato de sodio y mucílago de nopal a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Por otro lado Espino-Díaz *et al.* (2010) reportaron un espesor de $1.09E-1$ mm a una concentración de mucílago de nopal de 4% que sería similar al probable valor obtenido de $8.4E-2$ mm si se proyecta la tendencia de espesores exhibidos por las películas de esta investigación.

El espesor de la película es un parámetro crucial en el cálculo de las propiedades mecánicas y de permeabilidad al vapor de agua (Galus y Lenart, 2013). Esto es debido a la relación directa que guarda con la concentración de la matriz



polimérica, es así que, en parámetros como la permeabilidad a vapor de agua se requirieron mayores espesores de película para obtener las mejores características del parámetro mientras que en el caso de la transparencia resultó preferible el espesor menor. De este modo, este parámetro proporcionó una selección secundaria con respecto a los demás parámetros.

5.2.2. Propiedad de barrera

5.2.2.1. Permeabilidad a vapor de agua (PVA)

Las películas de alginato de sodio exhibieron permeabilidades promedio de 8.84×10^{-11} g/msPa (Figura 26), 1.150×10^{-10} unidades por debajo de la permeabilidad registrada por las de mucílago de nopal (2.034×10^{-10} g/msPa) por lo que se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la PVA de las diferentes películas, siendo la película a 1% de alginato de sodio la que mostró la menor PVA y la de 0.5% de mucílago de nopal la de mayor PVA (Figura 25).

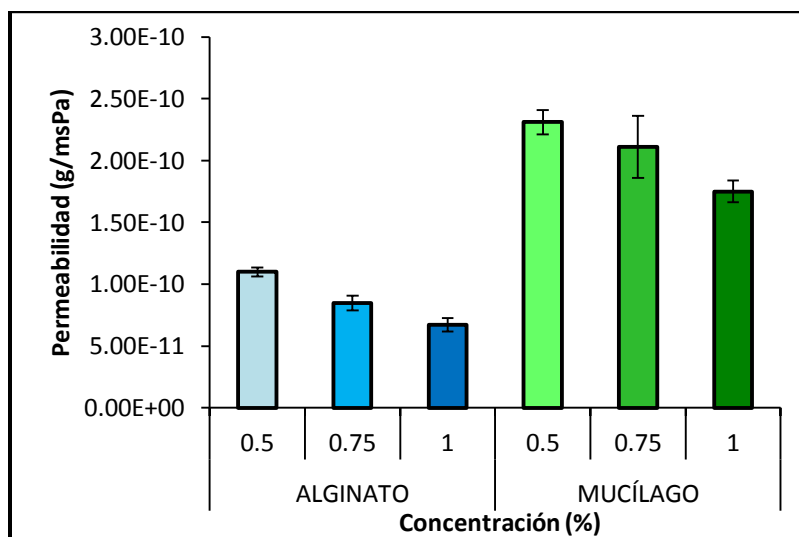


Figura 25. Permeabilidad a vapor de agua de películas comestibles con base en alginato de sodio (A) y mucílago de nopal (M) a diferentes concentraciones (0.5, 0.75 y 1%). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Por otro lado, el incremento de concentración de las matrices provocó una tendencia descendente en los valores de permeabilidad, y con ello diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre ellas.

El comportamiento de las películas de alginato de sodio, al igual que en el caso de espesor, se atribuye a los dos tipos de unidades monoméricas: el ácido β -D-manurónico y el ácido α -L-gulurónico los cuales forman un gel por



entrecruzamiento a través de enlaces covalente o iónicos. Este proceso de entrecruzamiento al finalizar el secado genera una estructura que limita en una mayor proporción el paso del vapor de agua a través de la película comparada con el mucílago de nopal (González, 2009).

Los valores presentados por Abraján (2008) más cercanos a los obtenidos en esta investigación fueron de $8.9E-10$ g/msPa a una Humedad Relativa de 33.9%, los cuales se encontraron por arriba de los obtenidos en esta investigación (2.034×10^{-10} g/msPa) para las películas de mucílago de nopal. Lo mismo sucedió con los valores reportados por Espino-Díaz *et al.* (2010) con permeabilidades de $1.3E^{-9}$ g/msPa.

En el caso de las películas con base en alginato de sodio, Galus y Lenart (2013) reportaron permeabilidades de $8.4E^{-11}$ g/msPa que coincide con los valores presentados en esta investigación.

En el proceso de la permeabilidad de un film están involucrados fenómenos de adsorción de agua en la capa en contacto con la mayor HR, de difusión a través del grosor del film y de desorción en la capa en contacto con la menor HR. Todo esto conlleva la ganancia de humedad de la película y el establecimiento de un gradiente de concentración de agua en el mismo (Abraján, 2008). Este gradiente de concentración debe ser limitado por dicha película para evitar la pérdida de humedad del fruto que se necesite recubrir, por esta razón la matriz polimérica con base en alginato de sodio presentó las mejores características de este parámetro en cualquier de sus concentraciones al disminuir en mayor medida la transferencia de humedad; sin embargo, la matriz de mucílago de nopal también exhibió permeabilidades dentro del rango reportado en otras investigaciones.

5.3. Evaluación de la actividad antifúngica de los prototipos de envases activos.

Los prototipos evaluados presentaron una actividad antifúngica sobresaliente, ya que todos exhibieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) desde el día 2 con respecto al control (Tabla 19).

Durante la prueba, la muestra control manifestó un crecimiento micelial apical típico del moho *Colletotrichum gloeosporioides*, con una tendencia de crecimiento



de colonia circular blanca grisácea y formación de acérvulos con conidios color naranja-rosado sobre el medio de cultivo PDA (Tabla 19).

En los prototipos con aceite esencial de Orégano ocurrió una homogeneización insuficiente para formar un tamaño de partícula característico de emulsiones, esto se evidenció por el cambio en las propiedades ópticas del aceite al solidificarse el medio ya que las micelas de este se tornaron blanquecinas resultado de una posible resinificación de terpenos que ocurre al ponerlos en contacto con altas temperaturas. Cabe resaltar que esto no influyó en su acción antifúngica.

La adición de las matrices poliméricas al medio PDA provocó alteraciones en el crecimiento normal y apariencia del moho al adaptarse a las nuevas condiciones, dichas alteraciones se manifestaron principalmente en una disminución notable de la cantidad producida de masas naranjas de conidios. Se ha demostrado que los factores externos –como la composición de los medios de cultivo, el pH y la temperatura- influyen profundamente en la composición de las paredes de los hongos y en su índice de esporulación (Alexopoulos y Mims, 1985).

El diferente aceite esencial (AE) utilizado ejerció una influencia importante sobre el crecimiento micelial del hongo. La inhibición producida por el AE de Orégano presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la causada por el AE de Hoja Sen desde el día 3 para los prototipos con la matriz de mucílago de nopal y desde el día 4 en aquellos con la matriz de alginato de sodio, esta inhibición provocada por el AE de Hoja Sen continuó disminuyendo hasta llegar al día 8 a los descensos de 40.5% y 36.6% para los prototipos de cada matriz comparándolos con la inhibición exhibida por el AE de Orégano (Figura 26).

Los resultados concuerdan con investigaciones de Cueto (2008) y Tellez y Estell, (1997), quienes encontraron que la mayor efectividad de inhibición de crecimiento sobre *Colletotrichum gloeosporioides* la proporciona el timol, carvacrol, β -mirceno, α -terpineno, γ -terpineno y p-cimeno, componentes mayoritarios del AE de Orégano, en comparación del β -eudesmol, α -eudesmol, limoneno, γ -eudesmol, mirceno, borneol y d-3-careno, presentes en el AE de Hoja Sen.



Tabla 19. Evolución de crecimiento del moho *Colletotrichum gloeosporioides* durante la prueba *in vitro* con envases activos

TRATAMIENTO	DÍA					
	0	2	4	6	8	10
Control						
M-75-0						
M-1-0						
A-75-0						
A-1-0						

(Matriz: M=mucílago de nopal, A=alginate de sodio; Concentración: .75=0.75%, 1=1%; Aceite esencial: O=Orégano, H=Hoja Sen)



Tabla 19. Evolución de crecimiento del moho *Colletotrichum gloeosporioides* durante la prueba *in vitro* con envases activos (Cont)

TRATAMIENTO	DÍA					
	0	2	4	6	8	10
Control						
M-75-H						
M-1-H						
A-75-H						
A-1-H						

(Matriz: M=mucílago de nopal, A=alginate de sodio,; Concentración: .75=0.75%, 1=1%; Aceite esencial: O=Orégano, H=Hoja Sen)



En cuanto a la matriz aplicada, los prototipos con AE de Hoja Sen y alginato de sodio generaron una mayor inhibición micelial comparado con los adicionados con mucílago de nopal ya que desde el día 5 se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre matrices y al día 8 la matriz de mucílago de nopal mostró un decremento promedio de inhibición micelial de 10.6% comparado con la de alginato de sodio, esto posicionó a la formulación mucílago de nopal- Hoja Sen con el porcentaje de inhibición más bajo con un 52.8% final.

Por otro lado, no se presentó efecto entre matrices en los prototipos con AE de Orégano al permitir una inhibición micelial completa por parte del aceite esencial en toda la prueba.

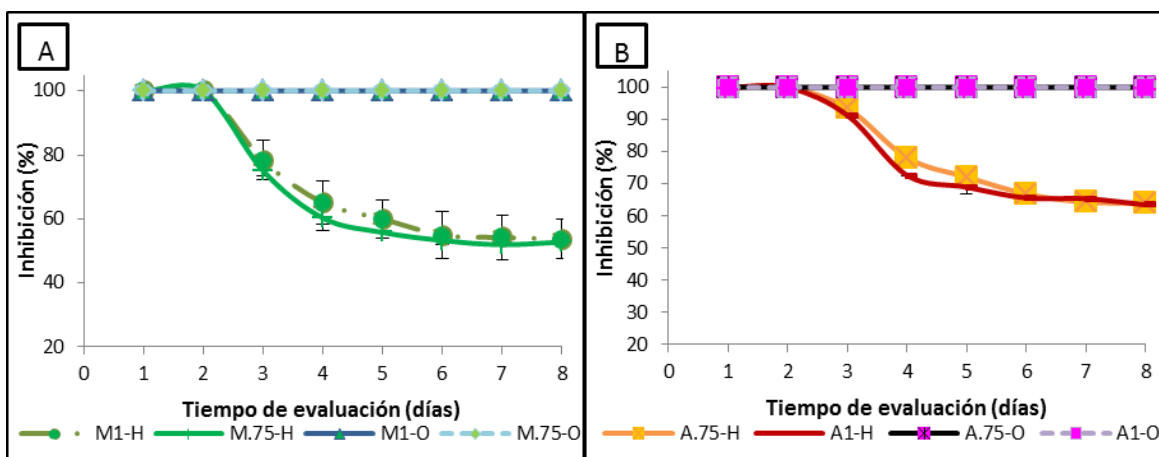


Figura 26. Efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* durante prueba *in-vitro* con prototipos de envases activos: (A) Prototipos con base en mucílago de nopal, (B) Prototipos con base en alginato de sodio; a diferentes concentraciones 0.75 y 1%; adicionados con 3000 ppm de AE de hoja Sen (H) y 1000ppm de AE de Orégano (O). Las barras verticales representan la desviación estándar.

Los recubrimientos comestibles en los envases activos se utilizan como vehículo de aditivos, los cuales pueden proporcionar funciones más específicas, por ejemplo, actividad antimicrobiana. A través de este enfoque, es posible lograr una mayor eficacia si los agentes antimicrobianos son liberados lentamente en la superficie aplicada y a la vez permanecer en concentraciones eficaces en periodos de tiempo prolongados (Benavidez *et al.*, 2012; Ramos *et al.*, 2010).

Debido a lo anterior, la mayor efectividad antifúngica producida por los prototipos con la matriz de alginato de sodio se atribuye a un entrecruzamiento de sus cadenas de bloques ácido $\beta(1,4)$ -D-manosilurónico y $\alpha(1,4)$ -L-gulosilurónico tales que



permitieron una liberación prolongada de los componentes activos de los AE y a su vez una inhibición más elevada con respecto a la matriz de mucílago de nopal. Este comportamiento se demostró de manera visual en los prototipos con AE de Orégano ya que las micelas blancas del aceite esencial en aquellos con la matriz de mucílago de nopal se fueron desvaneciendo durante la prueba mientras que la matriz de alginato de sodio las contuvo en su estructura en un lapso mayor.

Así mismo, los porcentajes de inhibición obtenidos por los prototipos con matriz de alginato de sodio fueron similares a los alcanzados en las pruebas en las que se evaluaron sólo los aceites esenciales, por lo que la adición de la matriz polimérica no afectó su acción antifúngica.

Los resultados obtenidos en esta investigación difieren a los reportados por Benavides *et al.* (2012), ya que la actividad antibacterial frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* con el aceite esencial incorporado a la matriz de alginato de sodio fue menor que la demostrada con el aceite esencial de Orégano puro. Esto puede deberse a los diferentes microorganismos estudiados y a los grados de entrecruzamiento generados al adicionar iones calcio en su investigación, dicha modificación en la matriz propició una mayor inmovilización de los compuestos volátiles de los aceites esenciales.

Por su parte, Rosales-Oballos *et al.* (2012) evaluaron la actividad antimicrobiana de películas de alginato de sodio con nisina, aceite esencial de Ajo u Orégano frente a *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*, al igual que en esta investigación, las películas de alginato de sodio por sí solas no presentaron un efecto antimicrobiano significativo. En contraste, la adición de nisina y aceites esenciales mostraron actividad antifúngica, siendo la formulación de nisina la que exhibió mayores halos de inhibición para las tres bacterias; las formulaciones con matriz de alginato de sodio y aceite esencial de Orégano presentó efecto antifúngico frente a *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes*.



Por otra parte, Rojas-Graü *et al.* (2007), comprobó la actividad antibacteriana de películas de alginato de sodio con puré de manzana adicionadas con aceites esenciales y compuestos activos de dichos aceites, de los cuales las dos formulaciones que presentaron la actividad antibacteriana más alta fueron la compuesta por aceite esencial de Orégano y la adicionada con carvacrol como compuesto activo del aceite esencial de Orégano.

Como se mencionó, las aportaciones científicas referentes a envases activos con los compuestos evaluados en esta investigación están enfocadas sólo a su efectividad frente a una variedad de bacterias, en esta investigación se probó su efectividad también en el campo de los mohos, siendo los prototipos adicionados con aceite esencial de Orégano con cualquiera de las matrices poliméricas los que representaron la mejor alternativa para inhibir el crecimiento micelial del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* en su totalidad en un periodo de prueba de 10 días.

1.1. Evaluación del efecto de la aplicación de tratamientos en la vida útil de las chirimoyas.

1.1.1. Pruebas de calidad.

1.1.1.1. Pérdida de peso

La pérdida de peso final durante el almacenamiento de las chirimoyas osciló entre el 12 y 23.4% (Figura 27).

Durante los primeros 10 días las chirimoyas control mantuvieron un pérdida de peso promedio de 1.8% en intervalos de medición de 2 días; del día 10 al 15 ocurrió la mayor pérdida de peso de todo el periodo de almacenamiento del 11% y, finalmente, los últimos 4 días eliminaron el menor porcentaje de humedad y compuestos responsables de la disminución de peso, registrándose al final del almacenamiento un valor de 23.5%.

Las chirimoyas con aplicación de los tratamientos de mucílago de nopal-AE de Orégano y de alginato de sodio mantuvieron la misma tendencia de pérdida de peso en comparación con las control durante los primeros 10 días de almacenamiento, pero a partir del día 12 las chirimoyas con los tratamientos mencionados disminuyeron dicha pérdida de manera significativa ($p \leq 0.05$) hasta



alcanzar los 8.1 y 11.5% menor pérdida respectivamente al día 20, comparadas con las chirimoyas control.

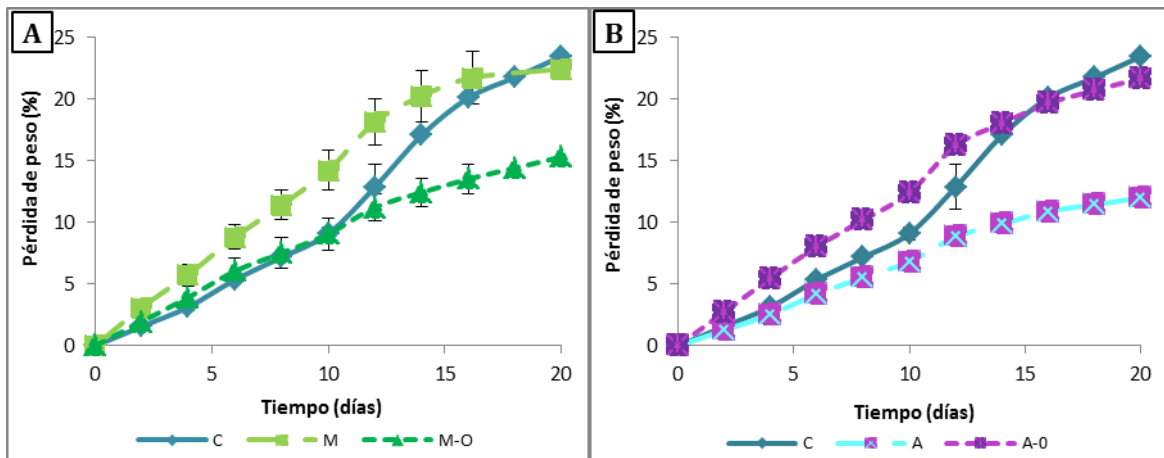


Figura 27. Porcentaje de pérdida de peso de chirimoyas almacenadas en refrigeración (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

De manera similar a esta investigación, en el trabajo de Valero *et al.* (2013), los tratamientos con alginato de sodio al 3% disminuyeron significativamente ($p \leq 0.05$) la pérdida de peso de 4 variedades de ciruelas recubiertas con alginato de sodio al 3%.

Los resultados reportados por Abraján (2008) para los cubos de jícama recubiertos con mucílago de nopal concuerdan con los obtenidos en esta investigación para las chirimoyas con aplicación del recubrimiento sin AE, ya que los frutos recubiertos presentaron una mayor pérdida de peso en comparación con los que no lo estaban, comportamiento que le adjudicó a las propiedades higroscópicas del propio mucílago de nopal.

Adicionalmente, Ruiz (2009) obtuvo la misma tendencia en la evaluación de recubrimientos comestibles de mucílago de nopal adicionados con aceite de oliva-glicerol o polietilenglicol-glicerol en fresas, ya que los frutos control de su investigación exhibieron al día 21 una pérdida de peso del 24.5%, lo que representó 3% inferior comparado con el tratamiento que presentó una menor pérdida, es decir, el de mucílago y aceite de oliva.



La pérdida de peso se debe a la eliminación de agua causada por los procesos de transpiración y respiración. Por un lado se debe a la pérdida de carbono en el proceso de respiración, ya que la chirimoya presenta una alta composición de agua y carbohidratos, lo que unido a la presencia de lenticelas y estomas en su epidermis y a su elevado metabolismo, hacen que esta fruta esté sujeta a un elevado deterioro una vez cosechada; por otro lado, la pérdida de agua durante la transpiración es una de las causas más importantes del deterioro de las cosechas durante el almacenamiento (Barrera *et al.* 2012; Gardiazábal y Roserberg, 1993; Hardenburg *et al.*, 1988; Wills *et al.*, 1989).

La pérdida de agua es el resultado de la gradiente de presión de vapor de agua entre la atmósfera interna (espacios intercelulares saturados) y la atmósfera externa (menos saturados) (Naranjo, 2004). De esta manera, la permeabilidad al vapor de agua que ofrecieron los envases activos y recubrimientos comestibles es determinante y dependiente del material, concentración y de los aditivos utilizados ya que el recubrimiento comestible de mucílago de nopal provocó la mayor pérdida de peso de los frutos y, la menor permeabilidad de la matriz de alginato de sodio indujo el comportamiento opuesto.

Los resultados parecen indicar que la combinación aceite esencial-matriz polimérica disminuyó la transferencia de vapor hacia el exterior de las chirimoyas con el envase activo mucílago de nopal-AE de Orégano debido a que la difusión de éste a través de la película o recubrimiento sucede por medio de las zonas hidrofílicas y la incorporación de sustancias hidrofóbicas como los aceites esenciales, causan un comportamiento en contra de la transferencia de humedad.

Por lo anterior, el tratamiento de alginato de sodio sin la adición de AE esencial fue la mejor alternativa para retrasar la pérdida de peso de los frutos al transcurso de los 20 días de almacenamiento; hay que resaltar que, el envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano también disminuyó de manera significativa dicha pérdida en comparación con los frutos sin recubrir.



5.4.1.2. Color

- Luminosidad

Al transcurrir los 20 días de almacenamiento, todas las chirimoyas de manera independiente al tratamiento aplicado exhibieron una disminución típica de luminosidad causada por la maduración natural pos cosecha del fruto (Figura 28).

Las chirimoyas control mostraron el mayor descenso de este parámetro llegando a 29.3% en el día 20, valor que presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la mayoría de los tratamientos aplicados, excepto a los frutos con aplicación del recubrimiento de mucílago de nopal. Sin embargo, aquellos que manifestaron el menor descenso y fluctuación hasta el día 20 en comparación con los frutos control fueron los envases activos evaluados, tanto el de mucílago de nopal-AE de Orégano como alginato de sodio-AE de Orégano presentando 5 y 5.8% mayor luminosidad, respectivamente.

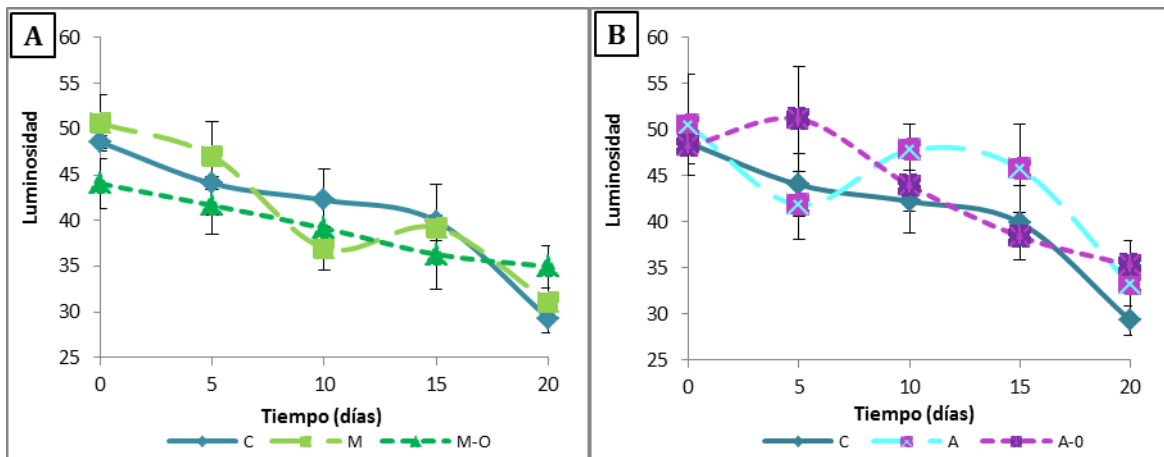


Figura 28. Cambios en la Luminosidad de chirimoyas almacenadas en refrigeración. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Los resultados reportados por Tovar-Gómez *et al.* (2011) para guanábanas tratadas con emulsiones de cera y 1-MCP concuerdan con los obtenidos en esta investigación ya que se observó un decremento en la luminosidad de los frutos a lo largo del almacenamiento con valores de luminosidad promedio de 43-45%. Este descenso en la luminosidad causado por el oscurecimiento de la cáscara se lo



atribuyen a la acción de polifenoloxidasas sobre los compuestos fenólicos presentes.

Lo anterior podría indicar que la adición del AE de Orégano sobre las dos matrices actuó de manera preventiva sobre la enzima polifenoloxidasa para evitar en un mayor tiempo su reacción sobre los compuestos fenólicos de la cáscara.

- Tono

Las chirimoyas control exhibieron una pérdida más acelerada de las tonalidades verdes, del día 10 en adelante ocurrió un descenso importante de este parámetro sobre la epidermis hasta un valor final de 76.7 °hue con prevalencia de tono marrón (Figura 29).

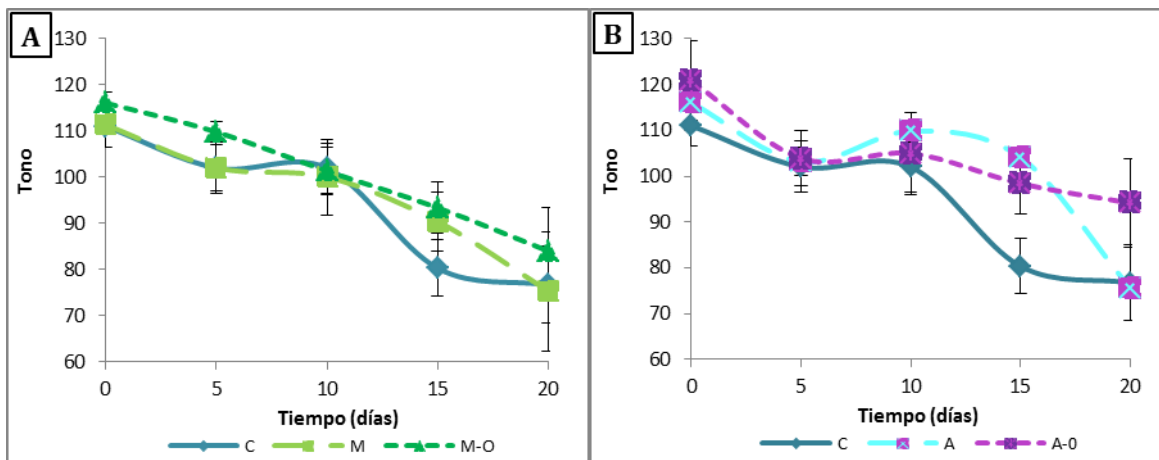


Figura 29. Cambios en el Tono (°Hue) de chirimoyas almacenadas en refrigeración. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Por otro lado, en este parámetro los envases activos fueron un factor importante para mantener en un mayor tiempo los tonos verdes ya que las chirimoyas con aplicación de los envases activos de mucílago de nopal-AE de Orégano y alginato de sodio-AE de Orégano exhibieron 7.3 y 17.4 °hue mayores, respectivamente con respecto a los frutos controles.

Tovar-Gómez *et al.* (2011), reportaron un valor inicial de °Hue en guanábanas oscilante en 118 unidades; sin embargo, a los nueve días de almacenamiento el oscurecimiento de la cáscara fue muy evidente debido a un descenso importante en



el valor de este parámetro, tal como ocurrió los últimos 5 días con las chirimoyas en esta investigación.

Al final de la fase de crecimiento e inicio de la maduración, el color de la epidermis comienza a cambiar hacia el color propio de la madurez, pasando de verde a verde amarillento. Se considera que está demasiado maduro cuando adquiere un tono marrón oscuro o negro (González *et al.*, 2010; Rivas, 2010).

Estudios realizados en la Universidad Católica de Valparaíso (1993), Undurraga-Martínez (1998) plantean que una síntesis de pigmentos carotenoides y una degradación de clorofila presente en las células de la epidermis son responsables del cambio de coloración del fruto.

De este modo, el tono en la epidermis de todas las chirimoyas, de manera independiente al tratamiento aplicado, se fue modificando durante el almacenamiento hasta perder por completo el tono verde sobre ella.

- Croma

Al transcurrir el lapso de almacenamiento las chirimoyas exhibieron un descenso gradual en el valor de cromina lo que representa una disminución de pureza de color conforme transcurrió el proceso de maduración (Figura 30).

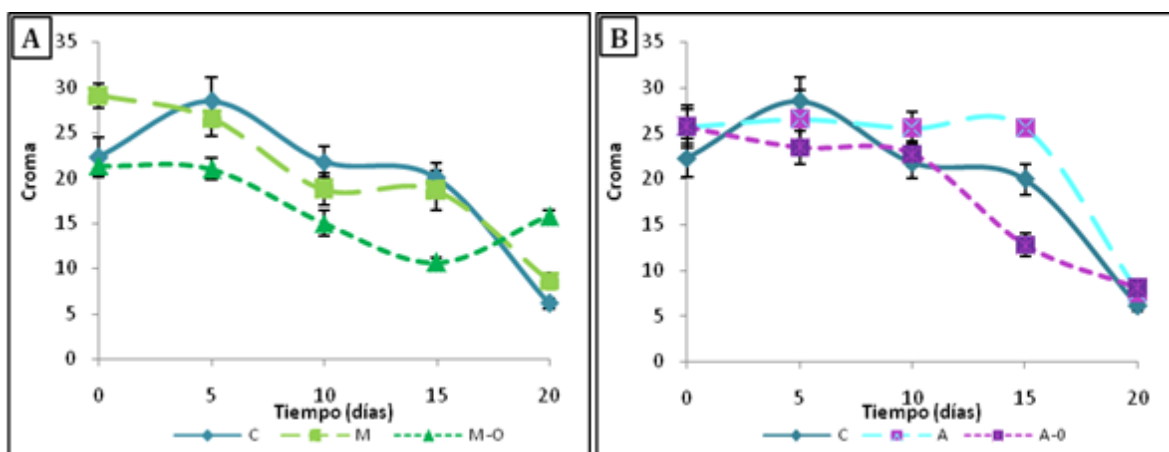


Figura 30. Cromina de chirimoyas durante el almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio.

Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.



Los frutos control presentaron su mayor disminución de pureza de color en los últimos 5 días de prueba con un decremento de 15.6 unidades llegando a un croma final de 6.11.

El caso de las chirimoyas con recubrimiento de mucílago de nopal fue similar al de los frutos control, ya que mantuvieron la misma tendencia de descenso que culminó con un valor de 8.6. Por otro lado, el envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano mantuvo el menor descenso de croma durante el almacenamiento llegando a un valor final de 15.8, las cuales exhibieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los frutos sin recubrir.

Los tratamientos con la matriz de alginato de sodio mantuvieron una tendencia similar constante durante los primeros 10 días, posterior a ello las chirimoyas con aplicación de recubrimiento de alginato de sodio tuvieron un descenso drástico del día 15 al 20 de 17.5 unidades hasta alcanzar el mismo croma exhibido por las chirimoyas control, mientras que los frutos con aplicación del envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano comenzaron su decremento de 14.6 unidades los últimos 10 días hasta un valor final de 8.1.

Por lo anterior, los dos envases activos evaluados fueron la mejor alternativa para disminuir en un mayor tiempo el deterioro del parámetro de color causado por el avance del proceso de maduración a lo largo del almacenamiento, ya que exhibieron un menor descenso de luminosidad y tono comparado con los frutos control.

5.4.1.3. Firmeza

Las chirimoyas control presentaron el 93% de descenso de su firmeza los primeros 5 días al registrar una resistencia a la ruptura de 1.6 Kgf/cm² y en los días posteriores esta se mantuvo constante hasta llegar a un valor de 1.2 Kgf/cm² al día 20 de almacenamiento (Figura 31).

Por su parte, las chirimoyas tratadas con la matriz de mucílago de nopal, al igual que las control, exhibieron su mayor descenso de firmeza los primeros 5 días y al día 20 alcanzaron una resistencia a la ruptura superficial de 1.95%, por lo que no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0.5$) con respecto a los frutos sin recubrir.

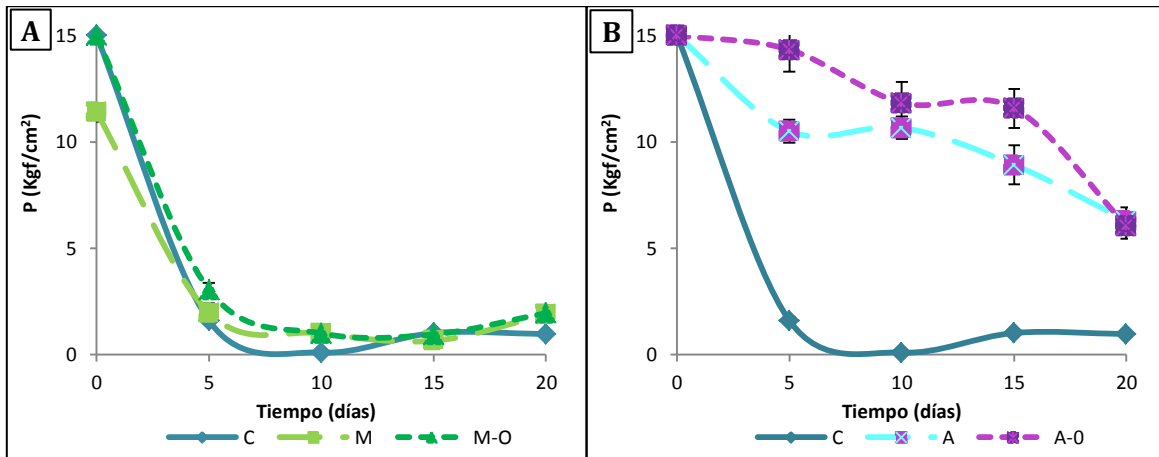


Figura 31. Cambios en la Firmeza de chirimoyas almacenadas en refrigeración. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Por otro lado, la aplicación de tratamientos con la matriz de alginato de sodio con y sin AE de Orégano retrasó la pérdida de firmeza de forma drástica. Las chirimoyas recubiertas con alginato de sodio presentaron un descenso inicial al día 5 del 30% el cual se mantuvo los siguientes 5 días y finalmente del día 10 al 20 llegaron a un descenso de firmeza del 58%. Sin embargo, las chirimoyas con aplicación de envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano presentaron la menor pérdida de firmeza durante los primeros 15 días y del día 15 al 20 exhibieron su mayor descenso del 59.7%. De este modo, estos dos tratamientos exhibieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), con un valor final de 6 Kg/cm², comparado con los valores obtenidos por los controles.

La pérdida de firmeza durante la maduración de los frutos es provocada por la acumulación de agua y debilitamiento de las paredes celulares. Este debilitamiento se debe en general, a la transformación de las protopectinas insolubles en pectinas solubles.

En anonáceas, el rápido ablandamiento de los frutos está relacionado con una alta velocidad de respiración (Palma et al., 1993), lo que coincide con los resultados obtenidos en esta investigación así como en los reportados por Bolívar-Fernández



et al., (2009) para el fruto de saramuyo el cual pertenece a la familia de la chirimoya.

Por su parte, Tovar-Gómez et al. (2011), reportaron una pérdida de firmeza drástica de las guanábanas desde el noveno día, lo que difiere con los resultados obtenidos en esta investigación ya que esta disminución ocurrió desde el día 5, lo cual confirma la variación en los cambios de maduración existentes aún en los frutos de la misma familia.

Con base en los resultados obtenidos se concluye que los tratamientos aplicados de mucílago de nopal fueron la mejor alternativa para permitir una disminución de firmeza característica de la maduración organoléptica de la chirimoya.

1.1.1.1. Sólidos solubles totales

Al transcurso de los 20 días de almacenamiento la tendencia de aumento de sólidos solubles totales de las chirimoyas fue evidente llegando a un rango de 17.7-22.4 °Bx en el último día de almacenamiento (Figura 32).

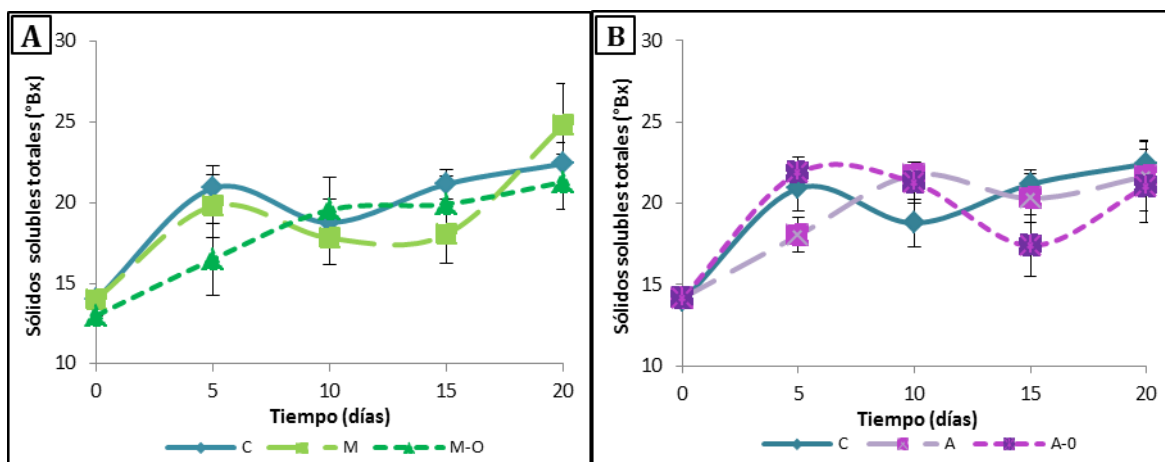


Figura 32. Sólidos solubles totales (°Bx) de chirimoyas durante pruebas de calidad en almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Las chirimoyas control, durante los primeros 5 días manifestaron su mayor incremento de 7 °Bx llegando a un valor de 21 °Bx, en los días subsecuentes el aumento fue mínimo hasta llegar a 22.4 °Bx en el día 20.



De los tratamientos con la matriz de mucílago de nopal, las chirimoyas con aplicación del envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano (M-O) mantuvieron un aumento progresivo de 3°Bx cada 5 días hasta llegar a 19.6°Bx a la mitad del periodo de almacenamiento, los siguientes 10 días mantuvieron un cambio mínimo hasta alcanzar los 21.3°Bx en el día 20. Las chirimoyas con aplicación del recubrimiento comestible de mucílago de nopal mantuvieron una tendencia similar a las chirimoyas Control llegando a 22.7°Bx en día 20.

Por otro lado, en los tratamientos con la matriz de alginato de sodio se observó un incremento bajo de sólidos solubles en las chirimoyas llegando a 17.7°Bx para las chirimoyas con aplicación del recubrimiento comestible y 18.2°Bx para los frutos con el envase activo en el día 20, los cuales presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) al obtener 4.5°Bx menos que los frutos no recubiertos.

Durante el crecimiento del fruto, los productos de la fotosíntesis son transportados y acumulados en éste. La forma normal de transporte de estos fotosintatos es la sacarosa. Parte de estos azúcares, una vez en el fruto, son usados en la síntesis de sustancias pécticas y otras, pero la mayoría se transforman en almidón, forma normal de almacenamiento (Coletto, 1994).

El cambio más marcado en la composición química de la chirimoya durante la madurez, es la disminución en el contenido de almidón y el aumento de azúcares en forma progresiva. Este incremento en el fruto otorgó un mayor dulzor, dado por la fructosa, glucosa y sacarosa, producto de la hidrólisis del almidón (Undurraga-Martínez *et al.*, 1998).

Existe una correlación entre el contenido de sólidos solubles totales y el sabor de la fruta, aunque existen diferencias entre variedades, la chirimoya madura alcanza un valor de 18 a 24°Bx (Sevillano, 2007), por lo que los valores obtenidos en la presente investigación se asemejan a los de la literatura.

Debido a lo anterior, para este parámetro, los tratamientos con la matriz de mucílago de nopal fueron la mejor opción para permitir la formación de sólidos solubles totales dentro del rango de aceptación organoléptica durante la maduración del fruto.



1.1.1.1. Acidez titulable y pH

La acidez titulable (proporción de acidez no combinada con cationes) es un parámetro bastante objetivo de la percepción detectada por los consumidores (Azcon-Bieto y Talon, 1996), mostrando que las chirimoyas no recubiertas (C) al día cero presentaron un 0.19% en contenido de ácido málico con un pH de 7 (Figura 33 y 34) y, resultado de una primera fase de estrés poscosecha, al día 5 ocurrió una síntesis de ácidos orgánicos con un incremento de 0.035% de acidez que se vio reflejado en una disminución de 1.3 unidades en pH. Los 10 días posteriores manifestaron un descenso en el contenido de ácidos orgánicos de 0.085% de ácido málico alcanzando nuevamente un pH de 7, finalmente al aproximarse a la senescencia ocurrió un incremento drástico de ácidos hasta alcanzar 0.36% de acidez y pH de 5.4, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a los demás tratamientos.

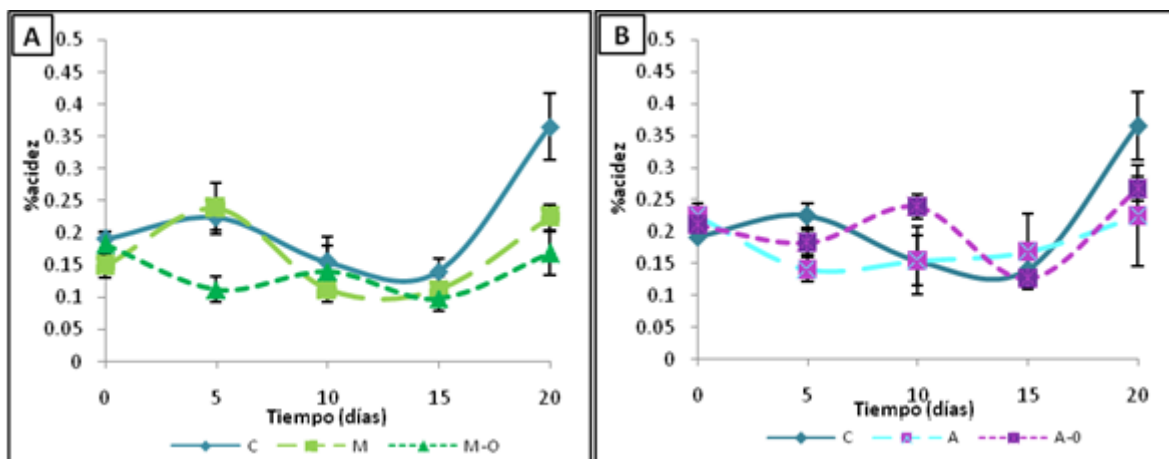


Figura 33. Cambios en la Acidez titulable de chirimoyas almacenadas en refrigeración. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Con respecto a los tratamientos con la matriz de mucílago de nopal, las chirimoyas con la aplicación del recubrimiento presentaron una tendencia similar en el contenido de ácidos orgánicos con respecto a las chirimoyas control, del día 15 al 20 mostraron un aumento de síntesis de ácidos orgánicos con un incremento de 0.11% alcanzando un pH de 6.1, esto representó un 0.14% menor contenido de



ácidos orgánicos en comparado con las chirimoyas Control al final del periodo de almacenamiento.

Sin embargo, la aplicación del envase activo con base en mucílago de nopal y AE de Orégano (M-O) mantuvo una mayor estabilidad en los niveles de ácidos orgánicos de las chirimoyas y, por ende, en su pH, logrando valores finales de 0.17% en el contenido de ácido málico y pH de 6.8, lo que indica que el aumento final de síntesis de ácidos orgánicos para su incorporación a las rutas metabólicas de la respiración no ocurrió de manera drástica como en el caso de las chirimoyas sin tratamiento.

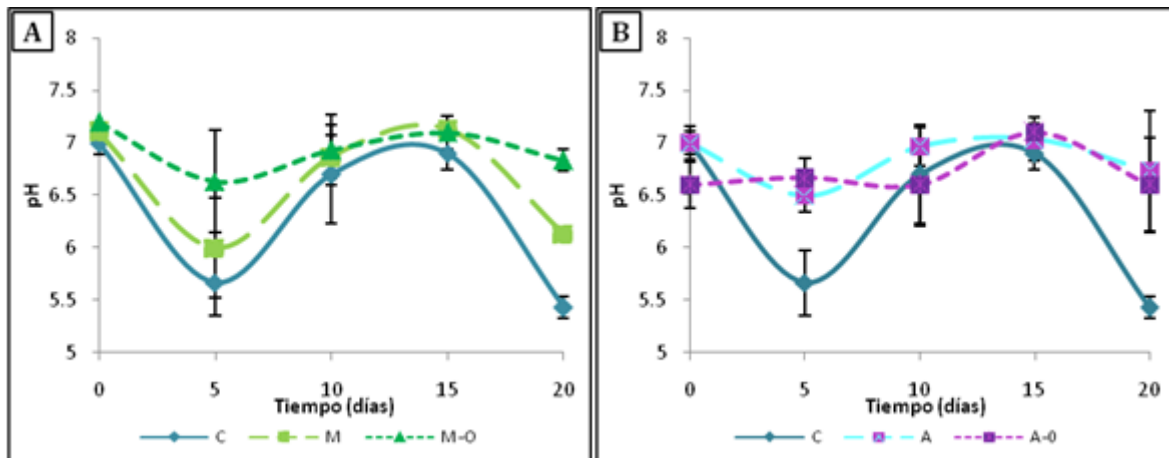


Figura 34. Cambios en el pH de chirimoyas durante pruebas de calidad en almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, M=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-O=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, A=Recubrimiento de alginato de sodio, A-O=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

Por otro lado, los tratamientos con la matriz de alginato de sodio también provocaron un aumento final menos drástico en los niveles de ácido málico de las chirimoyas comparado con los exhibidos por los frutos control. Las chirimoyas con aplicación de recubrimiento de alginato de sodio presentaron el menor aumento de acidez los últimos 5 días de 0.1% con un pH final de 6.7; mientras que las chirimoyas con aplicación del envase activo a base de alginato de sodio-AE de Orégano incrementaron sus niveles de ácido málico en un 0.14% los últimos 5 días,



por lo que al final del almacenamiento, estos dos tratamientos no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre ellos.

A lo largo de la maduración poscosecha el almidón se va hidrolizando, dando lugar a la aparición de azúcares solubles. Parte de la glucosa liberada es transformada en ácidos orgánicos (Sevillano, 2007).

Según Bidwell (1993), el ácido málico junto a los azúcares, constituyen los principales sustratos en la respiración, en chirimoya se puede notar que el pH tiende a disminuir, por lo que la acidez titulable también aumenta.

De lo anterior se concluye que la aplicación de los recubrimientos comestibles y envases activos permitieron el desarrollo normal de síntesis y catálisis de ácidos orgánicos durante la maduración con los respectivos cambios en el pH, y exhibieron un efecto significativo sólo hasta el último día de almacenamiento en los valores de pH y acidez comparado con los frutos sin recubrir.

1.1.1. Prueba *in vivo*

1.1.1.1. Índice de deterioro (ID)

Todas las chirimoyas infectadas, aún con aplicación de tratamientos, presentaron la evolución más acelerada de deterioro superficial en comparación con las no infectadas (Tabla 20).

Durante el almacenamiento de las chirimoyas, los cambios de color de tonos verdes a marrones y la pérdida de firmeza en los tejidos fueron en aumento, así como la invasión de masas miceliales de moho sobre la superficie, esto en diferente medida dependiendo del tratamiento aplicado.

La pulpa de las chirimoyas no infectadas desarrolló una tonalidad más amarilla típica del proceso natural de maduración, mientras que en las infectadas desarrolló tonalidades azules-grisáceas debido a un probable desorden fisiológico (Tabla 20 y 21).



Tabla 20. Cambios de la epidermis durante la maduración de chirimoyas en almacenamiento refrigerado					
	DÍA 0	DÍA 5	DÍA 10	DÍA 15	DÍA 20
CONTROL					
MUCÍLAGO					
MUCÍLAGO-ORÉGANO					
ALGINATO DE SODIO					
ALGINATO DE SODIO-ORÉGANO					



Tabla 20. Cambios de la epidermis durante la maduración de chirimoyas infectadas en almacenamiento refrigerado


























	DÍA 0	DÍA 5	DÍA 10	DÍA 15	DÍA 20
CONTROL INFECTADO					
MUCÍLAGO INFECTADO					
MUCÍLAGO-ORÉGANO INFECTADO					
ALGINATO DE SODIO INFECTADO					
ALGINATO DE SODIO-ORÉGANO INFECTADO					

























Tabla 21. Cambios de la pulpa durante la maduración de las chirimoyas en almacenamiento refrigerado

	DÍA 0	DÍA 5	DÍA 10	DÍA 15	DÍA 20
CONTROL					
MUCÍLAGO					
MUCÍLAGO-ORÉGANO					
ALGINATO DE SODIO					
ALGINATO DE SODIO-ORÉGANO					



Tabla 21. Cambios de la pulpa durante la maduración de las chirimoyas infectadas en almacenamiento refrigerado

	DÍA 0	DÍA 5	DÍA 10	DÍA 15	DÍA 20
CONTROL					
MUCÍLAGO					
MUCÍLAGO-ORÉGANO					
ALGINATO DE SODIO					
ALGINATO DE SODIO-ORÉGANO					



Esto puede explicarse debido al hecho de que las frutas tropicales y subtropicales son susceptibles de sufrir alteraciones fisiológicas en un rango de temperatura de aproximadamente 5 a 14 °C. Los síntomas más comunes son fallas en la maduración, desarrollo de sabores y aromas atípicos, decoloración, ennegrecimiento y deterioro de los tejidos, e incremento de la susceptibilidad del producto al ataque de patógenos secundarios (Hernández, 2010).

Otro factor que influye en los cambios en la maduración es la atmósfera en la que se almacena el fruto. Es importante recordar que los recubrimientos y envases activos, al inducir una atmósfera modificada pasiva también tienen repercusiones sobre los procesos metabólicos de los frutos, sobre todo en los climatéricos, ya sea de forma positiva o negativa.

Las chirimoyas infectadas sin recubrir (CI) manifestaron una evolución acelerada del índice de deterioro (ID), aproximándose a un daño severo, es decir, mayor al 20%, desde el día 10 con un valor de 3.7, por lo que en los días 15 y 20 alcanzaron el máximo daño evaluado de la escala (Figura 35).

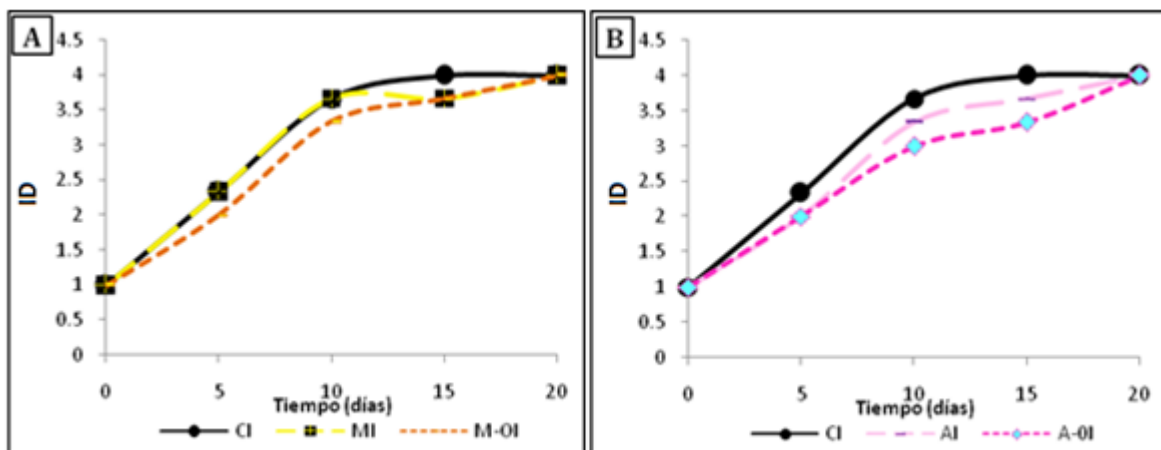


Figura 35. Índice de deterioro de chirimoyas infectadas durante prueba *in vivo* en almacenamiento refrigerado. (A) Tratamientos con matriz de mucílago de nopal; (B) Tratamientos con matriz de alginato de sodio. Dónde: C=Chirimoyas Control, MI=Recubrimiento de mucílago de nopal, M-OI=Envase activo de mucílago de nopal-AE de Orégano, AI=Recubrimiento de alginato de sodio, A-OI=Envase activo de alginato de sodio-AE de Orégano. Las barras verticales representan la desviación estándar.

De los tratamientos con la matriz de mucílago de nopal, las chirimoyas infectadas envase activo basado en mucílago de nopal-AE de Orégano (MOI) mantuvieron un



ID 8.25% inferior del día 5 al 15 comparado con las chirimoyas Control (CI), y fue hasta el día 20 que alcanzaron el valor de 4, representativo de un daño severo.

Por otro lado, la aplicación de la matriz de alginato de sodio en las chirimoyas infectadas fue un factor importante para disminuir su deterioro externo, ya que del día 5 en adelante presentaron una mayor diferencia en deterioro con respecto a las chirimoyas infectadas sin recubrir (CI). En el caso de las chirimoyas con aplicación del tratamiento de alginato infectadas (AI) mantuvieron un deterioro 7.5 % inferior comparado con el presentado por las chirimoyas CI del día 5 al 15. Por su parte, las chirimoyas con envase activo alginato de sodio-AE orégano (A-OI) presentaron el ID más bajo en comparación con todos los tratamientos llegando a un valor al día 15 de 3.3, lo que representó un 17.5% menor deterioro comparado con las chirimoyas CI. Sin embargo, al día 20 todos los tratamientos alcanzaron el máximo deterioro de la escala.

Debido a lo anterior, los dos envases activos evaluados (mucílago de nopal-AE de Orégano y alginato de sodio-AE de Orégano) fueron una alternativa más eficaz para retrasar en mayor proporción el deterioro superficial e interno de las chirimoyas con respecto a los frutos sin tratamiento durante el almacenamiento refrigerado, al inhibir el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*, causante de la antracnosis.

De acuerdo a los resultados de las pruebas de calidad e *in vivo* realizadas, se observó un deterioro considerable de la mayoría de los parámetros en el último día de almacenamiento de forma independiente al tratamiento aplicado, por lo que se confirmó lo afirmado por Hernández (2010) al determinar cómo tiempo ideal de frigoconservación de la chirimoya 15 días para todos los ecotipos.

CONCLUSIONES





6. Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- Ⓢ Los aceites esenciales de Hojasén y Orégano exhibieron actividad antifúngica frente al crecimiento micelial del moho *Colletotrichum gloeosporioides* en las pruebas *in vitro*; sin embargo, los compuestos activos presentes en el aceite esencial de Orégano fueron más efectivos con respecto al de Hoja Sen al inhibir de manera completa el crecimiento del moho a 1000 ppm.
- Ⓢ En la caracterización de películas comestibles, las matrices de alginato de sodio y mucílago de nopal presentaron propiedades físicas y de barrera adecuadas para su aplicación en frutos. La matriz de alginato presentó las mejores características al mostrar los valores más elevados de luminosidad, croma, transparencia y la permeabilidad a vapor de agua más baja.
- Ⓢ Con respecto a la evaluación de los prototipos de envases activos en las pruebas *in vitro*, los prototipos formados con aceite esencial de Orégano con cualquiera de las dos matrices poliméricas evaluadas (alginato de sodio y mucílago de nopal) de manera independiente a la concentración (0.75 y 1%), presentaron el mayor poder antifúngico frente al moho *Colletotrichum gloeosporioides* al inhibir en mayor proporción el crecimiento micelial durante la prueba.
- Ⓢ En las pruebas *in vivo* de los tratamientos aplicados a las chirimoyas, los envases activos (alginato de sodio-AE de Orégano y mucílago de nopal-AE de Orégano) disminuyeron de manera significativa el deterioro superficial e interno de los frutos. Los tratamientos a base de alginato de sodio provocaron un descenso mínimo de la firmeza de las chirimoyas, lo que trajo como consecuencia un bajo aumento de SST; mientras que el envase activo de mucílago de nopal se perfiló como la mejor alternativa de tratamiento poscosecha ya que permitió la formación de SST óptimos dentro del rango de aceptabilidad de calidad con una



correspondiente disminución de la firmeza, además de que mantuvo un descenso del parámetro de color menor comparado con las chirimoyas sin envase.

- ④ La aplicación de los envases activos evaluados en esta investigación representaron una buena alternativa para inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal de la antracnosis en frutos tropicales, y preservar las características de calidad poscosecha de la chirimoya en un periodo superior al exhibido por los frutos sin recubrir.

RECOMENDACIONES





7. Recomendaciones

En investigaciones futuras sobre el tema se recomienda lo siguiente:

- ② Evaluar la influencia de la adición de los aceites esenciales en las películas comestibles sobre las propiedades físicas y de barrera del sistema multidisperso formado.
- ② Estudiar el efecto de la Humedad relativa y temperatura sobre los parámetros de calidad de las chirimoyas con aplicación de los diferentes envases para determinar si estos son efectivos en otras condiciones.
- ② Considerar la aplicación de un sistema multidisperso como matriz polimérica del envase activo para disminuir en mayor medida la pérdida de peso del fruto.
- ② Evaluar la respiración de las chirimoyas durante su avance de maduración.
- ② Determinar la capacidad antioxidante de los aceites esenciales, así como de los pigmentos presentes en la epidermis del fruto.
- ② Evaluar otros aceites esenciales y otras matrices poliméricas para la formación de envases activos en chirimoyas.
- ② Evaluar la influencia de las matrices poliméricas sin aceite esencial en las pruebas *in vitro* con los prototipos de envases activos.

REFERENCIAS





8. Referencias

1. Abraján, M. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
2. Agrios, G. (2002). Fitopatología. Limusa. D.F., México.
3. Agronline (2008). Cultivos: Frutales-El Chirimoyo. Consultado Noviembre 2012. Disponible en: www.agronline.cl/cultivos_chirimoya.html
4. Aguado, J., Calles, J., Cañizares, P., López, B., Santos, A., Serrano, D. (2002). Ingeniería de la Industria Alimentaria. Volumen 3. Operaciones de conservación de alimentos. Síntesis. España.
5. Aguilar, C. (2007). Optimización del proceso de modificación del almidón de maíz ceroso por extrusión y el uso de mezclas de almidones modificados con mucílago de nopal para la encapsulación de aceite esencial de naranja empleando el secador por aspersion. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.
6. Aguilar, M., San Martín, E., Espinoza, N., Sánchez, M., Cruz, A., Ramírez, M. (2012). Caracterización y aplicación de películas a base de geletina-carboximetilcelulosa para la preservación de frutos de guayaba. *Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales*. 25 (1): 1-7.
7. Albarracín, G. y Gallo, S. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (Cordoncillo) procedente de la zona cafetera. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
8. Alexopoulos, C. y Mims, C. (1985). Introducción a la Micología. Omega. España.
9. Arauz, L. (2000). Mango Anthracnose: Economic Impact and Current Options for Integrated Management. *Plant Disease*. 6(84): 600-611.
10. Arce, C. (2011). Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.



11. Avendaño, G. (2009). Diseño y evaluación de las propiedades mecánicas y de barrera de un biopolímero obtenido a partir de almidón de papa para ser empleado en empaques de alimentos. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD. Duitama, Colombia.
12. Azuola, R., Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias extraída por ultrasonido (EUA). Tecnología en marcha. 4(20):30-40.
13. Azcón J.; Talón. (1993). Fisiología y Bioquímica Vegetal Interamericana Mc. Graw Hill. España.
14. Badui, S. (2006). Química de los alimentos. Alhambra, México.
15. Barrera, E.; Gil, M.; García, C.; Durango, D.; Gil, J. (2012). Empleo de un recubrimiento formulado con Propóleos para el manejo poscosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiana). Revista de la Facultad Nacional de Agricultura de Medellín. 65(1): 6497-6506.
16. Besana portal agrario. (2008). Composición y usos de la chirimoya. Consultado Noviembre 2012. Disponible en: <http://www.portalbesana.es/estaticas/informacion/paginas/composicionyusos.html>.
17. Benavides, S.; Villalobos-Carbajal, R.; Reyes, J. (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the croddlinking degree and oregano essential oil concentration. Journal of Food Engineering. 110: 232-239.
18. Bidwell R. (1994). Fisiología Vegetal. Editorial A.G.T. México.
19. Biodiversity International y CHERLA (2008). Descriptores para Chirimoyo (*Annona Cherimola* Mill). Biodiversity International, Roma, Italia; Proyecto CHERLA, Málaga, España.
20. Bolivar-Fernández, N.; Saucedo-Veloz, C.; Solís-Pereira, S.; Sauri-Duch, E. (2009). Maduración de frutos de saramuyo (*Annona squamosa* L.) desarrollados en Tucatán, México. Agrociencia. 43:133-141.
21. Borboa, J., Acedo, E., Ponce, J., Cruz, M., García, J., Ortega, M. (2010). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales contra



- Clavibacter michiganensis* subespecie michiganensis. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 12(16): 539-547.
22. Bósquez, E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*). Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de México. México.
23. Bosquez-Molina, E.; Ronquillo-De Jesus, E.; Bautista-Baños, J.; Verde-Calvo, J.; Morales-López, J. (2010). Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. Postharvest biology and technology. 57: 132-137.
24. Brody, A.; Bugusu, B.; Han, J.; Sand, Claire, McHugh, T. (2008). Innovative Food Packaging Solutions. Journal of Food Science. 8(73): R107-R116.
25. Bureau, G., y Multon, J. (1995). Embalaje de los alimentos de gran consumo. Acribia. España.
26. Caamal, I.; Pereira, F.; Madera, T. (2011). Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha, 1(12): 101-109.
27. Cai-rong, L.; Wei-bing, S.; Wang-jin, L.; Yue-ming, J; Jiang-hui, X.; Jian-ye, C. (2009). 1-MCP delayed softening and affected expression of XET and EXP genes in harvested cherimoya fruit. Postharvest Biology and Tecnology. 52: 254-259.
28. Castro, J. (2007). Cultivo de la anona (*Annona cherimola*, Mill). Ministerio de Agricultura y Ganadería. Costa Rica.
29. Cerdas, M., Umaña, G., Castro, J. (2007). Manual de manejo poscosecha de anona (*annona cherimola mill*). Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica.



30. Cerpa, M. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales: Modelado y caracterización. Tesis Doctoral. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.
31. Coletto, J. (1994). Crecimiento y desarrollo de las especies frutales. Mundiprensa. España.
32. Cueto, M. (2008). Determinación del efecto inhibitorio del aceite esencial y diferentes extractos de orégano (*Lippia berlandieri Schauer*) sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* tanto *in vitro* como en plántula de tomate. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México.
33. Domínguez, L. y Parzanese, M. (2012). Tecnologías para la Industria Alimentaria. Fluidos supercríticos. Revista A&G. 4(89): 1-12.
34. EROSKI S. Coop Fundación. (2008). Chirimoya. Consultado Noviembre 2012. Disponible en: <http://www.frutas.consumer.es/documentos/tropicales/chirimoya/intro.php>
35. Espino-Díaz, M.; de Jesus Ornelas-Paz, J.; Martínez-Tellez, M.; Santillán, C.; Barbosa-Cánovas, G.; Zamudio-Flores, P.; Olivas, G. (2010). Development and characterization of edible films based on mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L.). *Journal of Food Science*. 75(6): E347-E352.
36. Falguera, V.; Quintero, J.; Jimenez, A.; Aldemar, J.; Ibarz. (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science & Technology*. 22: 292-303.
37. Fan, Y.; Xu, Y.; Wang, D.; Zhang, L.; Sun, J.; Sun, L.; Zhang, B. (2009). Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria x ananassa*) preservation quality. *Postharvest Biology and Technology*. 53: 84-90.
38. Fennema, O. (2000). Química de los alimentos. Acribia. Zaragoza, España.
39. Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R., Narvaez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación de mango y aguacate, y perspectiva, al uso del propóleo en su formulación. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 2(3): 386-400.



40. FAO (1993). Prevención de pérdidas de alimentos poscosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos. Colecciones FAO, Roma.
41. FAO (2006). Chirimoya (*Annona cherimola*). Consultado Noviembre 2012. Disponible en: http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/CHIRIMOYA.HTM
42. Flores, A.; Hernández, A.; Valladares, M. (2004). Determinación de la actividad antifúngica de aceites esenciales extraídos de *Lippia graveolens* (Orégano), *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Eucaliptus globulus* (Eucalipto) en *Microsporum canis* *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum*. Tesis de Licenciatura. Universidad del Salvador. San Salvador, El Salvador.
43. Galiano, D. (2009). Proyecto de Prefactibilidad de Exportación de Chirimoya (*Annona Cherimola* Mill) al Mercado Argentino en el Periodo 2008-2017. Tesis de Licenciatura. Universidad Politécnica Equiniccial. Quito, Ecuador.
44. Galus, S. y Lenart, A. (2013). Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin. *Journal of Food Engineering*. 4(115): 459-465.
45. García, E.; Quezada, M.; Moreno, J.; Sánchez, G.; Moreno, E.; Pérez, M. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de Canela (*cinnamomun zeylanicum blume*) y Orégano (*Origanum vulgare L.*) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 1(24): 8-12.
46. García, J.; Gómez, T.; Martín, J.; Águeda, E.; Gonzalo, J. (2009). Carrocería. Embellecimiento de superficies. Ediciones Nobel. España.
47. Gardiazábal, F. y Rosenberg, G. (1993). El cultivo del chirimoyo. Ediciones Universitarias de Valparaiso. Quillota, Chile.
48. González, A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Tesis de grado. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.



49. González, A.; Kafarov, V.; Guzmán, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *Prospect.* 2(7): 53-60.
50. González, G. (2009). Estabilidad e intercambio de iones calcio en geles de alginato. Reporte de residencia profesional. Instituto Tecnológico de Durango. México.
51. González, L., Aguirre, M., García, P., Jofre, A., Legorreta, A., Buenrostro, J. (2011). Desarrollo y evaluación de una película comestible obtenida del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) utilizada para reducir la tasa de respiración de nopal verdura. *Revista de investigación de la Universidad Simón Bolívar.* 10(10): 131-138.
52. González, M.; Peinado, S.; Pinillos, V.; Hueso, J.; Alonso, F. (2010). Fenología de la maduración del fruto en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.). Determinación de un índice de recolección. Fundación Cajamar. Almería, España.
53. Guerrero, E., Solís, S., Hernández, F., Flores, A., Sandoval, V., Jasso, D. (2007). Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Fluorensia cernua* D. C. en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata* (FR:FR) keissl., *Colletotrichum Gloesporioides*... *Revista Mexicana de Fitopatología.* 1(25):48-53.
54. Guerrero-Lagunes, L.; Ruiz-Posadas, L.; Rodríguez-Mendoza, M.; Soto-Hernández, M.; Castillo-Morales, A. (2011). Efecto del cultivo hidropónico de Tomillo (*Thymus vulgaris* L.) en la calidad y rendimiento del aceite esencial. *Revista Chapingo. Serie Horticultura.* 17(2): 141-149.
55. Hardenburg, R.E.; Watada, A.E.; Wang, C.Y. (1988). Almacenamiento comercial de frutas, legumbres y existencias de floristerías y viveros. Colección Investigación y Desarrollo/Instituto Iberoamericano de Cooperación para la Agricultura. Costa Rica.
56. Hernández, A. (2010). Evaluación del almacenamiento refrigerado y al ambiente de cuatro ecotipos seleccionados de chirimoya (*Annona cherimola*



- Mill.). Tesis de Licenciatura. Escuela Politécnica del Ejército. Sangolquí, Ecuador.
57. Jairo, J. y Chavarriaga, W. (2007). Diagnóstico precoz de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Penz) Penz&Sacc. en tomate de árbol mediante el empleo de infecciones quiescentes. *Agronomía*. 1(15): 89-102.
58. Jeantet, R., Crogenec, T., Schuck, P., Brulé, G. (2010). Ciencia de los alimentos. Volumen 2. Tecnología de los productos alimentarios. Acribia. España.
59. Kintzios S. (2002). Profile of the multifaceted prince of the herbs. Ed. Spiridon. USA.
60. León, J. (2000). Botánica de los cultivos tropicales. Tercera edición. ICCA. Costa Rica.
61. Li, C.; Shen, W.; Lu, W.; Jiang, Y.; Xie, J. y Chen, J. (2009). 1-MCP delayed softening and affected expression of XET and EXP genes in harvested cherimoya fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 52: 254–259.
62. Maldonado, R.; Sanchez-Ballesta, M.T.; Alique, R.; Escribano, M.I. y Merodio, C. (2004). Malate metabolism and adaptation to chilling temperature storage by pretreatment with high CO₂ levels in *Annona cherimola* fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 4758–4763.
63. Márquez, L. (2003). Extracción del aceite esencial de mandarina (*Citrus Reticulata*) utilizando dióxido de carbono en condición supercrítica como solvente. Tesis de grado. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
64. Marzo, I. (2010). Efecto del tipo y contenido de aceites esenciales sobre las propiedades mecánicas y barrera de películas comestibles basadas en zeína. Tesis de licenciatura. Universidad Pública de Navarra. Pamplona, España.
65. McGuire, R. (1992). Reporting of objective color measurements. *Hort-Science*. 27: 1254-1255.
66. Montero, L.M.; Escribano, M.I.; De La Plaza, J.L. y Merodio, C. (1995). Chilling temperature storage induces changes in protein patterns and



- protease activity in cherimoya fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 5: 251–260.
67. Morales, A., Medina, A., Criollo, L., Castro, P. (2006). Resultados interpretativos en la herencia de algunos caracteres de la calidad de la Chirimoya (*Annona cherimola* Mill). *Lyonia*, 1(10): 59-74.
68. Moreno, S.; González, L.; Salcedo, S.; Cárdenas, Pérales, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*. 32(1): 193-205.
69. Museo Chileno de Arte Precolombino. Botella asa estribo fitomorfa: chirimoya. Consultado el 22 de Enero del 2013. Disponible en: <http://www.precolombino.cl/coleccion/botella-asa-estribo-fitomorfa-chirimoya/>
70. Naranjo, H. (2004). Manual de Manejo Poscosecha de Productos Perecibles. EDIESPE. Quito, Ecuador.
71. NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma Mexicana. Dirección general de normas. México.
72. NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y Derivados. Determinación de grados Brix. Norma Mexicana. Dirección general de normas. México.
73. NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos. Norma mexicana. Dirección. general de normas. México.
74. Parra, L. (2008). Relación entre infecciones quiescentes de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) y los diferentes estados fenológicos del fruto de mango (*Mangifera indica* L.) variedad hilacha. Trabajo de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
75. Pastor, C. (2010). Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metil celulosa: Caracterización y aplicación. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
76. Pérez, M.; Rijas, C. y Del Rio, M. (2002). Effect of lipid type and amount of edible hydroxypropyl methylcellulose-lipid composited coating used to protect



- postharvest quality of mandarins cv. Fortune. *Journal of Food Science*. 67(8): 2903-2910.
77. Pinto, a.; Cordeiro, M.; Andrade, S.; Ferreira, F.; Filgueiras, H.; Alves, R.; Kinpara, D. (2005). *Annona* species. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK.
78. Quintana, E., Plascencia, M., González, G., Cortez, M. (2010). Inhibición del crecimiento de *Penicillium chrysogenum* por presencia de aceites de *Cinnamomum zeylanicum*, *Allium cepa* y *Cymbopogon citratus*. *Revista Mexicana de Micología*. 1(32): 59-62.
79. Quintero, C.; Falguera, V.; Muñoz, H. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*. 1(5): 93-118.
80. Ramos, M., Bautista, S., Barrera, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 1(28): 44-57.
81. Reyes, Y; Infante, D.; García-Borrego, J.; Del Pozo, E.; Cruz, A.; Martinez, B. (2012). Compatibilidad de *Trichoderma asperellum* Samuels con herbicidas de mayor uso en el cultivo del arroz. *Revista de protección vegetal*. 1(27): 45-53.
82. Risch, S. (Ed.) (2000). *Food Packaging: testing methods and applications*, American Chemical Society, Washington, DC., United States of America.
83. Rivas, C. (2010). Microencapsulación y estabilización enzimática del jugo de chirimoya. Tesis de Maestría en Ciencia en Bioprocesos. Instituto Politécnico Nacional, D.F, México.
84. Robertson, G. (2010). *Food Packaging end Shelf Life*. CRC Press, Taylor & Francis Group. United States of America.
85. Rodríguez, E., González, J., Mayek, N. (2008). La infección de *Colletotrichum Gloesporioides* (Penz.) Penz. Y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1(27):53-67.



86. Rojas-Graü, M.; Avena-Bustillos, R.; Olsen, C.; Friedman, M.; Henika, P.; Martín-Belloso, O.; Pan, Z.; McHugh, T. (2007). Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*. 81: 634-641.
87. Rosales-Oballos, Y.; Raybaudi-Massilia, R.; Mosqueda-Melgar, J., Tapia de Daza, M.; Tomé-Boschian, E. (2012). Propiedades mecánicas, de barrera y antimicrobianas de películas de quitosano y películas de alginato de sodio con aceites esenciales y nisina. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 54(2): 7-16.
88. Ruiz, F. (2009). Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananassa*) almacenada en refrigeración. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas. Puebla, México.
89. Saavedra, N., Alguecira, N. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *NOVA*. 14(8): 121-240.
90. Samaniego, A. (2009). Estudio investigativo de la chirimoya, explotación, producción, análisis nutricional y propuesta gastronómica. Tesis de licenciatura. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador.
91. Sánchez, Y., Pino, O., Correa, T., Naranjo, E., Iglesia, A. (2009). Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (Caisimón de anís). *Revista Protección Vegetal*. 1(24): 39-46.
92. Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments*. 68, 534-545.
93. Sevillano, L. (2007). Expresión de proteínas de estrés de bajo peso molecular (sHSPs) en mesocarpio de chirimoya (*Annona cehrimola* Mill.). Editorial de la Universidad de Granada. Granada. España.
94. SIAP (2010). Producción agrícola. Cíclicos y perennes. Chirimoya. Consultado Noviembre 2012. Disponible en: www.siap.gob.mx
95. Tellez, M. y Estell, R. (1997). Essential Oil of *Flourensia cernua* DC. *USDA-ARS*. 1(9): 619-624.



96. Toro, L. (2009). Estudio de las etapas de cosecha y postcosecha de la chirimoya para potencializar su aprovechamiento agroindustrial en el departamento del Quindío. Tesis de licenciatura. Universidad La Gran Colombia, Armenia, Colombia.
97. Tous, J. (2008). Caracterización morfológica y molecular del hongo *Colletotrichum spp*, agente causal de la antracnosis en ñame (*Dioscórea spp.*) en los departamentos de Bolívar, Córdoba y Sucre. Tesis de licenciatura. Universidad de Sucre. Sucre, Colombia.
98. Tovar-Gómez, B.; Mata-Montes de Oca, M.; García-Galindo, S.; Montalvo-González, E. (2011). Efecto de emulsiones de cera y 1-Metilciclopropeno en la conservación poscosecha de guanábana. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 17(Especial1): 53-61.
99. Ulloa, J. (2007). Frutas auto estabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos. Universidad Autónoma de Nayarit. México.
100. Undurraga-Martinez, P.; Olaeta-Coscorroza, J.; Mac Lean-Bernales, H. (1998). Identificación y caracterización de desórdenes fisiológicos en chirimoyas (*annona cherimola* Mill.) cv Concha Lisa en refrigeración. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 4(1): 5-12
101. Universidad Católica de Valparaíso (1993). Índices de madurez e industrialización de la chirimoya. Proyecto de técnicas de conservación de chirimoyas para la exportación. Quillota, UCV-FIA.
102. Valero, D.; Díaz-Mula, H.; Zapata, P.; Gillén, F.; Martínez-Romero, D.; Castillo, S.; Serrano, M. (2013). Effects of alginate edible coating on preserving quality in four plum cultivars during postharvest storage. *Postharvest Biology and Tecnology*. 77: 1-6.
103. Valle-Guadarrama, S.; López-Rivera, M.; Reyes-Virgil, M.; Castillo-Merino, J.; Santos-Moreno, A. (2008). Recubrimiento comestible basado en goma arábiga y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 14(3): 235-241.



104. Villanueva, R., Hernández, A., Yáñez, M., Téliz, D., Mora, A., Cárdenas, E., Castañeda, A. (2005). Caracterización e identificación de *Colletotrichum Fragariae* en frutos de chirimoya. *Agrociencia*. 1(39): 93-106.
105. Wills, R.; Lee, T.; Mac Grason, W.; Hall, E. y Graham, D. (1989). Fisiología y manipulación de frutas y hortalizas post-recolección. Acribia. Zaragoza, España.
106. X-Rite, Incorporated. (2002). Guía para entender la comunicación del color. Grandville. Michigan. Estados Unidos.
107. Yabur, R. (2005). Producción y propiedades de alginato de *Sargassum sinicola* (Setchell y Gardner) y su aplicación en inmovilización celular. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional. Baja California Sur, México.
108. Yáñez, X., Lugo, L., Parada, D. (2007). Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). *BISTUA*. 1(5): 3-8.
109. Zavala, D., Carrillo, M., Alvarado, B., Sánchez, A. (2010). Evaluación de la toxicidad aguda de una extracto alcohólico de hojas de hojásén (*Flourensia cernua*). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 3(41): 50-54.