



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Comparativa de recubrimiento a base de quitosán y un
tratamiento con extractos cítricos en la vida útil de fresa
(*Fragaria ananassa*).**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

Denise Rubio García

ASESOR: Dra. Susana Patricia Miranda Castro

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



DEDICATORIAS

A mis padres José Gerardo Rubio Ramírez y Rosa María García Morales por todo el apoyo brindado desde el día en que mi vida comenzó, por creer en mi he impulsarme a ser la mejor, por todos esos consejos, preocupaciones y desvelos que hemos compartido a lo largo de este proceso, este logro es nuestro y se lo debo a ustedes más que a nadie, los amo.

A mis hermanos Gerardo y Omar Rubio por cuidarme, apoyarme, aconsejarme y guiarme a lo largo de mi vida, por sentirse orgullosos de mí y por cada risa que compartimos, gracias. A mi hermana Rosa Isela Rubio por ser mi mejor amiga, estar a mi lado en cada momento que lo necesito, por ayudarme en cada momento difícil y desvelarte conmigo a lo largo de la carrera, por siempre confiar en mí, mil gracias hermanita, te quiero. Somos parte de una familia y debemos mantenerla unida.

A mis tíos José Luis Rubio, Santiago Rubio, Jorge Alberto García, Nicolás García y mis primos Martín García, Eddie Rubio, Mónica Rubio por siempre estar al pendiente de mí, por preocuparse y tomarse el tiempo de ayudarme, motivarme he inspirarme para seguir adelante.

A mi asesora de tesis Dra. Susana Patricia Miranda Castro, por permitirme crear este proyecto, por el tiempo dedicado y compartir sus extensos conocimientos, le doy las gracias, es una de las personas que más admiro y aprecio.

A todos mis amigos y compañeros que estuvieron conmigo a lo largo de este ciclo en el cual no solo crecimos como profesionistas, también crecimos como personas, en especial a Luz Eliana Ángel Cruz e Israel Vera Rodríguez por estar conmigo en cada momento en el que los necesite, por ayudarme, aconsejarme, motivarme y sobre todo por cada risa, aventura y buenos momentos que pasamos juntos. Los quiero.

A Alfredo Cisneros Castellanos, a ti gracias por apoyarme desde que nos conocimos, por cada aventura que vivimos, desde hurgar en la basura para poder realizar este proyecto, hasta el día en que por fin se concluyó, por cada risa, desvelo y todas las cosas que compartimos juntos, por alentarme a ser una mejor persona día con día y ayudarme a alcanzar mis metas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la FESC-1 y a los profesores que me brindaron sus conocimientos y participaron en mi formación académica. En especial al Profesor Antonio Trejo Lugo por alentarme a seguir adelante justo en el momento en el que estaba por darme por vencida, gracias.

“Por mi raza hablará el espíritu.”



ÍNDICE

Introducción	6
Capítulo I: Antecedentes	9
1.1 Generalidades de la fresa	10
1.1.1 Taxonomía de la fresa	10
1.1.2 Morfología de la fresa	11
1.1.3 Importancia económica.....	14
1.1.4 Composición química de la fresa	19
1.1.5 Indicadores de calidad del fruto	19
1.1.6 Principales pérdidas poscosecha	21
1.2 Generalidades de quitina y quitosán	25
1.2.1 Películas comestibles	27
1.2.2 Aplicación de películas	31
1.1.3 Películas y recubrimientos a base de quitosán	31
1.3 Tratamientos poscosecha a base de extractos cítricos	33
1.3.1 Aplicaciones de tratamientos con desinfectantes a base de cítricos	35
1.3.2 Citrol K- Ultra	37
Capítulo II: Metodología.....	39
2.1 Cuadro metodológico.....	40
2.2 Actividad 1. Obtención de Quitosán.	41
2.3 Actividad 2. Selección y acondicionamiento de la materia prima.	41
2.4 Actividad 3. Evaluación fisiológica, física, química y fisicoquímica de las fresas.	43
2.4.1 Métodos Analíticos	43
2.4.2 Actividad 3.1 Determinación de los parámetros físicos	43
2.4.3 Actividad 3.2 Determinación de los parámetros fisiológicas.	47



2.4.4 Actividad 3.3 Determinación de los parámetros fisicoquímicos	48
2.4.5 Actividad 3.4 Determinación de los parámetros Químicos	50
2.4.6 Actividad 3.5 Determinación de los parámetros Microbiológicos....	52
2.5 Diseño estadístico	55
Capítulo III:Resultados y discusión.	56
Conclusión:.....	86
Bibliografía	90

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: a) Receptáculo floral, b) Planta Perene de la fresa, c) Fruto comestible denominado fresa..	11
Figura 2: Estructura de la fresa.....	12
Figura 3. Producción anual de fresa en 2014 (CONAFRESA, 2016).....	16
Figura 4: Estructura química de la quitina y el quitosán.....	25
Figura 5: Recubrimiento de fresa base de Quitosán.....	32
Figura 6: A) y B) fresas colocadas en cajas de PET para su almacenamiento.....	40
Figura 7: A), B), C) Aplicación de los tratamientos, rejilla escurridora, empaque final de fresas	42
Figura 8: Penetrómetro manual.....	44
Figura 9: Colorímetro para la determinación de color.....	45
Figura 10: Determinación de pH.....	48
Figura 11: Determinación de ácido ascórbico.....	50
Figura 12: Determinación de Coliformes totales en placas 3M Petrifilm.....	53
Figura 13: Determinación de mohos y levaduras en placas 3M Petrifilm A) control, B) Quitosán, C) Citrol-K Ultra	54
Figura 14. Efecto de la Interacción entre temperatura y tratamiento en la Pérdida de peso	59
Figura 15: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para reducción de tamaño...60	
Figura 16: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para reducción de tamaño.....	62



Figura 17: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para la pérdida de Firmeza.....	64
Figura 18: Efecto de la Interacción entre temperatura y tratamiento en la Luminosidad.....	66
Figura 19: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para el Croma.....	67
Figura 20: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura en el Tono.....	68
Figura 21. Interacción de los tratamientos y temperatura para sólidos solubles totales.....	70
Figura 22: Grafica de interacción para pH.....	72
Figura 23. Gráfico de interacción para Acidez Titulable.....	74
Figura 24. Grafica de efectos principales para Acidez Titulable.....	76
Figura 25. Interacción de los tratamientos y temperatura para Vitamina C.....	77
Figura 26. Interacción de los tratamientos y temperatura para Coliformes Totales.....	80
Figura 27. Interacción de los tratamientos, tiempo y temperatura para Mohos y Levaduras.....	82



Introducción



La fresa pertenece a la familia Rosácea y género *Fragaria*, esta es una planta herbácea y de pequeña altura. La actual fresa cultivada proviene del cruzamiento entre *Fragaria virginiana* del Este de Norteamérica y *Fragaria chiloensis*, fresón chileno (Landi *et al.*, 2014) (NMX-FF-062-SCFI-2002). La fresa es una de las bayas de mayor consumo, y es una buena fuente de antioxidantes naturales. Sin embargo, los frutos de fresa son muy perecederos y muy susceptibles a la descomposición por hongos en el campo, y más aún durante el almacenamiento poscosecha (Landi, *et al.*, 2014).

Estados Unidos es el productor mayoritario de fresa con un 29.72% , seguido de Turquía con 6.69% de producción y España con un 6.32% siendo los productores a nivel internacional mayoritarios, posicionando a México en el sexto lugar de producción mundial de fresa la cual abarca 5.21%, para el año 2011 la producción de fresa llegaba a un aproximado de 386,687 toneladas de producto, con un área de producción de 8,248 hectáreas de producción a lo largo de toda la República Mexicana en donde los estados productores de mayor relevancia son Michoacán, Guanajuato y Baja California los cuales contribuyen con el 95% tanto de la superficie sembrada y de la producción (SAGARPA,2014), estas en su mayoría es destinada a la exportación a países como EUA, pero al tratar de exportar la fresa presenta problemáticas las cuales hacen que la producción quede en las aduanas y corre el riesgo de que todo el lote sea desperdiciado ya que la fresa es un producto altamente perecedero.

Las pérdidas poscosecha más importantes son a causa de que este fruto posee una epidermis muy delgada y frágil que lo hace ser muy susceptible al daño mecánico durante la cosecha y almacenamiento. No obstante, la problemática económicamente más importante que presenta la fresa durante su almacenamiento es el deterioro a causa de infección por *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* (Hernández, *et al.*, 2008). Las infecciones causadas estos microorganismos pueden ocurrir antes de la cosecha, en el campo etapa, desde las aberturas naturales o heridas mecánicas que se producen en la fruta. A menudo, *B. cinerea* puede desarrollarse a partir de la fruta podrida al lado de fruta sana, causando grandes desglose de la mercancía (Errampalli, 2014) y puede permanecer latente hasta el almacenamiento, cuando el patógeno tiene ventaja para el desarrollo de enfermedades de mayor humedad relativa y baja temperatura.



Existen diferentes métodos para prolongar la vida poscosecha de frutos de fresa, entre los cuales se encuentran la temperatura de almacenamiento, la aplicación de irradiación ultravioleta (UV), y el almacenamiento en atmósferas modificadas (AM) o controladas con O_3 , alto O_2 y bajo O_2 ya sea con o sin alto CO_2 (Baka, *et al.* 1999). Otro de los tratamientos poscosecha que se han implementado es el uso de quitosán, un polisacárido lineal que consiste en (1,4) -vinculada 2-amino-desoxi- β -D-glucano, es un derivado desacetilado de la quitina, que es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa (Aider 2010), para crear recubrimientos comestibles que ayudan a alargar la vida útil del producto ya que tiene buena biocompatibilidad, biodegradabilidad, la actividad antibacteriana y antifúngica, la capacidad y seguridad de la formación de membrana además de tener permeabilidad selectiva a los gases (CO_2 y O_2), buenas propiedades mecánicas, no toxicidad, las propiedades no contaminantes y de bajo costo. Las desventajas de las películas de quitosán y recubrimientos yace en su permeabilidad al vapor de agua relativamente alta y la posibilidad de provocar alergias a algunas personas (Velickova, *et al.* 2013).

Los desinfectantes a base de extractos cítricos contienen 85-99 % volátil y 1-15 % de componentes no volátiles. Los constituyentes volátiles son una mezcla de monoterpenos (limoneno) y los hidrocarburos de sesquiterpeno y sus derivados oxigenados, incluyendo: Aldehídos (cital), cetonas, ácidos, alcoholes (linalol) y ésteres. Tienen la capacidad de penetrar la membrana celular, sino también la membrana mitocondrial que conduce a una mayor permeabilidad de los orgánulos y el mismo proceso de fuga de iones, además de la inhibición de la síntesis de ATP (Fisher, *et al.*, 2008).

En el proyecto se realiza una comparativa de uso potencial entre los recubrimientos de quitosán y desinfectantes a bases de extractos cítricos para poder aplicarlo en fresa (*Fragaria ananassa*) para que esta pueda llegar a ser exportada sin la problemática del crecimiento microbiano que se desarrolla durante su almacenamiento y exportación, ya que sobre todo los hongos toman ventaja para el desarrollo de enfermedades dada la humedad relativa y temperaturas bajas. De tal manera que se pueden reducir las pérdidas que se generan en este fruto ayudando no solo a los productores, sino también a que México crezca a nivel mundial como exportador de este fruto que es tan vasto en nuestro país.



Capítulo I: Antecedentes



1.1 Generalidades de la fresa

La fresa es un fruto proveniente de la planta perteneciente a la familia de las Rosáceas, de género y especie *Fragaria x ananassa*, Dutch, es un fruto de color rojo brillante, succulento y fragante, esta se puede comer cruda o se puede consumir como compota, mermelada, congeladas. Es empleada con fines medicinales ya que posee excelentes propiedades que ayudan a preservar la salud.

Los orígenes de la fresa no están bien definidos, algunas fuentes la consideran de origen Europeo, particularmente en la zona Alpínica, mientras que otros la consideran de origen Chileno, de donde un oficial francés, a principios del 1712 se importó a Europa las plantas madre utilizadas como base para la constitución del híbrido “*Fragaria x ananassa*”, al cual pertenecen todas las variedades de fresas difundidas actualmente. (SAGARPA-SIAP,2011)

Es una de las frutas de mayor aceptación mundial y es también una de las que tiene mayores usos, entre los que se encuentran su exportación e importación como producto fresco, en la industria alimenticia, como saborizante (en la elaboración de repostería), entre otros. Se dice que la composición química y los atributos de calidad de la fresa son altamente influenciados por la combinación de varios factores, entre los que se encuentran los genéticos (variedad) y geográficos (clima y suelo) entre otros.

1.1.1 Taxonomía de la fresa

Se conocen más de 20 especies diferentes de “*Fragaria*”, que varían de acuerdo al número de cromosomas, Los cultivares más utilizados en la actualidad son cruzamientos de las especies: “*Fragaria vesca*”, “*Fragaria chiloensis*”, “*Fragaria virginiana*” y la “*Fragaria grandiflora*”, (Tabla 1).



Tabla 1. Clasificación taxonómica de la fresa

Reino	<i>Vegetal</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Género	<i>Fragaria</i>
Familia	<i>Rosaceas</i>
Especie	<i>Fragaria vessca o fragaria ananassa</i>

Fuente: (Domini, 2012)

1.1.2 Morfología de la fresa

Es una planta perenne de cultivo plurianual. La raíz es fasciculada y tiene un gran número de raíces en los primeros 25 cm. La fresa es un eterio típico lleno de aquenios. Lo que se consume de esta planta es el eterio de color rojo, dulce y aromático, un engrosamiento el receptáculo floral cuya función es conocer dentro de ellos los frutos verdaderos de la planta (fresa) (Muñoz,1984).

Raíces: Surgen de la corona próxima a la superficie del suelo. Se dividen en primarias y secundarias. La profundidad enraizable en suelos sin limitaciones es de 30 cm (Robertson, 1994).

El tallo: Es corto y se denomina corona. De esta corona surgen ramificaciones laterales llamadas estolones que se caracterizan por tener una gran distancia entre los entrenudos. En estos entrenudos aparecen rosetas de hojas y raíces adventicias. A su vez estos estolones también se pueden ramificar y producir nuevos estolones.



Sus hojas: Se disponen en roseta sobre la corona. Tienen los pecíolos largos, dos estípulas rojizas y el limbo dividido en tres folíolos de bordes aserrados. El envés de las hojas está recubierto de pelos.

Las inflorescencias: se desarrollan a partir de yemas terminales de la corona o de yemas axilares de las hojas. La ramificación de la inflorescencia está formada por una flor primaria (figura 1 a.), dos flores secundarias, cuatro terciarias, y ocho cuaternarias. Una flor típica consta de diez sépalos, cinco pétalos de veinte o treinta estambres y el número de pistilos va de 60 a 600. El mayor número de pistilos se encuentra en la flor primaria, decreciendo sucesivamente en número de primarias a secundarias (figura 1 b.). (Galleta, 1990)

El fruto: el fruto comestible, denominado botánicamente eterio, es un fruto falso, producto del engrosamiento del receptáculo floral, sobre ese falso fruto o frutilla se encuentran gran cantidad de semillas pequeñas, que son los frutos verdaderos llamados aquenios (figura 1c.).

La capacidad germinativa: De estas semillas son de más de 10 años.

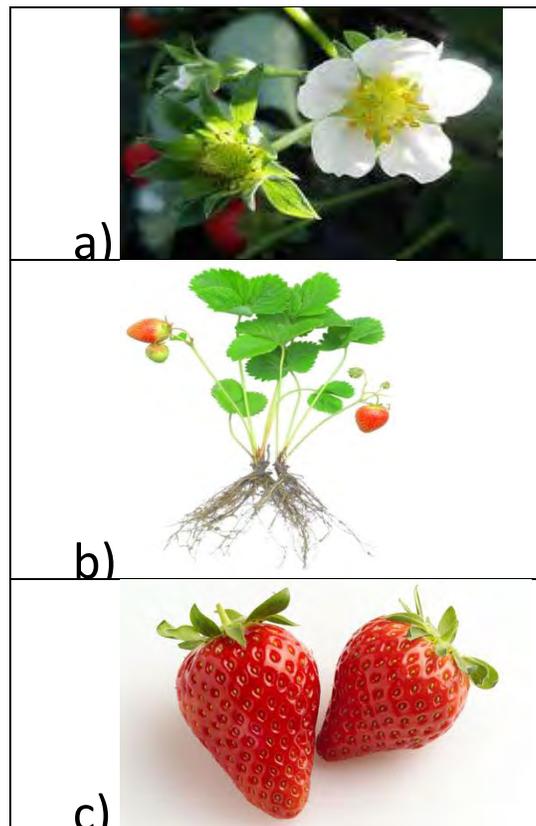


Figura 1: a) Receptáculo floral, b) Planta Perene de la fresa, c) Fruto comestible denominado fresa



1.1.2.1 Estructura del fruto

La fresa está compuesta de cinco zonas de tejidos los cuales son los siguientes:

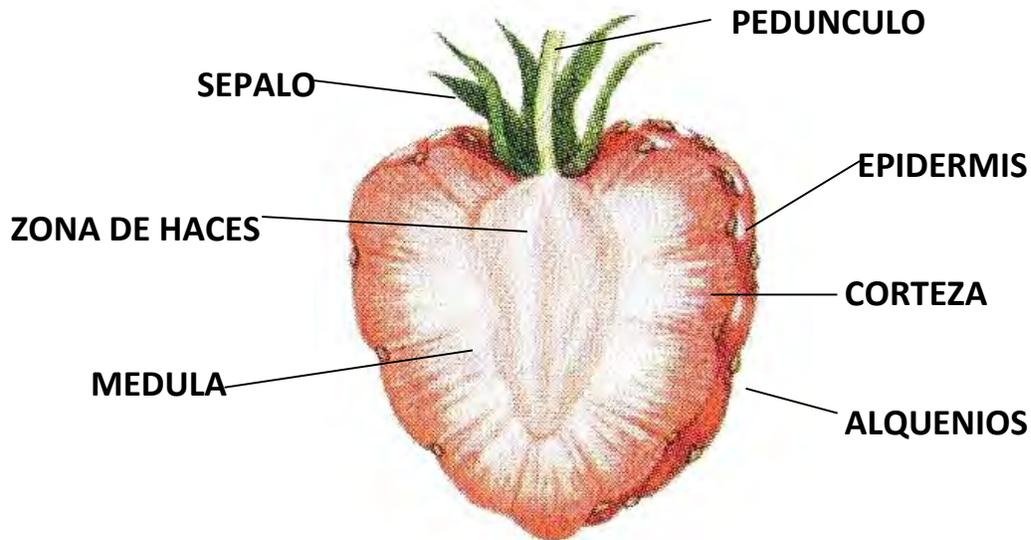


Figura 2: Estructura de la fresa

La epidermis de la fresa es muy delgada, en ella se encuentran los aquenios, comúnmente conocidos como semillas, son frutos secos indehiscentes, unisemillados de aproximadamente 1 mm de largo que se encuentran insertados en la superficie de receptáculo o en pequeñas cantidades y reconocidas por su color que va de amarillos, rojos verdes o marrones. (CONAFRE, 2011) y textura dura, los cuales corresponden a las frutas verdaderas (figura 2) (Green, 1971). La corteza o pulpa verdadera consiste de células redondeadas con espacios intercelulares. La zona de haces representa los tejidos conductores, la cual está compuesta por el xilema y el floema. Los xilemas son filamentos largos ahuecados compuestos de células muertas cuyas paredes desarrollan engrosamientos secundarios en forma de anillos, espirales y redes, éstos sirven como tejidos conductores de agua y los tubos largos que transportan alimento corresponden al floema, (Szczesniak y Smith, 1969). La parte central del fruto, médula o corazón, puede estar muy o poco desarrollada.

La estructura de la fresa madura depende ampliamente del mantenimiento de la turgencia de las células del parénquima cortical. Las fresas son firmes, moderadamente crujientes y bajas en cohesividad, conforme maduran pierden firmeza, son menos crujientes, ligeramente



adhesivas al tacto y pierden jugo. Esta disminución de su firmeza está asociada con la degradación de las paredes celulares de la epidermis, además de que debido al crecimiento, las células del tejido debajo de la corteza se alargan, esto conduce a un adelgazamiento de las paredes celulares y las hace frágiles. Las células de la médula también experimentan un gran crecimiento durante la maduración y en el fruto sobre maduro estas células son más grandes que las de la corteza.

1.1.3 Importancia económica

Económicamente la fresa es un cultivo que es sumamente importante para México ya que su producción es bastante significativa a nivel mundial. Según las estadísticas de la FAO, hasta el 2015, México se posicionaba en el cuarto lugar de producción de este fruto, siendo Estados Unidos de América el número uno a nivel mundial. En la tabla 2 se muestran los diez países que encabezan la producción de fresa, proporcionando datos de producción en toneladas a nivel mundial.

Tabla 2. Producción mundial de fresa

Posición	Región	Toneladas
1	Estados Unidos de América	1,855,196
2	España	489,198
3	Turquía	479,354
4	México	393,475
5	Egipto	328,864
6	República de Corea	260,787
7	Japón	251,096
8	Federación de Rusia	236,166
9	Alemania	211,502
10	Polonia	203,796

Fuente: FAOSTAT, 2016

Como se muestra en la tabla 3, los principales exportadores son España quien le exporta a países como Alemania y Francia los cuales son los países con grandes cantidades de importación como se muestra en la tabla 4, el siguiente país con mayor cantidad de exportación es EUA ya que este lo exporta no solo como producto fresco sino como producto procesado. México se coloca en la tercera posición de países exportadores de fresa abasteciendo a países como EUA, Canadá y algunos países de la unión europea.



Tabla 3. Países con mayor exportación de fresa

Posición	País	Toneladas de exportación	Valor unitario(\$USD/ton)
1	España	231,732	2683
2	Estados Unidos de América	139,957	2918
3	México	76,890	1847
4	Egipto	74,976	783
5	Países Bajos	51,151	5935
6	Bélgica	39,528	4397
7	Marruecos	24,327	3238
8	Grecia	22,413	2195
9	Turquía	21,104	969
10	Francia	17,673	3343

Fuente: FAOSTAT, 2016

El mayor mercado mundial de fresa es Europa con el 66% de las importaciones mundiales; pero la región del Tratado de Libre Comercio de Norte América es la que presenta la mayor dinámica de crecimiento. El crecimiento de la demanda de Norteamérica representa una oportunidad para que México incremente sus exportaciones y participación en el mercado mundial.

El crecimiento de la demanda mundial de fresa y principalmente en América de Norte abre oportunidades para que México incremente su participación en el mercado mundial.



Tabla 4. Países con mayor cantidad de importación de fresa

Posición	País	Toneladas de importación	Valor unitario (\$/ton)
1	Canadá	123,616	2,584
2	Estados Unidos de América	110,457	2,200
3	Alemania	98,722	2,667
4	Francia	90,587	2,955
5	Reino Unido	47,077	4,090
6	Federación de Rusia	40,557	2,481
7	Italia	36,808	2,916
8	Países Bajos	28,937	4,577
9	Bélgica	26,727	3,710
10	Austria	19,463	2,692

Fuente: FAOSTAT, 2015

1.1.3.1 Producción nacional de fresa

En México se producen grandes cantidades de fresa de distintas variedades, siendo la camarosa la principal variedad que se produce entre los doce estados que se dedican a cultivar este fruto, los cuales son: Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Jalisco, Nayarit, Querétaro; como principales productores están: Baja California, Estado de México, Guanajuato y Michoacán teniendo este una cantidad de fresa fresca que abarca un 72% de la producción total del país en el ciclo otoño-invierno (figura 3), con una superficie de siembra y cosecha de un aproximado de 4,900.00 hectáreas produciendo hasta 275,340.00 toneladas anuales, mientras que el ciclo primavera-verano el principal productor es Guanajuato con un aproximado de 760.00 hectáreas se siembra y cosecha con una producción de hasta 9,212.00 toneladas (CONAFRESA,2015),(SAGARPA,2015).

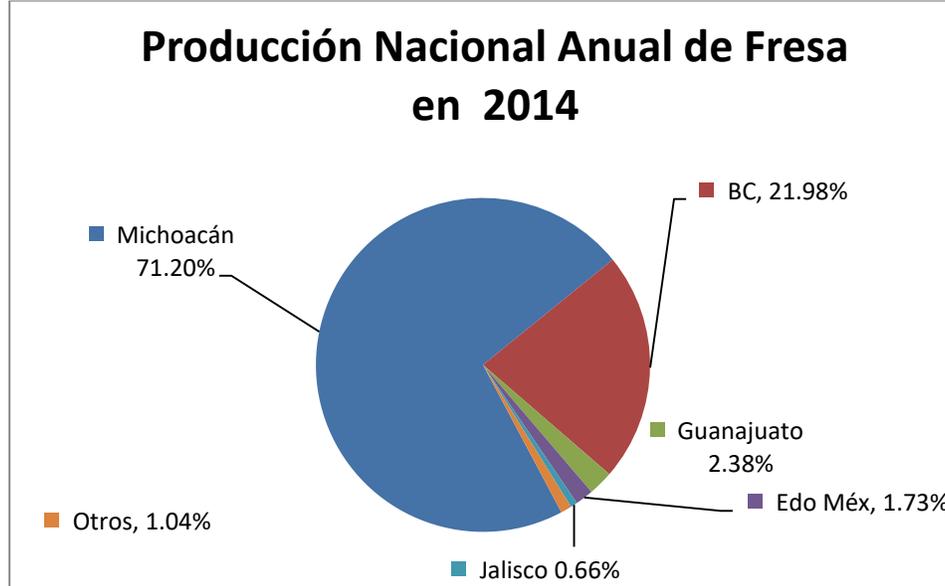


Figura 3. Producción anual de fresa en 2014 (CONAFRESA, 2016)

1.1.3.2 Variedades de la fresa

En México se cultivan diferentes variedades, cada una con características específicas; como son los rendimientos, épocas de producción, susceptibilidad a plagas y enfermedades, sabor, color, tamaño, por mencionar algunas. Las variedades se pueden expresar de manera diferente dependiendo de la región donde se establezcan. Sin embargo la variedad camarosa ha desplazado totalmente a las europeas, ocupando un 98% de la superficie dedicada a la fresa en Europa y en México, todo ello gracias a su mayor productividad, precocidad y adaptación a las condiciones agroclimáticas (CONAFRESA, 2016)

A continuación, se hace una breve descripción de las principales variedades utilizadas en México.



Tabla 5. Variedad de la fresa producida en México.

Variedad	Características	Estados productores
Camarosa 	<p>Es una variedad de día corto que presenta un fruto grande, muy precoz, de color rojo brillante extremadamente, interior muy coloreado y de buen sabor y firmeza. Esta variedad es originaria de la universidad de California. Su densidad es de 5 plantas m².</p>	<p>Estado de México, Guanajuato y Michoacán</p>
Tudla 	<p>Esta variedad se caracteriza por su buena aptitud para el transporte, así como su resistencia a la clorosis férrica, por lo que resulta útil en zonas que presenta problemas de aguas salinas. La planta es vigorosa de follaje erecto, producción precoz, frutos grandes, aromáticos, alargados, de color rojo intenso, tanto externa como internamente. Su productividad es elevada y se adapta bien tanto a la plantación con planta fresca en zonas cálidas, como a la plantación frigoconservada en zonas de invierno frío.</p>	<p>Guanajuato</p>
Oso Grande 	<p>Variedad californiana, cuyo inconveniente es la tendencia del fruto al rajado. No obstante presenta buena resistencia al transporte y es apto para el mercado en fresco. De color rojo anaranjado, forma de cuña achatada, calibre grueso y buen sabor. La planta es vigorosa y de follaje oscuro. La densidad de plantación es normalmente de 6 a 7 plantas por metro cuadrado colocando en caballones cubiertos de plásticos, con riesgo localizado y líneas pareadas.</p>	<p>Baja California</p>
Cartuno 	<p>Fruto de forma cónica perfecta, con calibre uniforme, color rojo brillante, sabor azucarado, ligeramente más precoz que Oso Grande, con curva de producción homogénea durante toda la campaña. Bien adaptado a plantaciones de otoño y de verano. Resistente a la clorosis férrica. La planta es vigorosa, de follaje importante, con flores destacadas del mismo.</p>	<p>Jalisco y Michoacán</p>
Carisma 	<p>Variedad muy vigorosa y rústica, capaz de adaptarse a todo tipo de suelos y climas, precoz y muy productiva. El fruto es de forma cónica, a veces acostillada, de gran tamaño y color rojo suave. Se recomienda para plantación en otoño como planta fresca y en verano como planta frigo-conservada.</p>	<p>Baja California y Michoacán</p>

Fuente : (Rámirez Padron 2010)

Otras variedades de fresa son la Tioga, Fresno, Talismán, Chandler y Douglas.



1.1.4 Composición química de la fresa

La fresa es una fruta muy ligera, ya que gran parte de su composición es agua y posee una importante cantidad de vitamina C (Tabla 6) que protege al cuerpo fortaleciendo el sistema inmune. Sus ácidos orgánicos poseen efectos desinfectantes y antiinflamatorios. Ofrecen importantes cantidades de salicilatos, sales positivas para la prevención de enfermedades cardiovasculares, degenerativas y cáncer. La importante cantidad de ácido fólico que tienen: una sexta parte de la cantidad diaria recomendada por cada 200 gramos de esta fruta.

Tabla 6 Composición Química y aporte nutritivo de fresa

Propiedad química	Valor en proporción de 100 g
Agua	89.10
Proteína	0.70
Grasa	0.80
Carbohidratos	8.90
Cenizas	0.50
Antiocianina	450 µg
Vitamina C	567 µg
Vitamina E	1.4 µg

Fuente: (Osborne,1993)

1.1.5 Indicadores de calidad del fruto

La fresa es una fruta no climatérica y debe ser cosechada en plena madurez para lograr la máxima calidad en relación con el sabor y el color, cuando la fruta toma color rosa (3/4 de maduración) o verde (1/2 de maduración) esto con el fin de evitar pérdidas poscosecha. La cosecha y poscosecha son algunos de los factores que pueden conducir cambios en la calidad sensorial y nutricional de la fresa (Pineli *et al.*, 2011).

En el mercado, la calidad de la fresa se centra en las cualidades físicas (Tabla 6), tales como tamaño, color, firmeza, acidez, dulzura y aroma (Azodanlou *et al.*, 2003).

Los consiguientes eventos fisiológicos, generalmente implican cambios en la composición de la pared celular, los flujos de iones, la producción de novo de la patogénesis (PR) relacionados con proteínas, síntesis de fitoalexinas, y especies reactivas de oxígeno (ROS)



de producción. Varios estudios han demostrado la implicación de los compuestos fenólicos y actividad de las enzimas de degradación de la pared celular en las respuestas de fresa expuestas a tratamientos de poscosecha con inductores(Landi, Feliziani, and Romanazzi 2014) (Landi, 2014).

Tabla 7. Parámetros

Parámetro	Característica
COLOR	Las antocianinas son los principales compuestos que contribuyen al color rojo brillante de la fresa y están asociadas con una fuerte actividad antioxidante. El color y la apariencia son los aspectos críticos de la calidad para los compradores a la hora de seleccionar las frutas y hortalizas frescas.
SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES	Cuando la fruta madura cambia la concentración de sólidos solubles en el jugo, que en su mayor parte son azúcares. La concentración de sólidos solubles, acidez y color de la fresa son afectados por factores ambientales. Temperatura superior a los 25°C puede reducir los sólidos solubles en la fruta de fresa. Se ha observado que la disminución en los sólidos solubles en el fruto de fresa produce una menor aceptación de los consumidores al producto. Las fresas son aceptables con un contenido de sólidos solubles mínimo de 7 Brix



Tabla 7. Parámetros de calidad de la fresa (continuación)

ACIDEZ TITULABLE	El ácido cítrico es el ácido orgánico principal en el fruto de fresa y el ácido ascórbico es la forma predominante de la vitamina C, su concentración varía entre 9.15 y 20.27 <i>g/Kg</i> en la etapa madura del fruto. La concentración del ácido ascórbico es generalmente más alta en frutos maduros. Se añade que la acumulación de ácidos orgánicos, ácido ascórbico y azúcares solubles depende de los genotipos. Las fresas son aceptables con una acidez titulable de 0.8% como mínimo.
TAMAÑO	La disponibilidad de agua, las temperaturas nocturnas y diurnas, y la intensidad de la luz del día están relacionadas con el tamaño del fruto de la fresa.
FIRMEZA	Los consumidores prefieren frutas de alta firmeza con un sabor superior. La firmeza de la fruta de fresa depende de la época de cosecha, variedad y condiciones de crecimiento. Así también, la temperatura afecta el rendimiento y calidad de la fruta, particularmente el sabor y la firmeza.

Fuente: (Bodelon *et al.* 2010); (Pineli *et al.* 2011); (Kafkas *et al.* 2007)

1.1.6 Principales pérdidas poscosecha

De acuerdo a la norma NMX-FF-062-SCFI-2002 se pueden permitir rangos de daño en el fruto, a lo que se le llama daño menor, el que constituye la disminución muy ligera de la apariencia física del fruto y no afecta en forma considerable el tejido interno (mesocarpio) de la fresa, pero si afecta levemente el epicarpio. Puede consistir en rozaduras, raspaduras, quemaduras de sol y otros defectos que sean superficiales y de escasa extensión.



La degradación de los pigmentos causada por el incremento de la actividad de la polifenoloxidasa como resultado de un estrés fisiológico producido por la pérdida de peso, podría contribuir al desarrollo de pardeamiento superficial del fruto durante el almacenaje. La manipulación adecuada de las fresas para reducir la pérdida de peso durante las operaciones de poscosecha, tales como el pre enfriamiento, embalaje adecuado y almacenamiento en condiciones óptimas de temperatura y humedad relativa, debería contribuir al mantenimiento del color durante el envío y la venta al por menor. En la tabla 8, se explican los daños que le pueden ocurrir a la fresa durante la poscosecha, así como los grados de aceptación de la misma, lo que se considera daño mayor y daño crítico.

Tabla8. Clasificación de daños permitidos para fresa fresca en función de su origen e incidencia

Origen del defecto	Tipo de defecto		
	Menor	Mayor	Critico
Mecánico Magulladuras	Cuando la fruta presenta pérdida de firmeza y el área afectada está ligeramente reblandecida con respecto al resto de la superficie y ocupa hasta un 5 %.	Cuando el área afectada está sin firmeza y la piel presenta un color más oscuro y ocupa del más del 10 % y no más del 15 % de la superficie.	Cuando la pulpa está sin firmeza y la piel presenta un color oscuro y ocupa un área mayor del 15 % de la superficie.
Raspaduras	Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área de hasta 0,40 mm ² de la superficie.	Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área mayor de 0,40 mm ² y hasta 0,80 mm ² de la superficie	Cuando la fruta se encuentra sin piel en un área mayor de 0,80 mm ² de la superficie.
Climático Quemaduras de sol	Cuando presenta un color rojo más intenso en el área afectada y además es notable una ligera resequedad en esta zona y se encuentra afectando un área mayor de 0,25 mm ² y hasta 1,00 mm ² .	Cuando presenta un área afectada mayor de 1,00 mm ² y hasta 2,50 mm ² .	Cuando presenta un área afectada mayor de 2,50 mm ² .



Tabla 8. Clasificación de daños permitidos para fresa fresca en función de su origen e incidencia (continuación)			
Genético-fisiológico	Cuando se altera ligeramente la forma característica y afecta la apariencia.	Cuando se altera la forma característica y se afecta seriamente la apariencia	Cuando se altera la forma característica y se afecta muy seriamente la apariencia
Deformación			
Entomológico	Cuando la fruta se encuentra sin achenios y el área afectada es mayor del 5 % y hasta el 10 % de la superficie.	Cuando el área afectada es mayor del 10 % y hasta de 15 % de la superficie.	Cuando el área afectada es mayor de 15 % de la superficie.
Fresa sin achenios			
Picaduras	Cuando presenta perforaciones ocupando en la superficie de la fruta un área de hasta 0,4 mm ² .	Cuando presenta perforaciones ocupando en la superficie de la fruta un área mayor de 0,4 mm ² y hasta de 2,50 mm ²	Cuando presenta perforaciones en la superficie de la fruta un área mayor de 2,50 mm ² .
Otros	Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área de hasta el 5 % de la superficie.	Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área mayor del 5 % y hasta 10 % de la superficie.	Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área mayor de 10 % de la superficie
Fruta contaminada			

Fuente: NMX-FF-062-SCFI-2002

1.1.6.1 Enfermedades

Las enfermedades son la principal causa de pérdidas poscosecha en la fresa. No se aplican a la fruta fungicidas en poscosecha, lo que aumenta las pérdidas en grandes volúmenes de producción. La principal causa de pérdida poscosecha en fresa se debe a la presencia del hongo *Botrytis cinerea* que genera daños en el color, textura y firmeza del fruto. Los daños mecánicos y malas condiciones de humedad y temperatura en el transporte aumentan de forma significativamente dichas pérdidas. En algunos casos, esta enfermedad es capaz de atacar hasta el 95% de frutos después de 48 horas de cosechados (González, 2009).

Las infecciones por *B. cinerea* pueden ocurrir antes de la cosecha, en el campo, y puede permanecer latente hasta el almacenamiento, cuando el patógeno tiene ventaja para el desarrollo de enfermedades de mayor humedad relativa y baja temperaturas. Al inicio de las infecciones, un área más oscura circular es visible donde los tejidos de frutas son más suaves



que las otras partes de frutas. Posteriormente se encuentran abundantes esporas, cuyo color gamas de blanco a gris, dependiendo de la cantidad de luz, se puede desarrollar desde el sitio de la infección. La infección se inicia desde las aberturas naturales o heridas mecánicas que se producen en la fruta (Errampalli 2014).

La pudrición de “*Rhizopus*” es causada por el hongo “*Rhizopus stolonifer*”, cuyas esporas, generalmente están presentes en el aire y se propagan fácilmente. Este hongo no crece a temperaturas inferiores a 5°C, por lo tanto, el buen manejo de la temperatura es el método más simple de control (Bautista, 2003)

1.1.6.2 Tratamientos poscosecha

La fresa cosechada debe ser almacenada en condiciones adecuadas de temperatura y humedad. Se deben usar recipientes de plástico virgen, y/o cajas de cartón corrugado, limpias, nuevas, que proporcionen buena ventilación y preserven las características del fruto. Todo el material de empaque que entre en contacto con el fruto debe estar exento de cualquier material u olor extraño evitando el contacto directo con el suelo u otras fuentes de contaminación. (Tabla 9)

Debe establecer un programa de lavado y desinfección de las cámaras de conservación. Al respecto, la limpieza, que tiene como propósito la eliminación de partículas de desechos, será seguido por un proceso de desinfección, para la cual se utilizarán agentes desinfectantes que no dejen residuos (Ramirez, 2010).



Tabla 9. Tratamientos aplicados a la fresa en la poscosecha.

Tratamiento	Efecto
Refrigeración	Reducción de temperatura a 5-15°C
Atmósferas modificadas	Modificación del aire, estableciéndose en base al metabolismo del fruto y la permeabilidad del material que lo envuelve. <ul style="list-style-type: none">• Vacío• Sustitución por gas• Mezcla de gases (O₂ y N₂)
Atmósferas controladas	<ul style="list-style-type: none">• La concentración de O₂ es inferior a N₂ y CO₂
Aplicación de calcio	<ul style="list-style-type: none">• Aplicación de Ca provoca la reducción en la respiración, producción de etileno y la incidencia de desórdenes fisiológicos.
Irradiación	Utilización de radiación gamma en combinación con recubrimientos comestibles para la eliminación de microorganismos patógenos.
Recubrimiento comestibles	Barreras comestibles semipermeables a gases y vapor de agua controlando la respiración y deterioro debido a los microorganismos. <ul style="list-style-type: none">• Extractos aceites esenciales• Extractos cítricos• Ceras• Biopolímeros

Fuente: (Baka, *et al.* 1999); (Aider, 2010), (Velickova, *et al.* 2013).

1.2 Generalidades de quitina y quitosán

Se dice que la quitina es el segundo polisacárido más común en el mundo después de la celulosa, por lo que "La quitina es lo que los mariscos celulosa es a los árboles". La quitina es una molécula grande compuesta de β -1,4-N-acetilglucosamina (GlcNAc) monómeros. Hay tres formas de quitina: α , β , y γ quitina. La forma α , se obtiene principalmente de cangrejo y camarones. Tanto α y β quitina / quitosán están disponibles comercialmente. (Miranda, *et al.* 2012).



Actualmente la mayor producción comercial de quitina se basa en la extracción desde el exoesqueleto de los camarones, langostinos, cangrejos y otros crustáceos. Esta fuente contiene un alto porcentaje de material inorgánico, principalmente carbonato de calcio (CaCO_3) y un cálculo aproximado indica que por cada tonelada de quitina producida, 0,8 tonelada de dióxido de carbono (CO_2) se libera en el medio ambiente. (Miranda, *et al.* 2012)

La quitina se extrae de crustáceos por tratamiento con ácido para disolver el carbonato de calcio seguido de extracción alcalina a las proteínas solubilizadas. Además, a menudo se añade un paso de decoloración para eliminar pigmentos sobrantes y obtener un producto incoloro. Estos tratamientos deben adaptarse a cada fuente de quitina pero por desacetilación parcial bajo condiciones alcalinas, se obtiene "quitosán", este es un copolímero compuesto de N- acetil-D-glucosamina y unidades de D-glucosamina (Figura 4). (Miranda, *et al.* 2012).

Se obtiene de tres maneras diferentes, la desacetilación de la quitina termoquímica en presencia de álcali, por hidrólisis enzimática en presencia de una quitina desacetilasa, o natural que se encuentra en ciertos hongos como parte de su estructura. Existen diferentes propiedades de quitosán, tales como el grado medio de polimerización, el grado de N-desacetilación, la carga positiva, y la naturaleza de las modificaciones químicas de su molécula, las cuales influyen fuertemente en su actividad biológica. (Miranda, *et al.* 2012)

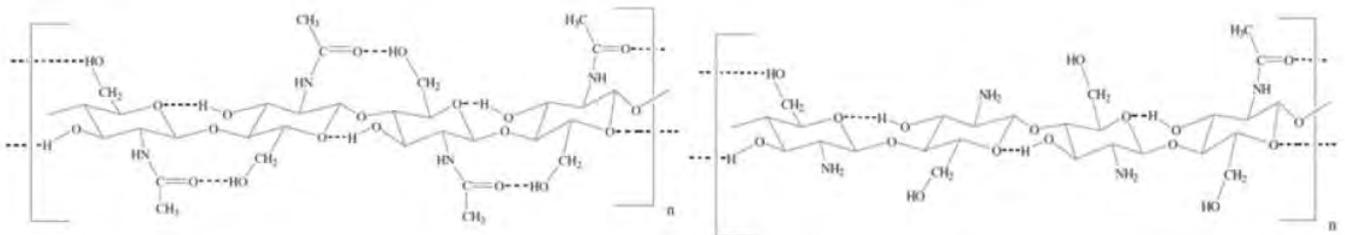


Figura 4: Estructura química de la quitina y el quitosán



1.2.0.1 Actividad antifúngica

La actividad antimicrobiana del quitosán depende de varios factores; tal como el grado de desacetilación, el peso molecular, el pH del medio, la temperatura, la presencia de varios componentes del alimento. El quitosán se adhiere a la membrana plasmática de los hongos gracias a sus interacciones electrostáticas entre las cargas positivas del quitosán y las cargas negativas de los fosfolípidos formadores de la membrana. Una vez adherida causa filtración a través de ella hasta llegar al citosol de la célula lisando las células (Ramos-García *et al.*, 2010). Consecuentemente, el quitosán inhibe el metabolismo normal de microorganismos y finalmente conduce a la muerte de estas células (Devlieghere, 2001).

Se ha examinado la actividad anti-bacteriana en bacterias gram⁺ y gram⁻. Se encontró que el quitosán en las bacterias gram⁺ (como el *Staphylococcus aureus*) tiene mayor efecto inhibitorio que en las bacterias gram⁻ (*Escherichia coli*, *Salmonella* y *Vibrio parahemolyticum*), donde el quitosán inhibió el crecimiento de la mayoría de las bacterias probadas (Azevedo *et al.* 2014). Esta inhibición depende del grado de desacetilación y del tipo de bacteria. El quitosán también tiene actividad bactericida, ya que junto con otras poliaminas interactúa con la membrana celular para alterar la permeabilidad de la misma.

1.2.1 Películas comestibles

Las películas son estructuras del polímero que se forman independientemente y que permanecen separadas de cualquier intención de uso. Estas películas también se utilizan como estructura de prueba para la determinación de propiedades de barrera, mecánicas, solubilidad, y otras proporcionadas por un cierto material de película.

Las películas comestibles son aquellas elaboradas con sustancias poliméricas naturales, han incrementado su interés científico y comercial. Estos tipos de materiales no solo son inherentemente biodegradables sino que son también altamente reciclables. (Coffin, 1993). Son capas delgadas preparadas a partir de material comestible que actúan como una barrera a los elementos externos (factores como humedad, aceite, vapor), y de esta manera, protegen al producto y prolongan su vida de anaquel.



La elaboración de películas comestibles con subproductos descartables de la industria de alimentos ofrece la oportunidad de disminuir los desperdicios, convirtiéndolos en materia prima para la elaboración de películas comestibles de interés nutricional.

Películas comestibles de origen biológico han sido investigados por su capacidad para evitar la pérdida de humedad o de absorción de agua por la matriz del alimento, la penetración de oxígeno a los transportes de material de alimentos, aromas y pérdidas de soluto, (Aider, 2010).

1.2.1.1 Beneficios de las películas biodegradables

Los polímeros sintéticos son volátiles en la economía y calidad de vida de los productos, pero sus desechos llegan a ocasionar serios problemas ecológicos. El 20% de 100 millones de toneladas métricas de basura que se manejan anualmente en EUA, son empaques sintéticos los cuales provienen de fuentes no renovables y disminuir los desechos a través de reciclado biológico con biosistemas.

Se ha desarrollado un interés particular por el desarrollo de películas comestibles para incrementar la conservación de alimentos, para reducir los riesgos ambientales que produce el abuso de los envases o desechos que no son biodegradables para el empaqueo y distribución de estos productos. Los materiales de empaque de biopolímeros pueden contribuir a la reducción de desechos no biodegradables y pueden proveer de alternativas efectivas a las convencionales de empaques a base de petróleo.

Para aplicaciones de recubrimientos en sistemas alimenticios es importante desarrollar películas procesadas favorablemente para obtener características de permeabilidad y por consiguiente, combinar el análisis es crucial para predecir el comportamiento de dicha película y definir la relación estructural o función.

Estos recubrimientos mejoran las propiedades mecánicas, ayudan a mantener la integridad estructural del producto que envuelven, a retener compuestos volátiles y pueden llevar aditivos seguros desde el punto de vista alimentario (antimicrobianos o antioxidantes, entre otros). La funcionalidad de los recubrimientos depende de la naturaleza de sus distintos componentes, de su composición final y estructura. Cuando los frutos son envueltos por



recubrimientos comestibles, se crea una atmósfera modificada en el interior del fruto que reduce la velocidad de respiración y por tanto, el proceso de envejecimiento del producto (Evans, 1990).

1.2.1.2 Funciones de la película biodegradable

La calidad y seguridad son factores de manufactura que son considerados para la estabilidad microbiológica, propiedades físicas, propiedades sensoriales, y velocidad de los cambios químicos que llevan a la pérdida de vida de anaquel.

Los cambios de deterioración química en alimentos incluyen, obscurecimiento no enzimático, hidrólisis de lípidos, oxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas, entrecruzamiento de proteínas, oxidación de proteínas, oxidación de lípidos, hidrólisis de proteínas, oligo y polisacáridos, síntesis de polisacáridos, degradación de pigmentos naturales y cambios glucolíticos.

Este tipo de biopelículas y cubiertas muestran ser una buena barrera para la transferencia de humedad, oxígeno (O_2), dióxido de carbono (CO_2), lípidos, aromas y compuestos de sabor en sistemas alimenticios (García, 2001), como materiales de cubierta para alimentos evitando la migración de la humedad en alimentos con diferentes ingredientes y componentes tales como sandwiches, aderezos, pasteles, dulces y pastas semi-húmedas.

Los cambios fisicoquímicos y bioquímicos que ocurren en los alimentos durante el almacenamiento, se deben principalmente a la migración de agua entre constituyentes alimenticios o entre el medio ambiente. Para la prevención de dichas transferencias, como barrera al vapor de agua, una película puede extender la vida de anaquel y elevar la calidad de alimentos por limitación de la migración de humedad que puede acelerar las reacciones deteriorativas, (Mauer, 2000). En dichas películas la permeabilidad al vapor de agua debe de ser tan baja como sea posible.

1.2.1.3 Materiales formadores de películas

Existen diferentes materiales que pueden ser usados para formar películas comestibles los cuales incluyen proteínas, polisacáridos, lípidos como ceras. Los polisacáridos pueden



impartir cohesión estructural. Una proteína puede aumentar la firmeza de la estructura por plegado inter o intramolecular, y lípidos para adicionar carácter hidrofóbico (García, 2001).

En la actualidad ya existen muchos materiales de proteínas que han sido probados, como lo son la gelatina, proteína de suero de leche, caseína, esto se debe a que las propiedades mecánicas y de barrera son generalmente mejores que las de las películas a base de polisacáridos (Velickova *et al.* 2013).

Las películas basadas en proteínas tienen pobres propiedades de barrera al vapor de agua pero son más resistentes a la transferencia de oxígeno que las películas que son preparadas a partir de polisacáridos (Cuq, 1995).

Las películas comestibles a base de polisacáridos incluyen las que son a base de celulosa y sus derivados, quitosán, almidones, dextrinas, alginatos, carragenina y pectina. Debido a su relativa insolubilidad, en estado natural, la celulosa y la quitina son químicamente tratadas para incrementar su solubilidad en agua (Butler. *et al.*, 1996, García, *et al.*, 2004). El mecanismo principal en la formación de las películas de polisacáridos es la disgregación de segmentos del polímero y la reformación de la cadena dentro de la matriz o gel de la película (Butler *et al.*, 1996).

En películas comestibles los lípidos que han sido usados incluyen cera de candelilla, cera de carnauba, parafina, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ácido oléico, ácido láurico, o ésteres de ácidos grasos, ácido palmítico, capríónico o behénico (Bosques *et al.*, 2000). Los lípidos son los más eficientes como barreras a la humedad debido a su carácter hidrofóbico (Chang *et al.*, 2000). El quitosán es de interés potencial como base de películas biodegradables porque tiene excelentes propiedades de barrera al oxígeno y contra los mohos (García *et al.*, 2004). Las películas de quitosán son quebradizas debido a las extensas fuerzas intermoleculares, pero dicha desventaja se puede superar con la adición de un plastificante en la formulación, aunque es bien sabido que estos materiales alteran la permeabilidad al vapor de agua de películas hidrofílicas. Los puentes de hidrógeno presentes en el quitosán lo hacen sensible al agua. Por ello la necesidad de aumentar la resistencia al agua sin perder su propiedad de biodegradarse, por lo que se adicionan ácidos grasos integrados en



surfactantes a las películas para mejorar sus propiedades de barrera (Garnica, 2001).

1.2.2 Aplicación de películas

Las películas comestibles pueden mejorar las propiedades funcionales de los alimentos. Una buena película puede dar a la fruta, brillo, apariencia atractiva y reducir la pérdida de peso, pero al mismo tiempo puede afectar la respiración normal de la fruta causando condiciones anaeróbicas parciales en la fruta con resultados en la formación de productos propios de la respiración anaeróbica, por ejemplo, el etanol y acetaldehído, los cuales llevan a cabo indeseables cambios de sabores en el fruto.

Los usos de cubiertas comestibles también incluyen la aplicación en frutas y vegetales frescos; nueces, cereales y productos de cereales; dulces y productos heterogéneos (Vachón *et al.*, 2003). La cera como barrera a la humedad se incluye en los cítricos, manzanas, peras, plátanos, chabacanos, nectarinas, melones, aguacates, nabos, zanahorias, pepinos, calabazas, papas, tomates, pimientos y berenjenas; que ordinariamente se almacenan en condiciones de temperatura y humedad relativa ambiente (Bosques *et al.*, 2000). En general, las películas comestibles fabricadas a partir de fuentes naturales, son mecánicamente más débiles que las fabricadas a partir de polímeros sintéticos como polietileno y polietilentereftalato (Chick, *et al.*, 2002).

Películas laminadas de metilcelulosa-zeína de maíz mantiene una calidad aceptable de papas mantenidas durante 43 días a 50% de HR. Películas a base de celulosa se han aplicado a zanahorias encontrándose que se limita la decoloración, senescencia y tiene un menor efecto en el contenido de azúcar y sobre el nivel de los fenólicos solubles, por otra parte, las películas de caseinatos, igualmente aplicados sobre zanahorias, reducen la pérdida de peso en un 65%. (Chick, *et al.*, 2002).

1.2.3 Películas y recubrimientos a base de quitosán

El quitosán es de interés potencial como base de películas comestibles porque tiene excelentes propiedades de barrera al oxígeno. El quitosán se describe en términos del grado de desacetilación y el peso molecular medio y su importancia reside en sus propiedades antimicrobianas en conjunto con su cationicidad y sus propiedades de formación de película. El quitosán puede formar recubrimientos semipermeables, que pueden modificar la



atmósfera interna, lo que retrasa la maduración y la disminución de las tasas de transpiración en las frutas y hortalizas. Las películas de quitosán acuosa son las barreras de oxígeno claras, duras, flexibles. (Velickova *et al.* 2013).

La amplia aplicación de quitosán como material de recubrimiento comestible es asociada a su buena biocompatibilidad, biodegradabilidad, la actividad antibacteriana y antifúngica, la capacidad y seguridad de la formación de membrana. Las desventajas de las películas de quitosán y recubrimientos yacen en su permeabilidad al vapor de agua relativamente alta (Velickova *et al.* 2013).

El quitosán está comercialmente disponible y ha sido empleado en una variedad de aplicaciones, como en tratamientos poscosecha recubriendo frutas y hortalizas frescas.

Se han reportado la aplicación de películas de quitosán para alargar la vida de anaquel y mejorar el control de la maduración de duraznos, peras y kiwis. Estos resultados pueden ser atribuidos a la disminución en los niveles de respiración, inhibición del desarrollo fúngico y al retraso de la maduración debido a la reducción de la evolución de etileno y dióxido de carbono (Muzzarelli *et al.*, 2003).

Se han realizado experimentaciones con las características antifúngicas de quitosán, al ser usadas como recubiertas para aguacates en refrigeración de 3 a 10 °C y se obtuvieron 24 días de vida útil del fruto y un porcentaje de afección menor que el testigo (Salvador, 2000).

Las cubiertas de quitosán aplicadas a pimiento verde reducen la pérdida de peso, velocidad de respiración, pérdida de color, marchitamiento e infección fúngica durante el almacenamiento a 13 °C y 20°C a 85% de HR (Morales, 2013).

En fresa, el quitosán reduce el crecimiento de *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*; así como, los niveles de respiración con un gran efecto a altas concentraciones. Signos de infección en fresas recubiertas con quitosán aparecen después de 5 días de almacenamiento a 13°C comparadas con un día en los testigos. El recubrimiento de quitosán al 1.5% reduce el deterioro causado por los mismos hongos por más del 60%, el fruto recubierto madura normalmente y no muestra ningún signo de fitotoxicidad en las fresas después de 14 días de almacenamiento. Los recubrimientos de quitosán reducen la incidencia de mohos sobre



manzanas por un período mayor a 12 semanas. En fresas y manzanas recubiertas con quitosán ha ayudado a prolongar su vida útil, a controlar su maduración y a protegerlas contra el deterioro fúngico (Ghaouth, 1991; Muzzarelli 2003).



Figura 5: Recubrimiento de fresa base de Quitosán

1.3 Tratamientos poscosecha a base de extractos cítricos

Los ácidos cítricos, son compuestos iónicos de los ácidos orgánicos. Sus componentes naturales son producidos por el metabolismo natural de las futas y legumbres que las protegen de la putrefacción debido a que este actúa como un mecanismo de defensa, tienen un amplio espectro germicida, ya que elimina microorganismos aún en altas concentraciones.

Los extractos cítricos, son aceites esenciales obtenidos de las semillas de diferentes variedades de cítricos como la toronja, naranja, limón, entre otros. Por ejemplo, el ácido acético, cítrico, succínico, málico, tartárico, benzoico y sórbico son los principales ácidos orgánicos que existen en forma natural en los productos frescos.

Los extractos cítricos son sustancias multicomponentes, dentro del fruto tienen funciones biológicas específicas, al extraerse se modifican para encontrar diversos usos en la industria, siendo uno de los más recientes, el de agente bactericida y fungicida.

Los componentes de los aceites esenciales son importantes ya que su composición cualitativa y cuantitativa determina las características de los aceites, que a su vez podría tener un efecto sobre su potencial antimicrobiano. Los aceites esenciales de cítricos contienen 85 al 99% de compuestos volátiles y del 1 al 15% de componentes no volátiles. Los constituyentes volátiles son una mezcla de monoterpenos (limoneno) y los hidrocarburos de sesquiterpeno y sus



derivados oxigenados, incluyendo: aldehídos (cital), cetonas, ácidos, alcoholes (linalol) y ésteres. Para que los componentes se evaporen y puedan ser clasificados como volátil es imperativo que hay una pérdida de peso durante un tiempo o curso de la temperatura. Las energías de activación para el aceite de limón, limoneno y linalol son 33.2, 37.87 y 65.64 kJ mol^{-1} , respectivamente.

Los aceites se almacenan en cavidades en los frutos alineados con las células secretoras que están ampliando continuamente y las diferencias en el efecto antimicrobiano del mismo tipo de aceite de cítricos, pueden atribuirse a factores como la calidad de la fruta, etapa de crecimiento cuando se extrae, y las condiciones ecológicas.

1.3.0.1 Actividad antifúngica

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales han sido reconocidos desde hace siglos y, con la creciente demanda por parte de los cambios en la legislación, las tendencias de consumo y aumentar el aislamiento de patógenos resistentes a los antibióticos, las alternativas a los productos químicos que necesitan bactericidas basadas ser encontrado. Los aceites cítricos no sólo se prestan a utilizar en los alimentos, pero también son generalmente reconocidos como seguros (GRAS) y se han encontrado ser inhibidores tanto en forma de aceite y vapor directo contra una gama de bacterias Gram- positivas y Gram- negativas. Este grupo de aceites puede proporcionar los antimicrobianos naturales que la industria alimentaria requiere para satisfacer tanto sus necesidades y las de los consumidores.

Algunos estudios han encontrado bacterias Gram-positivas sean más sensibles a las OES que las bacterias Gram-negativas. Se ha sugerido que puede ser debido a la membrana externa la cual es relativamente impermeable al que rodea las bacterias Gram-negativas (Smith-Palmer et al., 2001). Aunque esta explicación ha sido generalmente aceptada, (Fisher and Phillips 2008) también ha habido estudios que sugieren que sólo hay un retardo en el crecimiento de las bacterias Gram-negativas. Por lo tanto, durante un período de tiempo más largo los aceites esenciales tendrían el mismo efecto en ambas bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. Esta sensibilidad diferencial se ha observado cuando el uso de aceites / componentes cítricos in vitro, pero no en los estudios sobre alimentos (Fisher & Phillips, 2006). La hierbabuena y su componente, mentol, han demostrado tener un efecto antiplasmático y, aunque esto no



sería un mecanismo para la destrucción de la célula, lo hace interrumpir la eficiencia de la célula. El efecto antiplasmático significa que la secuencia de ADN extra cromosómico no puede ser compartida entre los agentes patógenos a través del R-plásmido, para permitir la aparición de cepas resistentes a los antibióticos, también estos son muy volátiles, especialmente a temperatura ambiente. La difusión será a través de una membrana homogénea donde se aumenta la temperatura, se hace la evaporación de aldehídos tales como citral. (Schelz, et al.,2006).

El estudio por Subba, Southmithri, y Suryanarayana, (1967) demostraron que los aceites de naranja y limón a la concentración de 2000 ppm, siendo inhibidor de esporas de *Bacillus subtilis* (en concentraciones celulares de 4,00,000 por ml) en agar nutritivo. En 2000 ppm de aceite de naranja produce la inhibición completa y limón produjo inhibición 99,9% a *Streptococcus faecalis* (ahora reclasificada como *Enterococcus faecalis*) y *Lactobacillus plantarum* en concentraciones de 10⁶ células/ml. Más tarde Decanos y Ritchie mostraron que los aceites cítricos que tienen propiedades antimicrobianas no sólo contra levaduras, mohos y bacterias que forman esporas, sino también contra las bacterias de intoxicación de alimentos (Decanos, et al.,1987).

1.3.1 Aplicaciones de tratamientos con desinfectantes a base de cítricos

Se ha observado que, en la cáscara de limón a la concentración máxima de compuestos volátiles de la fruta se encuentra la etapa de maduración intermedia. La composición de la mezcla de los componentes en proporciones específicas determina el sabor y también los posibles efectos antimicrobianos de los aceites de cítricos (únicos para cada especie o híbrido).

La evaluación de los aceites esenciales en modelos de alimentos es esencial para establecer si tendrán efectos antimicrobianos eficaces dentro de la matriz del alimento. Se ha encontrado que para las concentraciones inhibitorias mínimas más altas se requieren a menudo cuando se aplican a los alimentos. En limón, naranja dulce y la bergamota y sus componentes, como el linalol y citral, limoneno, se encontró que tienen efectos antimicrobianos tanto en aceite esencial y como en forma de vapor contra *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus* y *S. aureus*.



Cuando se establecieron las concentraciones inhibitorias mínimas invitro solamente bergamota (1e 0.125% v / v), linalool (0.06e 0.125% v / v) y citral (0.03e 0.06% v / v) a concentraciones que eran aceptables para aplicación en alimentos (Fisher & Phillips, 2006). Resultados similares fueron encontrados por Smith-Palmer et al. (1998), utilizando el método con aceite de lima siendo más efectiva contra la *Salmonella* enteritidis y aceite de limón contra *S. aureus* con zonas de inhibición de 7,2 mm. Se requieren concentraciones inhibitorias mínimas de 12,8 mg / mL de limón y aceites de naranja y 6,4 mg/mL (con exclusión de *S. aureus*) de aceite de lima contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, (Palhano et al., 2004; Prabuseenivasan, Jayakumar, y Ignaciumuth, 2006).

La combinación de propiedades antimicrobianas, los aromas y sabores de los aceites esenciales, estos se prestan para su uso en alimentos, también ha dado lugar a la investigación sobre los usos de los aceites esenciales como potenciales conservantes de alimentos, aunque, teniendo en cuenta su potencial. Para los aceites esenciales disponer de una aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos no solo deben ser seguros para el consumo, sino también debe reducir la carga microbiana inicial durante la producción de alimentos para extender la vida útil (Moreira et al., 2005).

Se estudió el efecto en frutas y hortalizas, se lavó con linalol o citral de hoja de col reduciendo las cargas microbianas, registrando aproximadamente $5e6$ ufc en una gama de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, incluyendo *C. jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *B. cereus*, y *S. aureus*. Los vapores de linalol y citral también redujeron la carga microbiana de bacterias Gram-positivas en hoja de col de 8.5 logs/ufc por 2 cm^2 de la muestra a 2.5 logs/ufc por 2 cm^2 hasta 14 hr, después de este tiempo no hubo una reducción más significativa (Fisher & Phillips, 2006).

La norma HACCP de la FDA afirma que antes del envasado de jugo de frutas, los niveles de microorganismos deben estar por debajo de 5 log^{10} . El uso de aceite de naranja desterpenados contra *Salmonella* en 25 y 4°C (Temperaturas de almacenamiento) tomaría 0.04 y 0.03 h, respectivamente, para reducir la carga microbiana a un nivel aceptable para que el jugo



fabricado pueda cumplir con la norma de la FDA (Parish *et al.*, 2003). Zumos de fruta no pasteurizados tienen una vida útil corta, debido al deterioro enzimático y microbiano. La hierba de limón y geraniol se han encontrado eficaces contra 10^6 ufc / mL de *E. coli*, *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* En los jugos manzana, pera y melón a 35° C. Los aceites esenciales fueron más efectivos en el jugo de manzana con reducción de la supervivencia a 3 log ufc/mL para *E. coli* y *Salmonella spp.* y 1,8 log para *Listeria spp.* (Raybaudi-Massilis *et al.*, 2006). Limón y aceites citral (0,5% w / w) se añadieron a las películas comestibles de alginato-manzana y probados contra *E. coli* 0157: H7. Citral fue más eficaz que limón con una zona de inhibición de 49.8 mm en comparación con 40.8 mm, aunque se observó que hubo una reducción significativa en la resistencia a la tracción de la película con la incorporación de los aceites esenciales. (Rojas-Grau *et al.*, 2007).

1.3.2 Citrol K- Ultra

Es un conservador y desinfectante elaborado a partir de extractos cítricos. Cuenta con un amplio efecto contra bacterias Gram-positivas, hongos, levaduras y esporas bacterianas. Es de aspecto líquido transparente, ligeramente viscoso, olor cítrico ligero, libre de películas en suspensión, tiene completa solubilidad en agua y alcohol.

Este no cambia las propiedades sensoriales de los productos, prolonga la vida de anaquel, es estable al calor, su efectividad no depende del pH, además es compatible con otros conservadores y aditivos. Es necesario diluir con agua para facilitar la dispersión en la mezcla final, ya que las dosis utilizadas son muy pequeñas.

Tabla 10. Microorganismos con mayor susceptibilidad a Citrol K-ultra



Bacterias Gram Negativas	Bacterias Gram Positivas	Virus
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6138	Virus de la Bronquitis Infecciosa
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43895	<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 8403	Virus de la Enfermedad de Newcastle
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Virus de la Influenza Aviar
<i>Salmonella</i> Typhi ATCC 6539	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114	Virus de la Enfermedad de Marek HVT
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 13311	<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	<i>Lactobacillus ramosus</i>	Esporas Bacterianas
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	<i>Lactococcus lactis</i> 458	<i>Bacillus cereus</i> NCTC 11145
<i>Vibrio Cholerae</i> C7677	<i>Clostridium perfringens</i> FD 1041	
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 700819	Hongos y Levaduras	
<i>Erwinia carotovora</i>	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	
<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Alternaria solani</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	<i>Botrytis cinerea</i>	
<i>Xanthomonas campestris</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601	

Fuente: Corpo Citric, S.A de C.V

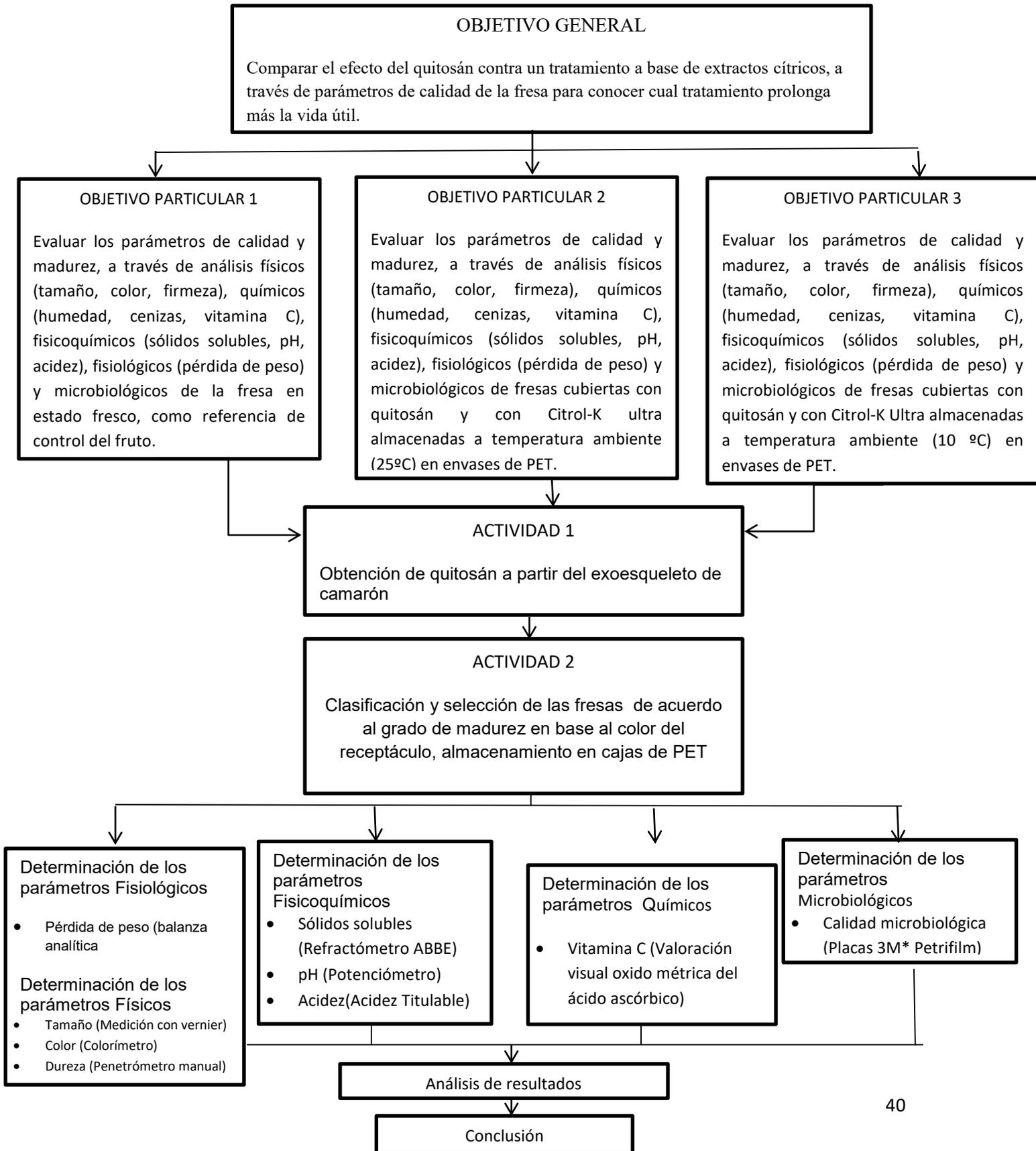


Capítulo II: Metodología



El presente trabajo se llevó a cabo de acuerdo a la siguiente secuencia metodológica.

2.1 Cuadro metodológico.





2.2 Actividad 1. Obtención de Quitosán.

Se obtuvieron 5 kg de exoesqueleto de camarón, el cual fue tratado con las diferentes etapas de extracción de quitosán de la patente 293022, perteneciente a la Doctora Susana Patricia Miranda Castro desarrollada en el laboratorio de Biotecnología en la FESC-1 de la UNAM, en donde por diferentes tratamientos químicos se realizó la extracción de la quitina para posteriormente ser tratada para la obtención del quitosán puro, extrayendo un total de 46g de quitosán, se preparó una solución al 1% con ácido acético al 1% y se ajustó su pH a 5 para su posterior utilización como recubrimiento, dándonos un rendimiento de 81.5% para su posterior utilización como recubrimiento.

2.3 Actividad 2. Selección y acondicionamiento de la materia prima.

Se han utilizado Fresas de la especie “*camarosa*”, proveniente del estado de Baja California, adquiriéndolas en el mercado de Cuautitlán México en el Estado de México. Estas fueron llevadas al laboratorio de biotecnología ubicado en el edificio de posgrado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1; en donde se seleccionaron bajo las especificaciones según la Norma NMX-FF-062-SCFI-2002, las cuales fueron acondicionadas con los diferentes tratamientos de la presente experimentación.

Se seleccionaron cuidadosamente las fresas que se utilizaron, aquellas que lucían con aspecto agradable a la vista, con un color rojo uniforme, olor agradable característico de la fresa, completamente firme, sin ningún tipo de daño mecánico, exentas de hongos apreciables a la vista. Las fresas fueron pesadas y colocadas en cajas de PET para formar lotes homogéneos de 500 g de fresa entre cada tratamiento identificándolas con etiquetas de acuerdo al tratamiento aplicado y almacenado a las diferentes temperaturas propuestas durante el periodo de evaluación. (Figura 6)



A)



B)



2.3.1 Aplicación de recubrimiento de Quitosán y tratamiento de desinfectante Citrol-K Ultra.

QUITOSAN: una vez extraído y formado el quitosán en líquido se utiliza como recubrimiento.

CITROL-K ULTRA: siendo un producto comercial, este tiene una preparación indicada, se maneja el 0.02% del producto por cada litro de agua destilada. Después de su preparación se utilizó dicha solución como conservador y desinfectante.

Ya preparadas las soluciones, se continuó con la inmersión de cada una de las fresas a las que se les fue aplicado los respectivos tratamientos, durante 30 segundos cada una, para asegurar que esté completamente cubierta. Una vez bañadas con la solución fueron colocadas en rejillas de metal para escurrir el exceso de la misma, para su posterior secado a temperatura ambiente. Después del secado, las fresas fueron almacenadas a 25 ± 2 °C, con una humedad relativa de 61% dentro de una incubadora General Incubator Luzeren. Otras fueron almacenadas a 10 ± 2 °C, con una humedad relativa de 58% dentro de un refrigerador AMERICAN una puerta, con la finalidad de mantener las condiciones constantes durante todo el período de evaluación. Se realizaron tres lotes diferentes de fresa de los cuales se dividieron para ser utilizados en los diferentes tratamientos. (Figura 7)



A)



B)



C)



Figura 7: A), B), C) Aplicación de los tratamientos, rejilla escurridora, empaque final de fresas

2.4 Actividad 3. Evaluación fisiológica, física, química y fisicoquímica de las fresas.

Se evaluaron los parámetros de calidad así como las propiedades químicas presentes en la fresa variedad “*camarosa*”. Se utilizaron fresas previamente acondicionadas con y sin la aplicación de los diferentes tratamientos para realizar cada evaluación. La evaluación de los parámetros de calidad como: color, pH, acidez, firmeza y sólidos solubles. La propiedad química que se evaluó fue vitamina C, de acuerdo a los métodos analíticos correspondientes para cada prueba.

Métodos Analíticos

Determinación de los parámetros físicos

a) Tamaño

Se determinó el diámetro de las fresas para cada tratamiento así como para el grupo control por triplicado, esto durante todos los días de almacenamiento. Se midió cada uno de los frutos con ayuda de un vernier, en donde se calculó el diámetro ecuatorial inicial menos su diámetro



final, expresando el resultado como % de pérdida de diámetro durante su almacenamiento. Se realizó un diseño factorial 3x2, con un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual.

b) Dureza

La determinación de dureza se llevó a cabo con el penetrómetro manual, instrumento elaborado por técnicos académicos de la sección de Ingeniería en Alimentos de la UNAM, en Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1, este se encuentra en el Laboratorio Experimental Multidisciplinario Nave 2000, (Figura 8).

Las pruebas de penetración se refieren al surgimiento de un cuerpo o dispositivo en el material de prueba, sometiéndolo a una combinación de compresión y cizallamiento. Este penetrómetro mide la distancia de penetración con el cual se calcula el parámetro a reportar que es la dureza. Para la determinación de la dureza se utilizó una punta cilíndrica, ésta se colocó en el tornillo. Se mide el espesor de la muestra colocando el dispositivo a un 10% por arriba de la base de la muestra, la carátula secundaria se ajusta a 0 (cero) con la varilla de altura y caratula principal con el disco. En función al espesor de la muestras, se define la altura de penetración haciendo subir la varilla de altura, cada número marcado indica que han dado dos vueltas completas a la carátula principal el dispositivo deberá quedar al ras de la superficie de la muestra. Se coloca el material debajo del dispositivo en la base del equilibrio. Se presiona el indicador de disparo del cabezal, se toma la lectura de la caratula principal y de la secundaria que se indican con las agujas. Se realizó la prueba por triplicado.

Se realiza el cálculo de la dureza se sustituyen los valores obtenidos en la siguiente ecuación:

Ecuación (1):
$$D = \frac{F}{A} = \frac{m_T a_g}{A}$$

Dónde:

D= Dureza (Pa)

A= área total del dispositivo que penetró (m²)

m_T = Peso del dispositivo, varilla y cabezal (kg)

a_g = aceleración de la gravedad (m/s²)



Una vez obtenidos los datos, se hizo un diseño factorial 3x2, con un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual.



Figura 8: Penetrómetro manual

c) Color

La madurez en las fresa se da cuando ésta ha alcanzado su punto máximo de crecimiento físico y ha acumulado los suficientes nutrimentos para que, una vez cosechada, pueda continuar su proceso de maduración y alcance su madurez de consumo. Las fresas se deben cosechar cuando presenten como máximo el 50% de su superficie un color rojo tenue o rosa (NMX-FF-062-SCFI-2002).

El color de las frutas se debe a los pigmentos localizados en los plastos, vacuolas y el líquido citoplasmático de las células, muchas veces limitado sólo a las células epidérmicas (por ejemplo, algunas variedades de uvas). La desaparición de la clorofila va asociada a la síntesis o al desenmascaramiento de otros pigmentos, cuyos colores oscilan entre el amarillo y el rojo. Estos son compuestos bastante estables y no se alteran en los tejidos aún en avanzado estado de senescencia (Addy, 1996).

La luminosidad es el valor de la intensidad lumínica, es decir, su grado de claridad. Los colores pueden ser clasificados como tenues u oscuros al comparar sus valores (X-Rite, 2002), al inicio del almacenamiento con los tratamientos a la temperatura de 26°C, no mostraron un efecto en la luminosidad que va desde la reflexión nula ($L=0$) a la reflexión difusa perfecta ($L=100$).



El croma describe lo llamativo o lo apagado de un color, en otras palabras, que tan cerca está el color ya sea al gris o al matiz puro. . En una escala de cromaticidad se puede percibir como cambia el croma conforme nos movemos del centro hacia la periferia. Los colores en el centro son grises (apagados o sucios) y conforme avanzamos hacia la periferia se vuelven más saturados (vivos o limpios). El croma también se conoce como saturación.

El tono es el estado puro del color, sin el blanco o negro agregados, y es un atributo asociado con la longitud de onda dominante entre la mezcla de las ondas luminosas. El tono HUE se define como un atributo de color que nos permite distinguir el rojo del azul, y se refiere al recorrido que hace un tono hacia uno u otro lado del círculo cromático, por lo que el verde amarillento y el verde azulado serán matrices diferentes del verde.

La colorimetría es una de las pruebas que no requiere la destrucción de la muestra, esta prueba se llevó a cabo mediante la utilización de un colorímetro marca Minolta modelo CR-300 por el sistema C.I.E.L*a*b*, el cual da coordenadas (Figura 9).



Figura 9: Colorímetro para la determinación de color

La función del colorímetro es describir la coloración de la epidermis de la pieza de fruta objeto de medición, para ello el aparato muestra tres parámetros, L^* , a^* , b^* , siguiendo el estándar C.I.E.L*a*b* (apertura 8mm, plato blanco de referencia, iluminación estándar D65 y observador a 2°).



Se colocó el colorímetro en posición vertical para la calibración del instrumento colocando el cabezal de medida sobre una placa de cerámica, se colocó la el sistema en modo de medida apretando el botón de “measure”, las medidas de color fueron realizadas en la parte exterior y zona ecuatorial de las fresas por cada tratamiento. Se anotaron los valores de los parámetros **L*,a*,b***.

Los valores de **a*** en abscisas se mueven desde los valores negativos para el verde a valores positivos para el rojo, los valores de **b*** en ordenadas van desde azul al amarillo y el parámetro **L*** representa la luminosidad desde la reflexión nula (L=0) a reflexión difusa perfecta (L=100).

Ecuación (2):
$$\text{Saturación (Croma)} = (a^{*2} + b^{*2})^{\frac{1}{2}}$$

Ecuación (3):
$$\text{Tono en variedades rojas} = \arctg b/a$$

Ecuación (4):
$$\text{Tono de variedades verdes y amarillas} = a^* + b^*$$

Los valores L, a y b se utilizaron para calcular el tono (ángulo de Hue) donde Hue : 0 = rojo-púrpura, 90 = amarillo, 180 = azulado-verde y 270 = azul. El croma indica la intensidad del color o saturación del color.

La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.

Determinación de los parámetros fisiológicas.

a) Pérdida de peso.

La determinación de pérdida de peso de las fresas se realizó por diferencia de peso, utilizando una balanza Scout Pro de la marca Ohaus con precisión y sensibilidad. Se pesaron al comienzo de la experimentación, en donde se colocaron 500 g de fresas en una caja de PET adecuada para el almacenamiento de las fresas. Se designaron 3 grupos de acuerdo a la substancia con las que fueron tratadas (Control, Qitosán, Citrol-K Ultra, mezcla de los tratamientos), cada caja se pesó durante el periodo de almacenamiento, la evaluación se



realizó por triplicado, y se reportaron los resultados obtenidos en gramos y porcentaje de peso perdidos por día.

Este parámetro de evaluación se utiliza como índice de calidad, ya que la pérdida de agua representa un descenso de peso durante su almacenamiento, y por lo tanto una disminución de su valor comercial. Las pérdidas con un valor de 10%, hacen que los frutos salgan del mercado. La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.

Determinación de los parámetros fisicoquímicos

a) Sólidos solubles

Los grados Brix miden la cantidad de sólidos solubles presentes en un jugo o pulpa expresados en porcentaje de sacarosa. Los sólidos solubles están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y demás compuestos solubles en agua presentes en los jugos de la células de una fruta. Se determinan empleando un refractómetro calibrado y a 20°C. Si la pulpa o jugo se hallan a diferente temperatura se podrán realizar un ajuste en ° Brix, según la temperatura en que se realice la lectura.

El contenido de sólidos solubles fue medido directamente mediante un refractómetro de ABBE digital a 20°C, la medición se realizó calibrando el equipo con agua destilada que ajusta a 0% los sólidos solubles. Posteriormente se molieron 10 g de fresa en 100 mL de agua destilada, de esta mezcla, con ayuda de un gotero, se colocó una gota sobre la cara del refractómetro, se pulso el botón de lectura y se tomó la lectura del refractómetro, se midió el contenido de sólidos solubles expresándolo en % de °Brix.

La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.



b) pH

Para esta determinación, se utilizó un potenciómetro marca HORIZON, modelo 5997-20 el cual cuenta con un electrodo. En éste se encuentran dos electrodos uno calibrado y otro sensible a los iones H⁺, al activarlo la diferencia de potencial entre los electrodos, donde al activarlo la diferencia de potencial se despliega en una pantalla sobre el valor exacto del pH de la muestra analizada, de la cual se colocó 10 g de muestra junto con 100 mL de agua destilada, se filtra la suspensión para obtener una solución y se sumerge el electrodo en dicha solución. La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante, (Figura 10).

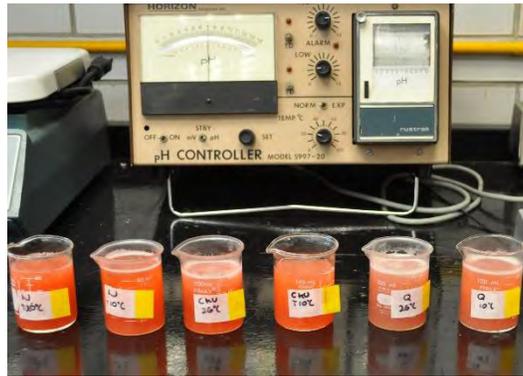


Figura 10: Determinación de pH

c) Acidez Titulable

Se pesaron 10 g, se añadió 100 mL de agua destilada y se homogeniza, este se agrega fenolftaleina de 0.5 a 1 mL, la muestra se tituló con solución de hidróxido de sodio al 0.1N, este se va agregando con aguda de una bureta hasta que el viraje se vuelva rosa tenue y persista por lo menos 15 segundos. Los resultados se expresan en % de ácido cítrico, calculándolo con la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación (5):} \quad \% \text{ Acidez} = \frac{(N) \cdot (V) \cdot (\text{factor de meq de ácido cítrico})}{m} * 100$$



N = Normalidad del Hidróxido de Sodio

V = Mililitros de hidróxido gastados

m= gramos de muestra

f de meq= 0.006404

La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.

Determinación de los parámetros Químicos

Vitamina C

Esta determinación del contenido de ácido ascórbico por el método AOAC 967.21 (2000), el cual se basa en una reacción de óxido-reducción y se emplea el colorante 2,6-diclorofenolindofenol, éste reducido por el ácido ascórbico. Se molieron 25 g de fresa con aproximadamente 70 mL de ácido oxálico al 1% durante aproximadamente 2 minutos, se aforó a 100 mL y se centrifugó durante 10 min a 15 °C. Inmediatamente se filtró el líquido y se transfirió a un matraz aforado de 100 ml, se aforó con solución de ácido oxálico al 1%.

Se preparó una curva patrón, en donde se pesaron 50 mg de ácido ascórbico en una balanza Scout Pro de la marca Ohaus con precisión y sensibilidad, se disolvieron con ácido oxálico y se llevaron a un volumen de 50 ml, para tener una solución con una concentración de 1 mg/mL de ácido ascórbico. Se tomaron 5 mL de esta solución y se transfirieron a un matraz de 50 ml, se aforaron con solución de ácido oxálico, obteniéndose una concentración de 0.1 mg/ml. Se tomaron 2 mL de la solución patrón en un matraz Erlenmeyer y se añadieron 5 mL de ácido oxálico, valorándose con la solución de 2,6- diclorofenolindofenol. La prueba finaliza cuando la primera gota en exceso del reactivo de una coloración rosada de la solución. Esto se realizó por triplicado. Se determinó el equivalente del colorante utilizando, dividiendo los mL del colorante en la titulación de la solución tipo de ácido ascórbico entre 2 mg ácido ascórbico.



Para las muestras de fresa se tomó una alícuota de 10 mL del filtrado obtenido, se colocó en un matraz Erlenmeyer, se añadieron 20 mL de éter etílico, debido a que el color de la muestra enmascara el cambio de color del colorante, se observó en la capa de éter etílico. Se agitó y se tituló con solución de 2,6-diclorofenolindofenol hasta la aparición de un color rosa pálido en la capa del éter etílico. Para el cálculo de vitamina C en la fresa se utilizó la siguiente fórmula:

Ecuación (6):
$$AA = \left(\frac{G \cdot V}{a \cdot m} \right) * E$$

Dónde:

AA = contenido de ácido ascórbico mg /g

G = mL de colorante utilizados en la titulación de la muestra

E = equivalente del 2,6 diclorofenolindofenol

a = mL de la muestra utilizada

m = masa de la muestra (g)

V = volumen al que se aforó (ml)

La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial 3x2x2 realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.

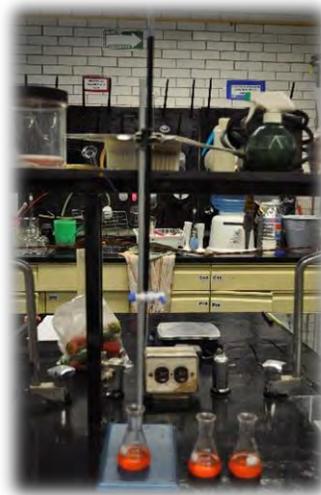


Figura 11: Determinación de ácido ascórbico



Determinación de los parámetros Microbiológicos

Las Placas 3M* Petrifilm" para Recuento de Mohos y Levaduras, son un medio de cultivo listo para usarse que contienen nutrientes de Sabouraud, dos antibióticos, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de fosfatos (BCIP) que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias.

Se preparó una dilución de fresa de 1:10 donde se pesó la fresa en un contenedor estéril, se homogenizó la muestra, se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana, se levantó la película superior y con una pipeta se añadió 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior, asegurándose de no tocar la placa con la punta de la pipeta, se dejó caer la película superior dejando que caiga sobre la muestra. Se sostiene la barra cruzada del dispensador para mohos y levaduras, colocándolo sobre la película superior, cubriendo por completo la muestra presionando suavemente el dispensador para distribuir la muestra, luego de este se espera a que se solidifique la placa procediendo después a la incubación.

Se incuban las placas cara arriba a 20-25°C por 48 hrs, de acuerdo con el manual de operación de las placas y en la guía de interpretaciones 3M las cuales indican el método de conteo, estas placas pueden ser contadas en un contador de colonias estándar, en donde el conteo de levaduras se podía observar como partículas pequeñas de color azul, los mohos se distingue por las colonias más grandes y de diferentes tonalidades que van de verde a café El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm es de aproximadamente 30 cm². Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 30 para obtener el recuento estimado por placa Petrifilm.

Para el conteo de Coliformes totales se utilizaron placas de Las Placas 3M* Petrifilm* para el recuento de Coliformes, contienen nutrientes de Bilis Rojo-Violeta, (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, y un indicador tetrazolium, que facilita el recuento de las colonias. La película superior atrapa el gas producido por los coliformes fermentadores de lactosa, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de pH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia.



Figura 12: Determinación de Coliformes totales en placas 3M Petrifilm

Al igual que con el conteo de mohos y levaduras, se preparó una dilución de fresa de 1:10 donde se pesó la fresa en un contenedor estéril, se homogenizó la muestra, se colocó la placa Petrifilm en una superficie plana, se levantó la película superior y con una pipeta se añadió 1 mL de la muestra en el centro de la película inferior, asegurándose de no tocar la placa con la punta de la pipeta, se dejó caer la película superior dejando que caiga sobre la muestra se deslizó el dedo para distribuir la muestra por toda la placa. Esta placa contiene en la película superior una delimitación, se espera a que se solidifique y se procede a la incubación.

Se incuban las placas cara arriba a 35-37 °C por 24 h, de acuerdo con el manual de operación de las placas y en la guía de interpretaciones 3M las cuales indican el método de conteo, las cuales pueden ser contadas en un contador de colonias estándar, en donde el conteo de coliformes se podía observar como partículas pequeñas de color que va de rosa a rojo, algunas con presencia de gas lo cual confirma su presencia. El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm es de aproximadamente 20 cm². Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento estimado por placa Petrifilm.

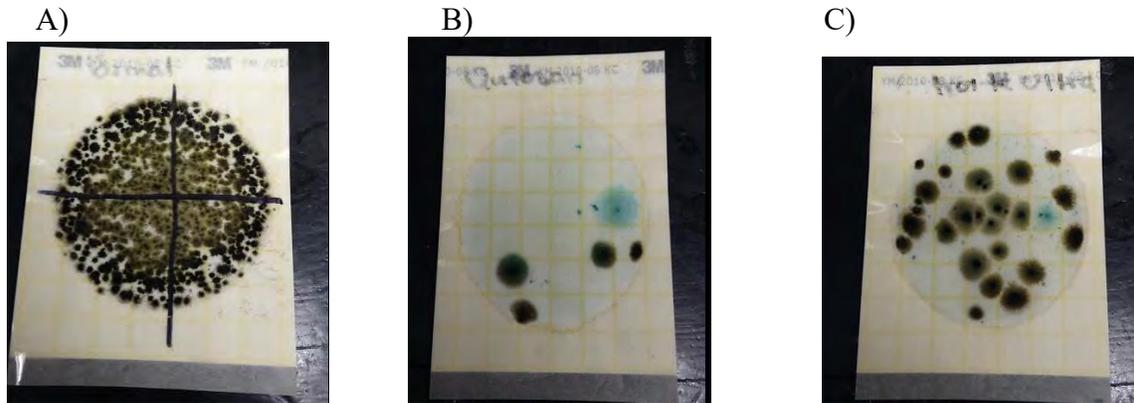


Figura 13: Determinación de mohos y levaduras en placas 3M Petrifilm A) control, B) Quitosán, C) Citrol-K Ultra

Se realizó la identificación de los microorganismos que crecieron a lo largo de la experimentación, se separaron las fresas con diferentes microorganismos visibles, estas fresas se colocaron en cajas Petri con cultivo de Agar Papa Dextrosa haciendo un sembrado con ésta. Conforme fueron creciendo los microorganismos se hicieron nuevos sembrados aislando en diferentes cajas por cada microorganismos. Se realizaron microcultivos

Una vez aislados y purificados los microorganismos encontrados, se tomó un pedazo de agar papa dextrosa y se colocó en un porta objetos, colocando con ayuda de una asa bacteriológica la muestra del organismo. Se colocó un cubre objetos y una vez desarrollado el microorganismo hasta su fase reproductiva, se tomó el cubre objetos colocándolo en un nuevo porta objetos, con una gota de colorante azul algodón, con el que se tiñeron las estructuras de los microorganismos y se observaron en el microscopio. Los microorganismos que se encontraron fueron identificados.

La prueba se realizó por triplicado, analizando los datos en una factorial $3 \times 2 \times 2$ realizando un análisis ANOVA para estudiar el efecto individual, esto se explicara más adelante.



2.5 Diseño estadístico

Los diseños factoriales son ampliamente utilizados en experimentos en los que intervienen varios factores para estudiar el efecto conjunto de estos sobre una respuesta. Existen varios casos especiales del diseño factorial que resultan importantes porque se usan ampliamente en el trabajo de investigación, y porque constituyen la base para otros diseños de gran valor práctico.

Con los datos obtenidos se realiza un diseño factorial 3×2 y $3 \times 2 \times 2$, a los cuales se les hicieron análisis ANOVA, con estos diseños se pueden estudiar los efectos individuales y los efectos de interacción entre los factores, para comparar las diferencias significativas entre cada tratamiento diferente, con un intervalo de confianza y así medir la eficiencia de los tratamientos aplicadas a frutos.

Cada uno de los experimentos se realizó por triplicado para poder realizar un análisis estadístico que permitiera establecer la reproducibilidad de los resultados. Se utilizó el programa estadístico MINITAB 17, se aplicó un análisis ANOVA para establecer si existía diferencia significativa entre las medias.

Para el diseño factorial 3×2 se tomó el tiempo como bloques, el factor de 3 niveles tratamientos utilizados (Control, Quitosan y Citrol-K Ultra) los cuales se tomaron como variables independientes, el factor de 2 niveles fueron las temperaturas a las que se almacenaron (20 y 26 °C), como variables dependientes se tomaron las pruebas físicas, fisicoquímicas y fisiológicas. En el diseño factorial $3 \times 2 \times 2$ se desea determinar el efecto de los tres niveles de los diferentes tratamientos tomados como variable independiente (Control, Quitosan, y Citrol-K Ultra), los siguientes dos factores se tomaron las temperaturas utilizadas (10 y 26°C) y el tiempo como dos factores (inicio y final).



Capítulo III:



Resultados y discusión.



Las fresas tratadas, tuvieron un tiempo de almacenamiento de acuerdo a los tratamientos utilizados, para el caso de las fresas control tuvieron en promedio de 8 días de almacenamiento a temperatura de 26°C y de 10 días de almacenamiento a la temperatura de 10°C. El tratamiento de Citrol-K Ultra mantuvo en promedio de 9 días de almacenamiento a temperatura de 26°C y de 12 días de almacenamiento a la temperatura de 10°C. Las fresas con Quitosán tuvieron en promedio de 8 días de almacenamiento a la temperatura de 26°C y de 15 días de almacenamiento a la temperatura de 10°C. Para poder realizar el estadístico se estableció un bloque de 8 días, para poder comparar las diferencias significativas entre cada tratamiento y así medir la eficiencia de los tratamientos aplicados.

A continuación se presentaran los resultados obtenidos sobre la investigación experimental realizada.

Clasificación física de la fresa.

Para la realización de este estudio, fue necesaria la evaluación física de la fresa para la selección óptima de la materia prima, a fin de establecer lotes homogéneos de ésta, los parámetros evaluados fueron: tamaño, color, peso, daño físico y microbiológico.

TABLA 11: PARÁMETROS FÍSICOS DE LA FRESA

Parámetro	Promedio
Longitud ecuatorial	2.8 ± 0.5 cm
Longitud polar	5.1 ± 0.5 cm
Peso	15 ± 0.8 g
Color	Uniforme
Daño físico	Sin presencia
Daño microbiológico	Sin presencia

De acuerdo a los datos obtenidos de la experimentación y conforme a la norma : **NMX-FF-062-SCFI-2002** se clasificaron las fresas como tamaño B, de acuerdo a los demás parámetros, esto se representa como calidad extra México I y calidad México II, ya que se



clasifica por los parámetros de aceptación así como la calidad de la misma, eso quiere decir que no presente daños mecánicos, que esté completamente firme, que no muestre defectos de formación y que no tenga presencia de microorganismos visibles, deben de presentar una coloración roja uniforme que se extienda hacia la base del pedúnculo cubriendo un mínimo de 50% de la superficie, por lo cual, la fresas clasificadas para la experimentación cumplen con dichos parámetros.

Determinación de los parámetros fisiológicos

Pérdida de peso

A los datos obtenidos de la experimentación se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2 (3 tratamientos y 2 temperaturas), en el cual se obtuvo la tasa media de pérdida de peso por día transcurrido. Al finalizar el almacenamiento (8 días) el análisis mostró que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p < 0.05$) figura 14.

Los datos de pérdida de peso de las fresa con los tratamientos de quitosán, Citrol-K Ultra, además del control almacenadas a 26°C y 10°C se muestran en la figura 14, se puede observar que en general las fresas a menor temperatura (10°C) tuvieron una menor pérdida de peso que las fresas que se mantuvieron a una temperatura mayor (26°C). Se puede apreciar que en los tratamientos, las fresas que tuvieron una menor pérdida de peso en comparación con el control, fueron aquellas que contenían el Citrol- K Ultra teniendo una pérdida de peso total de 14.48 % a 10°C y un total de 13.17 % a 26°C. En comparación con el control el cual presentó un 18.78% a 26°C y un 16% a 10°C de pérdida de peso. Para el caso del quitosán, se puede apreciar que las fresas presentaron mayor pérdida de peso que el control de 22% a 26°C y una menor al control 15.07% a 10°C.

La pérdida de peso constituye uno de los factores que más afectan la calidad ya que causan daños por marchitamiento, pérdida de textura, entre otros, además dichas pérdida de peso hacen a los frutos no comercializables. Las diferencias de pesos se deben a que las fresas control perdieron más agua durante el paso de los días de estudio, sin embargo la aplicación



de los tratamientos favoreció su conservación y ayudo a mejorar ciertas características debido a la atmosfera que se formó por la aplicación de estos recubrimientos, el quitosán a una temperatura baja es bastante favorable teniendo una pérdida de peso menor al control.

Los efectos del quitosán se ven marcados a partir del cuarto día, como en otros estudios realizados por otros autores (Devlieghere et. al 2004). Se puede notar la disminución de la respiración de la fresa, aunque inicialmente se observa un aumento de la misma, esto es por el estrés a la adaptación de la misma al medio que está expuesto, pero si bien a los días que el control se almacena parece que el quitosán se reduce más que el mismo control.

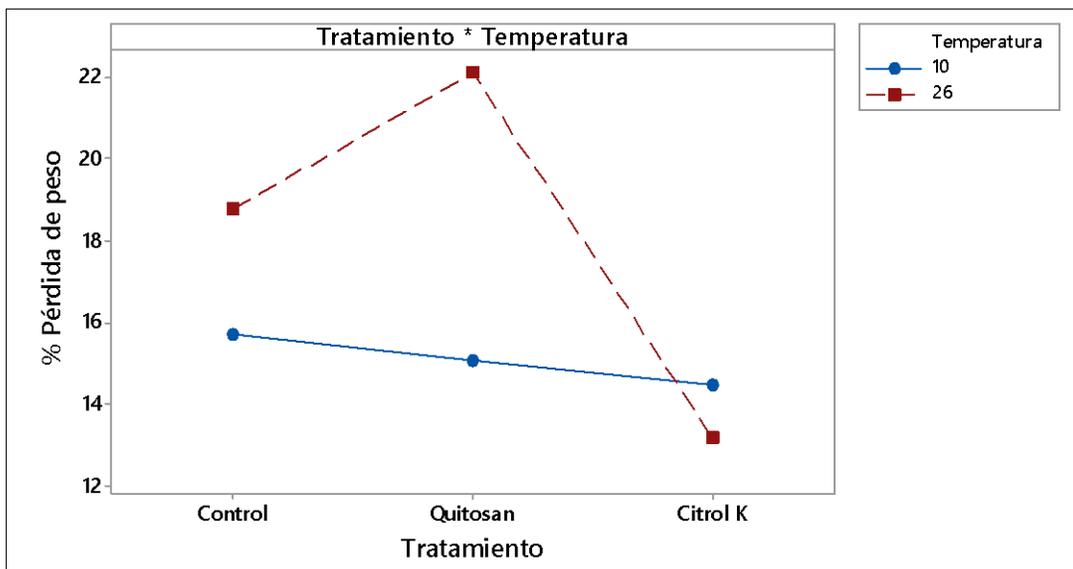


Figura 14. Efecto de la Interacción entre temperatura y tratamiento en la Pérdida de peso.

De acuerdo a los resultados, se infiere un efecto continuo por la concentración de ácidos orgánicos que provocan desórdenes en los tejidos de la fresa facilitando la transpiración de los frutos; sin embargo con la utilización de envases de PET con perforaciones se disminuyeron las diferencias de la presión de vapor de agua entre la atmósfera y la superficie del fruto.



La respiración es un proceso fisiológico que también provoca pérdidas de peso, ya que el agua, así como los átomos de carbono en forma de bióxido de carbono se obtiene como subproductos de este proceso metabólico (Krochta et. al, 1997).

Determinación de los parámetros físicos

Reducción de tamaño

A los datos obtenidos de la experimentación se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2 (3 tratamientos y 2 temperaturas), en el cual se obtuvo la tasa media de reducción de tamaño por día transcurrido. Al finalizar el almacenamiento (8 días) el análisis mostró que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p < 0.05$) figura 15.

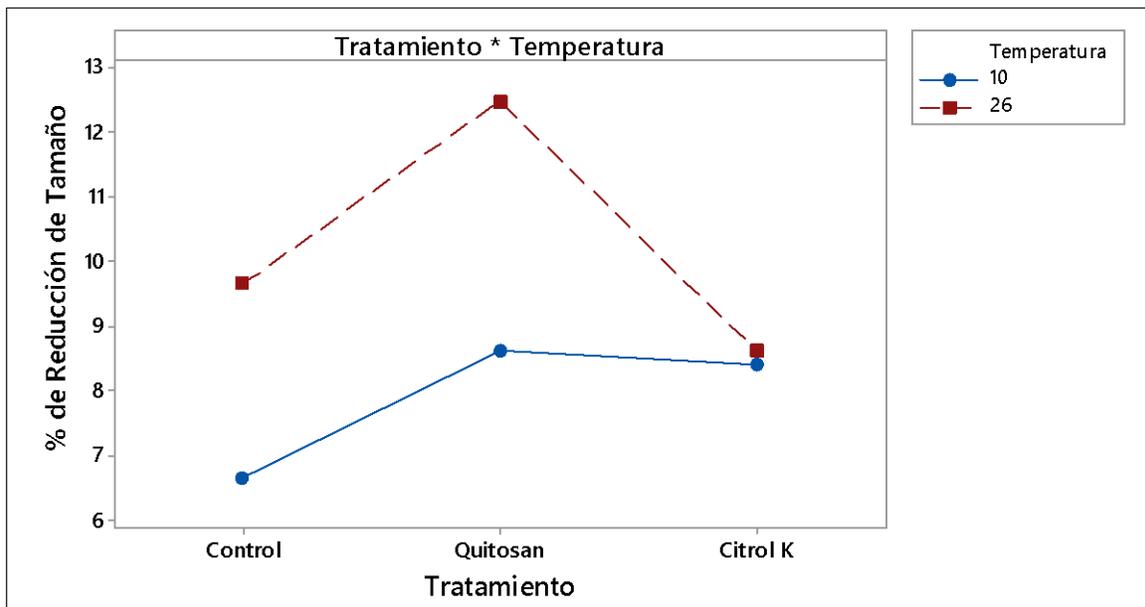


Figura 15: Efecto de la Interacción entre temperatura y tratamiento en la reducción de tamaño

Se muestra el comportamiento de los diferentes tratamientos, en este se puede observar que las fresas a menor temperatura (10°C) tuvieron una menor reducción de tamaño que las fresas



que se mantuvieron a una temperatura mayor (26°C). También se puede apreciar que en los tratamientos, las fresas que tuvieron una menor reducción de tamaño en comparación con el control, fueron aquellas que contenían el Citrol- K Ultra teniendo una reducción de tamaño total de 8.41% a 10°C y un total de 8.62% a 26°C. De acuerdo a Pérez (2013), esto pudo ser ocasionado por los componentes ácidos orgánicos del Citrol-K Ultra, los cuales, entran a la pared celular y permite que el fruto pierda menos agua y respire de manera más lenta. En el caso del recubrimiento con quitosán tuvo una reducción de 8.62% a 10°C y 12.49% a 26°C, ya que este tiene una permeabilidad al vapor de agua relativamente alta y genera que se pierda agua lo cual ocasiona una mayor reducción de tamaño.

En la figura 16 se puede notar que, los recubrimientos no lograron evitar la reducción de tamaño durante el almacenamiento de las fresas, por el efecto natural de la maduración ya que la transpiración continúa aunque haya cesado el suministro de agua lo que puede deshidratar los tejidos de la fresa, dado que el potencial del agua del aire es relativamente seco y genera una disminución de volumen y marchitamiento en los tejidos mayormente expuestos (Wills *et al.* 1999).

La concentración de ácidos orgánicos utilizados de Citrol-K Ultra influyó directamente con la estructura de las fresas tratadas provocando desórdenes en los tejidos elásticos restando integridad física y visual en los frutos con dicho recubrimiento. Se observó un efecto significativo ($p < 0.05$) por la aplicación del Citrol-K Ultra con respecto al control. Sin embargo, la degradación en las paredes celulares de todos los frutos fue similar, por lo tanto hubo una mayor actividad fisiológica.

El recubrimiento de quitosán actúa como barrera de transferencia de humedad, si bien, en los primeros días no se ve claramente que la reducción de tamaño se retrase notoriamente, sin embargo, si se observó un efecto significativo ($p < 0.05$) en la aplicación del recubrimiento con respecto al control.

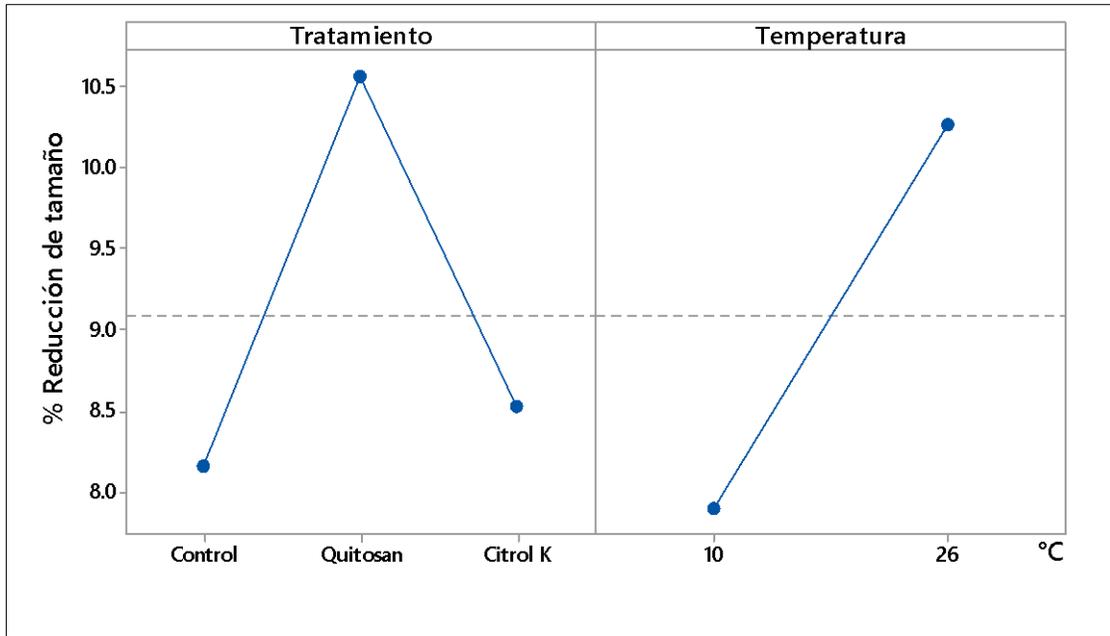


Figura 16: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para reducción de tamaño

Firmeza

La pérdida de firmeza de los frutos se debe en principio a la pérdida de rigidez estructural de la pared celular. En el ablandamiento de la pulpa también influyen los cambios hídricos de los constituyentes celulares durante la maduración, pero su influencia es menor al de las alteraciones de la pared celular; en general la pérdida de agua en el fruto reduce la firmeza de los tejidos (Díaz, 2002).

Se realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2 (3 tratamientos y 2 temperaturas), en el cual se obtuvo la tasa media de reducción de tamaño por día transcurrido. Al finalizar el almacenamiento el análisis mostró que no existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p > 0.05$), sin embargo se encontró diferencia significativa entre los tratamientos figura 17.

Durante el almacenamiento la pérdida de firmeza aumento en todos los frutos, sin embargo, las fresas sin tratamiento tuvieron una pérdida de firmeza de 19.33% a 10°C, y un 27.04 a 26°C, lo cual implica un debilitamiento importante de las paredes celulares de los frutos, para



el caso del Citrol-K Ultra, no se ve muy favorecido dado que para el caso de la temperatura baja (10°C) tuvo un comportamiento muy similar al control dando una media de 19.79, para una temperatura alta (26°C) se tuvo una media de 23.13, siendo levemente menor que el control, por lo que no se encontró diferencia significativa entre el control y el Citrol-K Ultra ($p>0.05$).

Se sugiere un efecto por la concentración del ácido acético ya que éste reduce el pH sin inhibir su tendencia normal hacia el aumento; sin embargo, esta reducción favorece la hidrólisis o degradación de los carbohidratos poliméricos, especialmente sustancias pécticas y hemicelulosas, debilitando las paredes celulares y las fuerzas cohesivas que mantienen unidas a las células, lo que se tradujo en una pérdida pronunciada de firmeza en los frutos tratados aunque ésta fue menor con respecto al grupo control.

Para el caso del Quitosán, la pérdida no fue tan pronunciada registrando un valor de la media de un porcentaje de pérdida de firmeza de 11.95% a la temperatura de 10°C y un 21.16% a la temperatura de 26°C. El tratamiento de Quitosán mostró diferencia significativa con respecto al grupo control, este grupo permanecieron más firmes.

Es posible que el recubrimiento de quitosán ayuda a reducir la velocidad con la que las pectinas son hidrolizadas, principalmente las propectinas insolubles en agua, que son depolimerizadas por hidrolasas a sustancias solubles, contribuyendo a que la textura de las fresas permanezca firme por un tiempo mayor; es posible que el recubrimiento retarde la acción o síntesis de la enzimas que actúan sobre las celulosas y hemilcelulosas constituyentes de las paredes celulares, influyendo en la conservación de la firmeza de los tejidos para conservar la característica se desea.

De acuerdo a lo reportado por Srinivasa, mangos dentro de cajas de cartón cubiertas con películas de quitosán almacenados a temperatura ambiente ($27\pm 2^\circ\text{C}$ a 65% HR) permanecieron con mayor firmeza ,verdes y frescos hasta el día 18, además hubo una reducción de pérdida fisiológica de peso 7.5 % comparados con mangos dentro de cajas de cartón cubiertos con películas de polietileno de baja densidad, que presentaron una reducción de pérdida de peso del 3.5%, sin embargo presentaron desarrollo de sabor indeseable y crecimiento fúngico después del día 12 de almacenamiento (Srinivasa, et al. 2002)

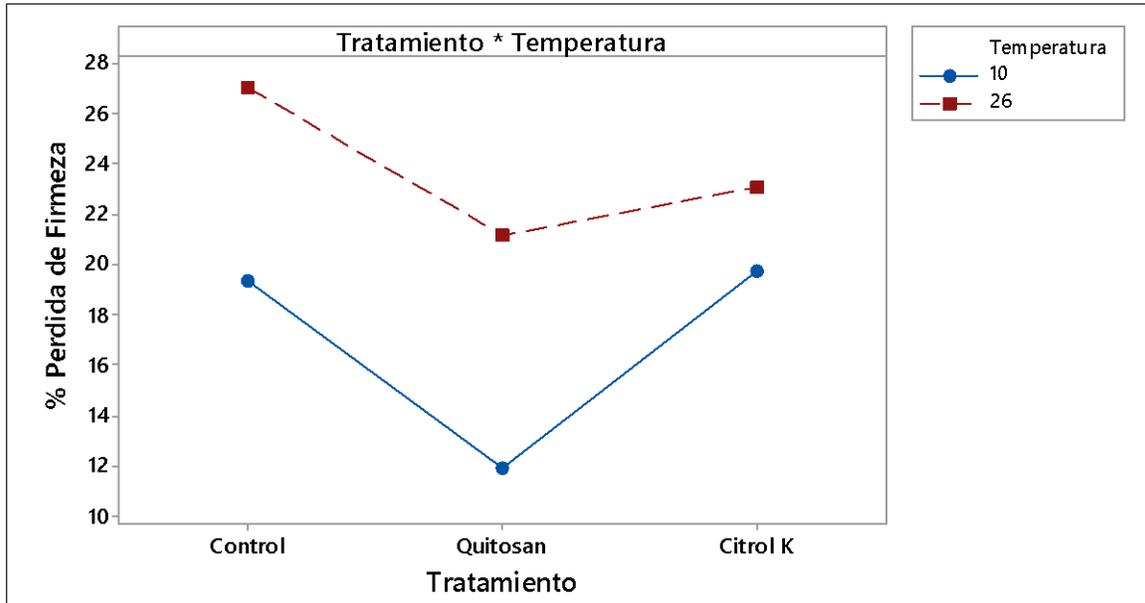


Figura 17: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para la pérdida de Firmeza

Cambios en el Color

La calidad de las frutas depende de aspectos físicos como son el tamaño, color, aroma, forma y la ausencia microbiana. Para lograr una mayor calidad es necesario cosechar un producto en su estado óptimo de madurez, que esté sano y se debe realizar un procedimiento de recolección adecuado además de la aplicación de tecnologías que permitan conservar las frutas de acuerdo con su potencial.

A los datos obtenidos de la experimentación se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2 (3 tratamientos y 2 temperaturas), en el cual se obtuvo la tasa media de cambios en el color.

- **Luminosidad**

Las antocianinas presentes en el fruto son el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano, presentan el inconveniente de ser muy inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento o el



procesamiento. Además, son sensibles a factores externos como la luz, el pH y la temperatura (Badui, 2011).

A lo largo del almacenamiento se encontró un descenso de este parámetro para las fresas tratadas con Quitosán y con Citrol-K Ultra a 26°C con respecto al control ver figura 18. El recubrimiento comestible no mantuvo la luminosidad característica de la fresa, ya que se fueron degradando las antocianinas al mismo tiempo que en los frutos sin recubrimiento. Se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos y la temperatura de almacenamiento.

Esto concuerda con los estudios de Velera (2011), quienes usaron un recubrimiento comestible de almidón (2%), metil-celulosa (3%) y quitosán (2%) para mantener la calidad de frutos de mango durante el almacenamiento, obtuvieron como resultado que el valor de la luminosidad mostró diferencias significativas a los 4 días de evaluación en los frutos tratados con almidón y quitosán respecto al control, mientras que a los 8 días de evaluación los 3 recubrimientos fueron estadísticamente diferentes al control, no obstante el valor de la luminosidad a los 2 días de evaluación fue estadísticamente similar. El valor de Luminosidad decreció ligeramente durante el almacenamiento indicando que la piel se tornó menos brillante.

Para la temperatura baja (10 °C) el control muestra la menor luminosidad en comparación con los otros dos tratamientos, siendo el Citrol-K Ultra el que pierde menos luminosidad en comparación con el Quitosán a lo largo del almacenamiento. El anterior comportamiento de luminosidad se pudo deber a que la aplicación del tratamiento, ayudó a mejorar la brillantez de las fresas con respecto a las que no recibieron el mismo tratamiento, como fue el Quitosán y el control. Estos estudios concuerdan con los de Pérez (2008), donde se usó un recubrimiento con extractos vegetales donde el recubrimiento comestible controla la podredumbre gris en la fresa, en éste se obtuvo como resultado que el valor de la luminosidad mostró diferencia significativa ya que las fresas tratadas con mucilago de nopal tuvieron mayor luminosidad con respecto al control al final del almacenamiento.

Las antocianinas presentes en el fruto son el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano, presentan el inconveniente



de ser muy inestables y muy susceptibles a la degradación durante el almacenamiento o el procesamiento. Además, son sensibles a factores externos como la luz, el pH y la temperatura (Badui, 2011).

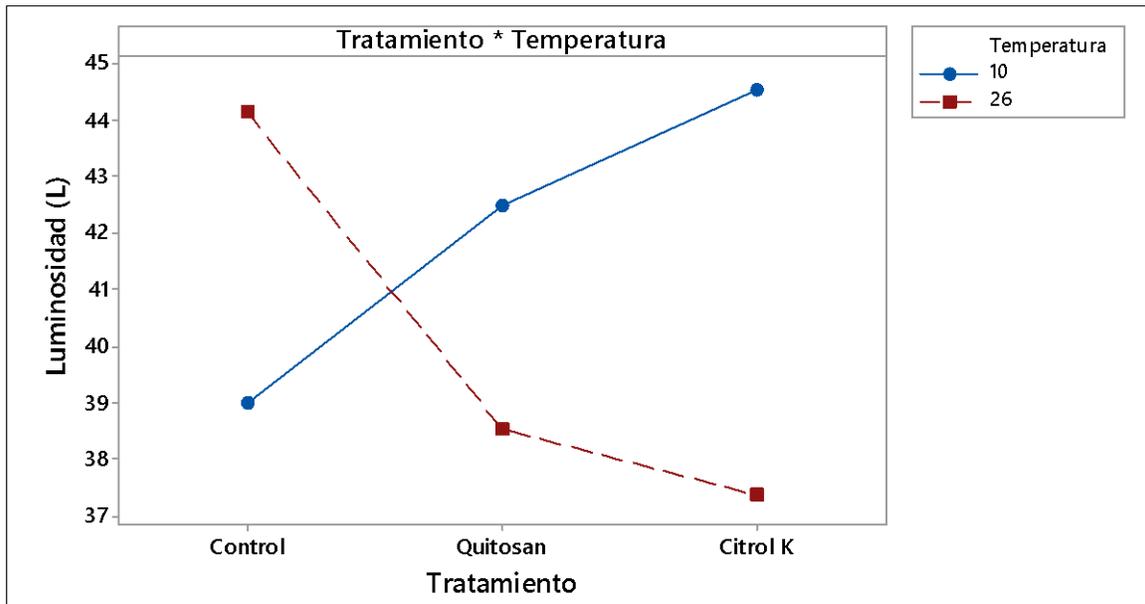


Figura 18: Efecto de la Interacción entre temperatura y tratamiento en la Luminosidad

- Croma

Los valores de cromaticidad de las fresas con diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$) a lo largo de los días de almacenamiento en las fresas con los tratamientos a las dos diferentes temperaturas, en la **figura 19** se muestran los cambios en el croma de las fresas en donde las fresas control mostraron mayor croma en las dos temperaturas de almacenamiento, teniendo un valor de $C = 59.3$ para la temperatura de 26°C y $C = 63.53$ para la temperatura de 10°C .

Comparados los dos tratamientos el que tuvo un mayor croma a lo largo del almacenamiento fue el Citrol-K Ultra en las dos diferentes temperaturas de almacenamiento, teniendo valores



de croma de $C=57.38$ a la temperatura de 26°C y $C=62.16$ a la temperatura de 10°C , en comparación con el quitosán el cual tiene valores ligeramente inferiores, en donde el croma a las diferentes temperaturas fue de $C=55.96$ para la temperatura de 26°C y $C=61.55$ para la temperatura de 10°C . En los tres tratamientos a menor temperatura (10°C) tuvieron una menor pérdida de croma en comparación con la mayor temperatura (26°C) sin embargo no hubo diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0.05$).

Se atribuye este efecto a la concentración del ácido cítrico utilizado en el recubrimiento, debido a que las antocianinas que le proporcionan el color rojo característico a las fresas no se encuentran en estado libre en los alimentos, pues su presencia es indicio de una posible hidrólisis química o enzimática del enlace glucosídico del pigmento; esta reacción no necesariamente causa la pérdida del color, pero la aglicona se vuelve más sensible a muchos factores externos, e incluso puede precipitar por cambios bruscos en el pH del alimento, en ambos casos el color se ve fuertemente afectado después de algún tiempo (Badui, 1994).

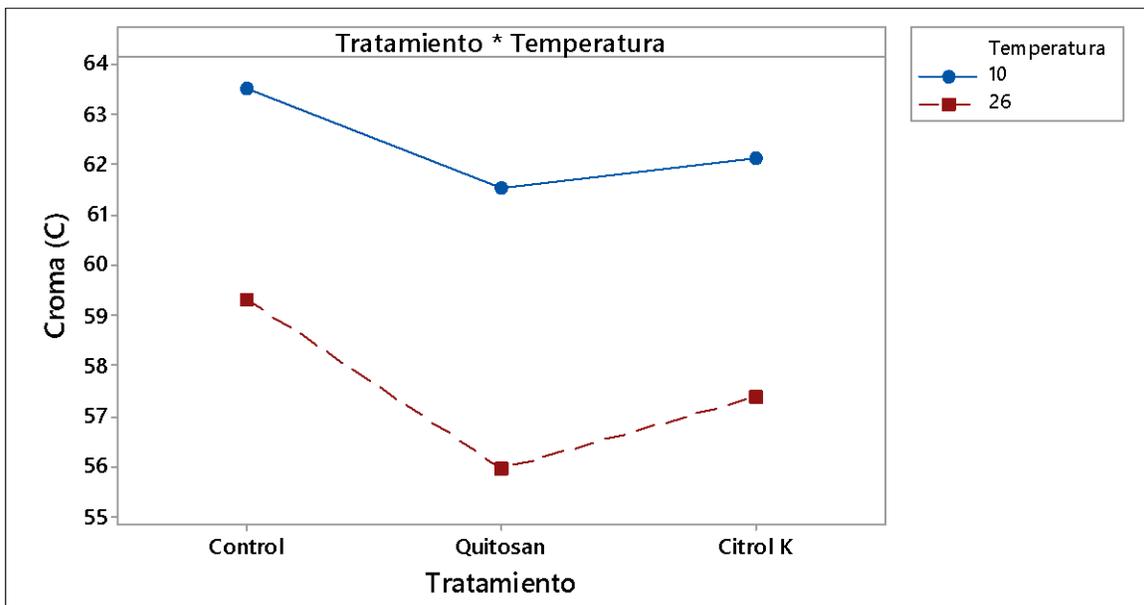


Figura 19: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura para el Croma



- Tono

En la **figura 20**, se muestra tono (hue) de las fresas tratadas, presentaron valores aproximados de Hue=38-43. Sin embargo, no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) por efecto del tratamiento y la temperatura.

Al utilizar el Citrol- K Ultra, las fresas con dicho recubrimiento mostraron un mayor tono con respecto al tratamiento de Quitosán a una mayor temperatura (26°C), al contrario de los tratamientos almacenados a una menor temperatura (10°C) en donde el Citrol-K Ultra es ligeramente mayor que el Quitosán, y estos dos son mayores que el control, por lo que, a menor temperatura el tono se ve aumentado en los tratamientos, más para el Citrol-K Ultra, ambos con respecto al control. Las diferencias encontradas se deben a que la aplicación del recubrimiento Citrol-K Ultra ayudo a preservar el tono de las fresas, pues las conservó con mejores características.

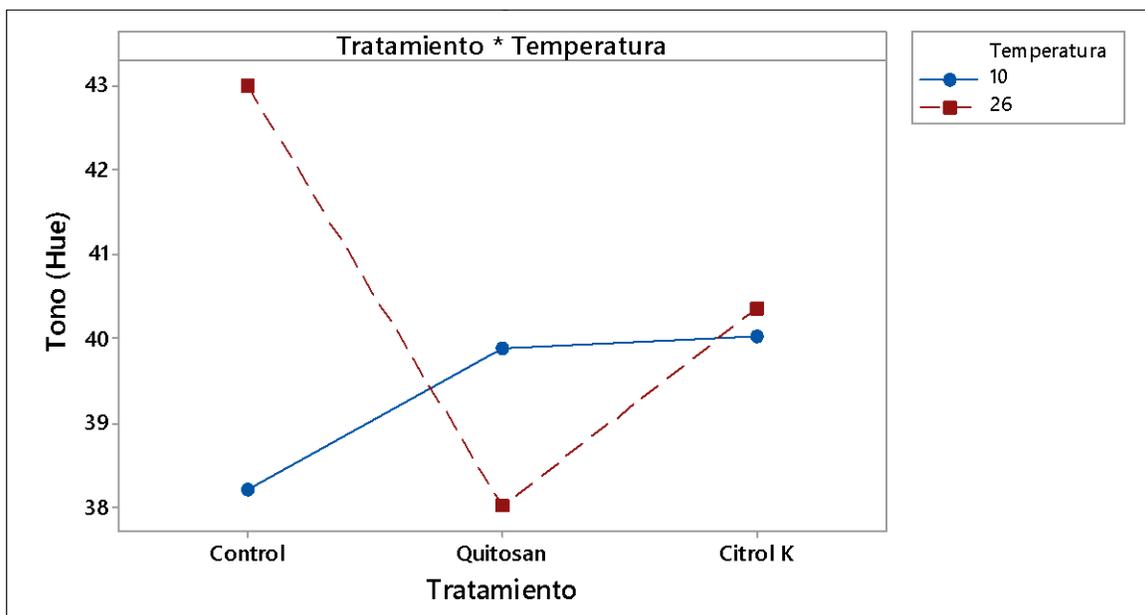


Figura 20: Efectos principales entre los tratamientos y la temperatura en el Tono



Determinación de parámetros fisicoquímicos

Sólidos solubles

En frutos no climatéricos, el desarrollo de la calidad comestible se halla en asociado con el aumento del contenido de azúcares en los frutos, aunque en este caso no procedan de la degradación de sus reservas amiláceas, si o de la savia del mismo. El contenido de los azúcares en los frutos se evalúa con el contenido de los sólidos solubles, también se evalúan en términos de azúcares reductores y azúcares no reductores de (Primo, 1997).

Este parámetro es uno de los más asociados a la maduración ya que se asocia con la degradación de los carbohidratos en los frutos, tiene efecto de alterar tanto el sabor como la textura del producto. El aumento del contenido de azúcares en el fruto los hace más dulces por lo que acepta su aceptabilidad (Davies, 1998).

Los datos obtenidos en la determinación de los sólidos solubles en fresas cubiertas con quitosán y citrol K ultra y almacenadas a 10 y 26°C se muestran en la figura 21. Se observan las interacciones entre los 3 tratamientos y 2 temperaturas. A estos datos se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2, en el cual se obtuvo la tasa media de sólidos solubles por día transcurrido, al finalizar el almacenamiento (8 días), el análisis mostró que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p < 0.05$).

En la figura 21 se observa que las fresas control a menor temperatura (10°C) mayor será el contenido de sólidos solubles en su sistema, al contrario de la temperatura mayor (26°C) en donde el contenido de sólidos solubles fue menor. La disminución de los sólidos totales en la fresa control fue estudiada por Condenunsi *et al.* (2003) quienes proponen que la invertasa genera una mayor actividad metabólica, el cual podría explicar el consumo de sacarosa por el tejido, al contrario de las fresas control a menor temperatura (10°C) donde se presenta una menor actividad enzimática por lo que genera que no se degraden con mayor facilidad los sólidos solubles, pero al tener pérdida de humedad los sólidos solubles tienden a aumentar.

El tratamiento a base de quitosán muestra diferencia significativa contra el control ($p < 0.05$) entre el tratamiento y la temperatura en base a los sólidos solubles totales, en donde se presenta un comportamiento similar a las dos temperaturas experimentales, en el cual tiene



un pequeño aumento a mayor temperatura (26°C), los dos comportamientos se deben a la pérdida de humedad que presenta el quitosán por ser una película semipermeable, esta los protege de tener un aumento de los sólidos solubles totales gracias a que retarda la actividad enzimática de la fresa.

Para Citrol-K Ultra se puede observar diferencia significativa contra el control ($p < 0.05$) en la reducción de sólidos solubles totales ya que este tratamiento a base de ácidos orgánicos sugiere la degradación en las paredes celulares del fruto por una mayor actividad fisiológica, por lo que los tejidos hicieron uso de la sacarosa para mantener su estabilidad en el fruto lo que nos dan resultados bajos de sólidos solubles (Pérez, 2013).

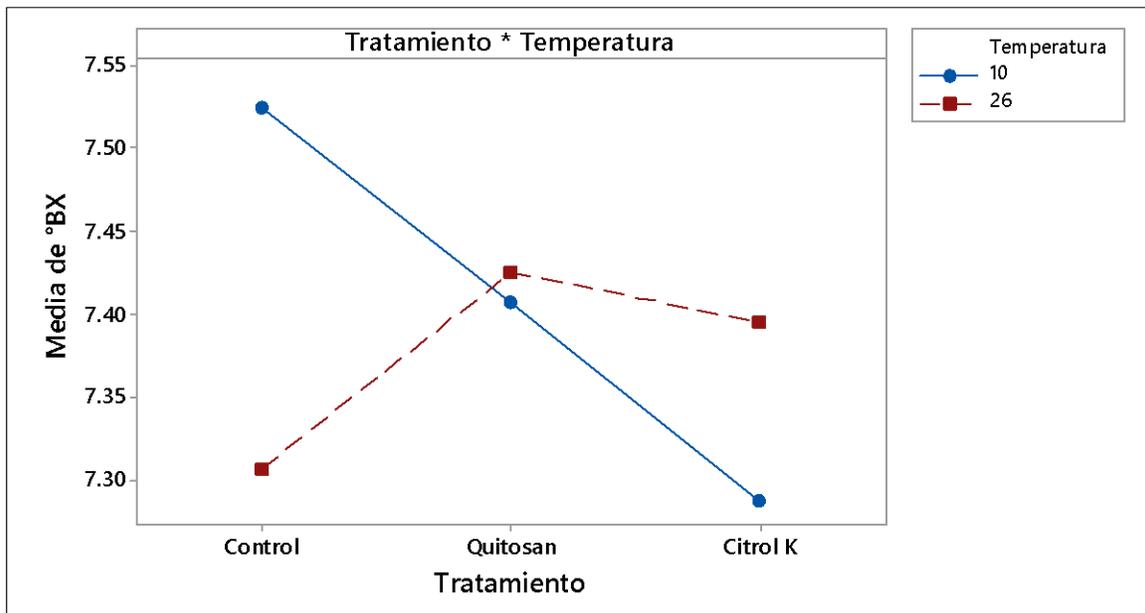


Figura 21. Interacción de los tratamientos y temperatura para sólidos solubles totales

Los resultados sugieren que la modificación de los sólidos solubles en las fresas con recubrimiento de quitosán se debió a un efecto del cambio de la atmósfera que rodea al fruto ya que existe una interacción entre el recubrimiento de quitosán con la estructura y metabolismo de las fresas. Al aplicar un recubrimiento comestible de diferentes compuestos como por ejemplo de ésteres de sacarosa, carboximetilcelulosa de sodio y ácidos grasos en fresas almacenadas en refrigeración, se demostró su efectividad mediante el aumento del contenido de sólidos solubles al final del almacenamiento (Venegas et al., 2002).



pH

El pH de un alimento es la medida de la acidez o alcalinidad de ese producto. Nuestro sentido del gusto sólo es capaz de reconocer diferencias importantes en el pH dentro de sistemas alimentarios complejos. Un producto ácido tendrá un sabor agrio, mientras que un producto alcalino tendrá un sabor amargo (Martínez, 2004).

Se realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2, en el cual se obtuvo la tasa media de medición de pH por día transcurrido, al finalizar el almacenamiento el análisis mostró que existe una diferencia significativa en las temperaturas y los tratamientos, así como en las interacciones ($p < 0.05$). En la figura 22 se puede notar que el pH de las fresas durante el almacenamiento a temperatura baja se mantuvo bajo para los tres tratamientos, esto es por la reducción de actividad fisiológica de las mismas que causa la temperatura. Se observa que el Citrol- K Ultra tiene una media menor de pH que el control y el quitosán a baja temperatura (10°C), pero a temperatura alta (26°C) se puede percibir que a el quitosán tiene una media más alta que el control y el tratamiento de Citrol- K Ultra.

El efecto del quitosán tiene una diferencia significativa ($p < 0.05$) de 0.2 a baja temperatura (10°C) y 0.6 a alta temperatura (26°C) con respecto a el efecto que causa el Citrol-K Ultra esto se puede deber a que el efecto que tiene el recubrimiento de quitosán sobre las fresas, va retardando el proceso metabólico del ácido cítrico y el ácido ascórbico presentes y conforme avanza la maduración su concentración va disminuyendo, mientras el porcentaje de acidez va disminuyendo lentamente, los valores de pH se van incrementando dándonos valores de $\text{pH}=4.09$. (Juárez, et al. 2008)

Algunos estudios reportan que mangos variedad Alfonso almacenados a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y HR 65% dentro de cajas cubiertas con quitosán, presentaron un pH bajo de 4.88 después del décimo día, en relación con mangos almacenados dentro de cajas perforadas de plástico que presentaron un pH de 5.6 (Srinivasa, 2004).

La aplicación del Citrol-K Ultra no afectó de manera significativa este parámetro fisicoquímico, lo cual resulto bueno, pues conservo la calidad del producto aun con este tratamiento a lo largo de la experimentación a las dos temperaturas (10°C y 26°C). El



comportamiento fue muy similar, entre estas la diferencia fue de menor de 0.05 por lo que apenas se nota la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas a las que estas fresas fueron expuestas durante el almacenamiento, esto no afectó este parámetro fisicoquímico lo que nos sugiere que conservó la calidad del fruto ya que el ácido cítrico del componente del tratamiento también previene el pardeamiento enzimático, ya que inhibe la polifenoloxidasas reduciendo el pH y secuestrando el cobre en el sitio activo de la enzima. (Pérez, et al. 2005)

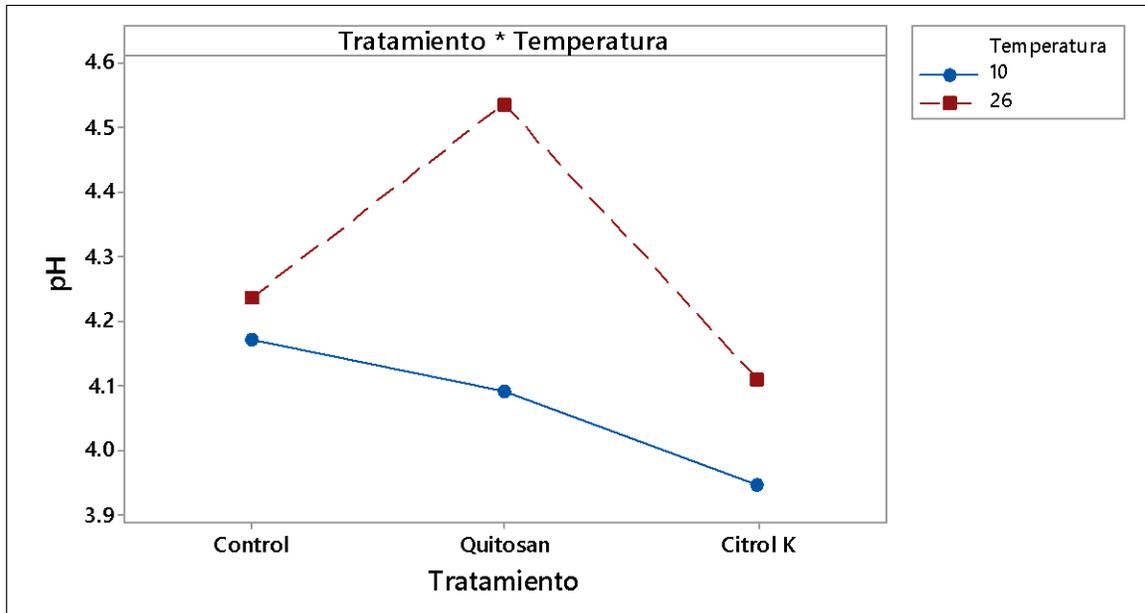


Figura 22. Grafica de interacción para pH

Acidez Titulable

En alimentos el grado de acidez indica el contenido de ácidos libres, la acidez fija es la acidez propia del alimento, o la acidez que debe de tener, es llamada también positiva, por ejemplo el ácido tartárico para el vino. La acidez volátil es la acidez que se debe minimizar por el criterio de la calidad, es la más difícil de medir, llamada acidez negativa, por ejemplo el ácido acético para el vinagre que se elimina evaporándose. La acidez y el pH van de la mano, ya que cuando aumenta la cantidad de ácidos presentes en el fruto el valor de pH disminuye y viceversa (Hulme, 1974).



Los ácidos pueden considerarse como una reserva energética de las frutas siendo, por consiguiente, es de esperar que su contenido decline en el período de actividad metabólica máxima, en el curso de la maduración. Las propiedades ácidas de los ácidos orgánicos son debido a la presencia en su molécula carboxilo COOH, en estado libre. Otro constituyentes en frutas tienen propiedades ácidas sin poseer este grupo en estado libre; esto es especialmente el caso de ácido ascórbico y en el que la acidez se debe a los dos grupos enol muchas frutas son particularmente ricas en ácidos orgánicos que se disuelven en el agua de la célula, ya sea libre o combinado en forma de sales, ésteres, glicoproteínas, etc. (Hulme, 1974).

Los datos obtenidos en la determinación de acidez titulable en fresas a 10 y 26°C se muestran en la figura 23, en donde se observan las interacciones entre los tratamientos para la determinación de la misma prueba a las diferentes temperaturas. A estos datos se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2, en el cual se obtuvo la tasa media de % de acidez por día transcurrido, al finalizar el almacenamiento el análisis mostró que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p < 0.05$). En la figura 23, se observa que las fresas control a menor temperatura (10°C) será menor su % de acidez en comparación de los otros dos tratamientos donde se presenta un total de la media de 1.065, a una temperatura mayor (26°C) presenta un % de acidez media de 0.784, esto debido a la pérdida de ácidos orgánicos (en especial ácido cítrico) por efecto natural de la maduración y los cambios que desencadena la etapa de senescencia en frutos no climatéricos.

Se encontró diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0.05$), el quitosán presenta un % de acidez media de 1.077, tiene un comportamiento similar al control a baja temperatura (10°C), a una temperatura mayor (26°C) presenta menor pérdida de acidez en comparación con el control. Este efecto se puede deber a que el recubrimiento de quitosán sobre la epidermis de la fresa, retarda la degradación de los ácidos orgánicos y por lo consiguiente la velocidad de descenso de la acidez disminuye, y lo que ocasiona que se conserve la fresa.

Para Citrol-K Ultra se puede observar que al igual que el quitosán tiene un comportamiento similar al control, pero este a comparación de los otros dos tratamientos se mantuvo con un porcentaje de acidez ligeramente mayor con una media de 1.088 a una temperatura menor



(10°C), a una temperatura mayor (26°C) se obtuvo un porcentaje de acidez de 1.067. El porcentaje de acidez tuvo un resultado mayor para este tratamiento debido a los componentes del mismo, el contenido de ácido cítrico en el tratamiento mantuvo las paredes de los tejidos presentan mayor contenido de ácidos orgánicos presentes en forma ionizada (Hernández *et. al.* 2010)

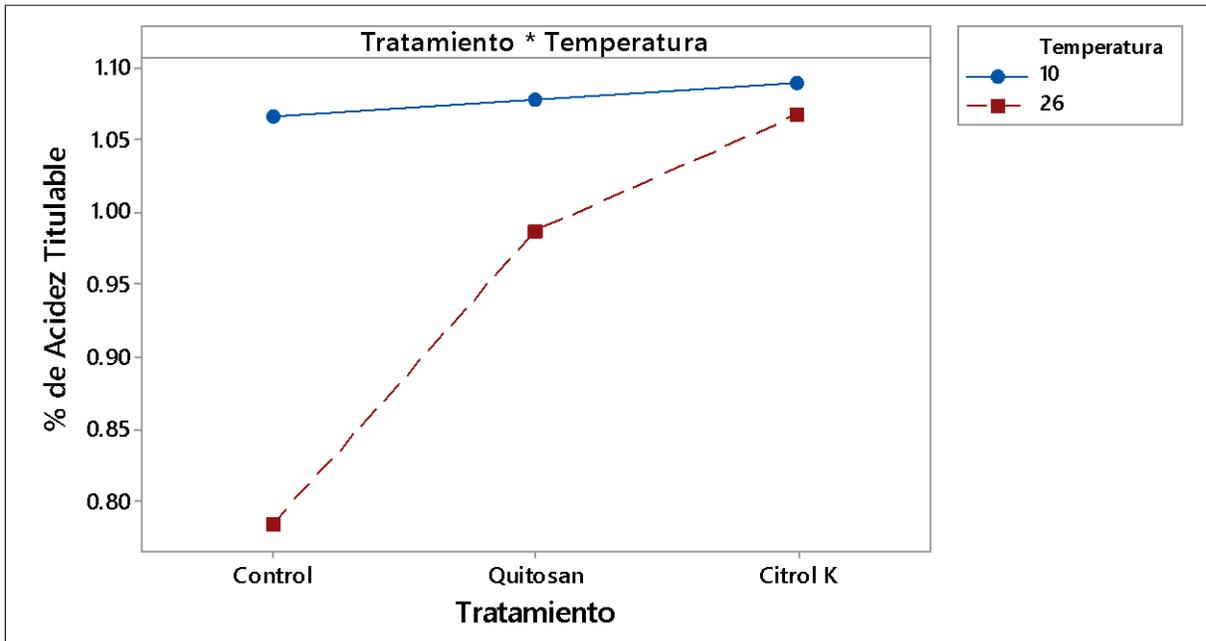


Figura 23. Gráfico de interacción para Acidez Titulable

En la figura 24 se puede observar nuevamente que las bajas temperaturas ayudan a retrasar la actividad enzimática en los tres diferentes tratamientos, mientras a que a temperaturas más altas se degradaron de una manera más rápida.

En esta figura se puede notar que la concentración de ácidos orgánicos utilizados en el recubrimiento de Citrol-K Ultra influyó directamente con la estructura de las fresas tratadas provocando que el porcentaje de acidez no disminuyera en comparación con los otros dos tratamientos, observando un efecto significativo ($p < 0.05$) entre los tratamientos aplicados para la experimentación. Se puede notar que hay menos pérdida de ácidos orgánicos por la estructura del tratamiento ya que su base de ácido cítrico permite que los ácidos presentes en el fruto se degraden de la misma manera que uno sin tratamiento.



Se observó un efecto significativo ($p < 0.05$) en la aplicación del recubrimiento de quitosán con respecto al control y el Citrol-K Ultra. Los efectos del quitosán se ven marcados a partir del cuarto día, como en otros estudios, ya que existe una pequeña adaptación de la fresa al medio del recubrimiento (Devlieghere *et al* 2004). La aplicación de quitosán a la fresa mostró un efecto de reducción de la cantidad de CO₂ y el etileno lo que retrasó la maduración del fruto y generó un aumento en la acidez con respecto al control. Esto indica un equilibrio en la proporción de azúcar y ácido, ya que a medida que madura el fruto aumenta la cantidad de azúcares por efecto de la reducción de ácidos orgánicos.

En la figura 24 se muestra claramente las diferencias de acidez de cada una de los tratamientos aplicados. Estos valores se encuentran por encima de los que reportan Cordenunsi *et al.* (2003) al estudiar diferentes cultivares de fresa, cuyos porcentajes de acidez titulable se encuentra entre 0.6 y 0.7%. En investigaciones realizadas por Montero *et al* (1996) para fresas, describen que se presenta una disminución del valor de pH y un aumento de acidez atribuibles a la maduración de la fruta en fase de desarrollo. Por ello, al comenzar la maduración de la fruta, ésta cambia en base al pH, acidez titulable, en la textura y en la masa hasta alcanzar un grado de deterioro mayor que limita su comercialización.

Los resultados de esta experimentación muestran que la aplicación de los diferentes tratamientos tanto de extracto de aceite como del polímero sobre las fresas mantuvo una acidez como al principio del estudio por lo que retrasó el principio de la senescencia del fruto, como lo menciona Willis *et al* (1998), que cuando el fruto maduro baja el nivel de acidez, lo cual ocurrió con las fresas controles, no así con las fresas tratadas con los diferentes tratamientos.

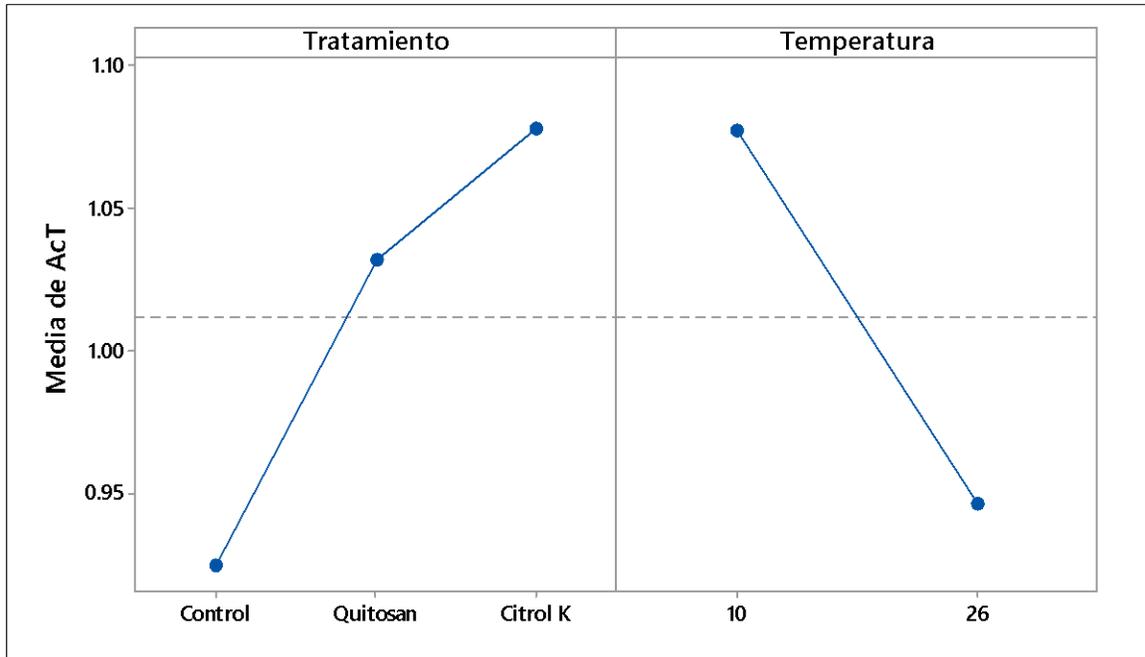


Figura 24. Grafica de efectos principales para Acidez Titulable

Determinación de parámetros Químicos

Vitamina C

Las fresas son muy buena fuente de vitamina C y ácido cítrico. Además, la vitamina C tiene acción antioxidante al igual que los antocianos, pigmentos vegetales que le confieren a esta fruta su color característico. La vitamina C interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción de hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones (Badui, 1994).

Los datos obtenidos en la determinación de vitamina C en fresas a 10 y 26°C se muestran en la figura 25, en donde se observan las interacciones entre los tratamientos para la determinación de la misma prueba a las diferentes temperaturas. A estos datos se les realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2x2, siendo tres tratamientos (control, Qitosán, Citrol-K Ultra), dos temperaturas (10, 26°C) y 2 tiempos (principio y fin del almacenamiento).

Se puede observar que el comportamiento entre las temperaturas de los tratamientos control y quitosán no varían entre ellas, por lo que tienen comportamientos similares, sin embargo el quitosán logra reducir el decaimiento de la vitamina C en ambas temperaturas, mostrando en



el análisis que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y las temperaturas establecidas ($p < 0.05$).

En estudios similares con fresa, Ortega y colaboradores (2010) señalan que los recubrimientos de quitosán son estadísticamente diferentes de los lotes de quitina obtenida experimentalmente del control sin biopelícula ($p < 0.05$). Derossi y colaboradores (2010) mencionan que hay una disminución del ácido ascórbico en función del tiempo de almacenamiento en las fresas. A lo largo del tiempo es claro que hay una reducción del contenido de vitamina C en los diferentes lotes (Derossi, *et al.* 2010).

Para el caso del Citrol-K Ultra las temperaturas lograron afectar el comportamiento de contenido de Vitamina C, para ambos casos, el comportamiento es completamente diferente al control, este tratamiento a una temperatura mayor (26°C), no logra reducir el decaimiento del contenido de ácido ascórbico, esto se atribuye a que la vitamina C se oxida rápidamente y por tanto requiere de cuidados al momento de exponerla al aire, calor y agua. Por tanto cuanto menos calor se aplique, menor será la pérdida de contenido, por lo que a una temperatura mejor (10°C) con el tratamiento de Citrol-K Ultra, mostro tener mayor contenido de vitamina C entre los tratamientos.

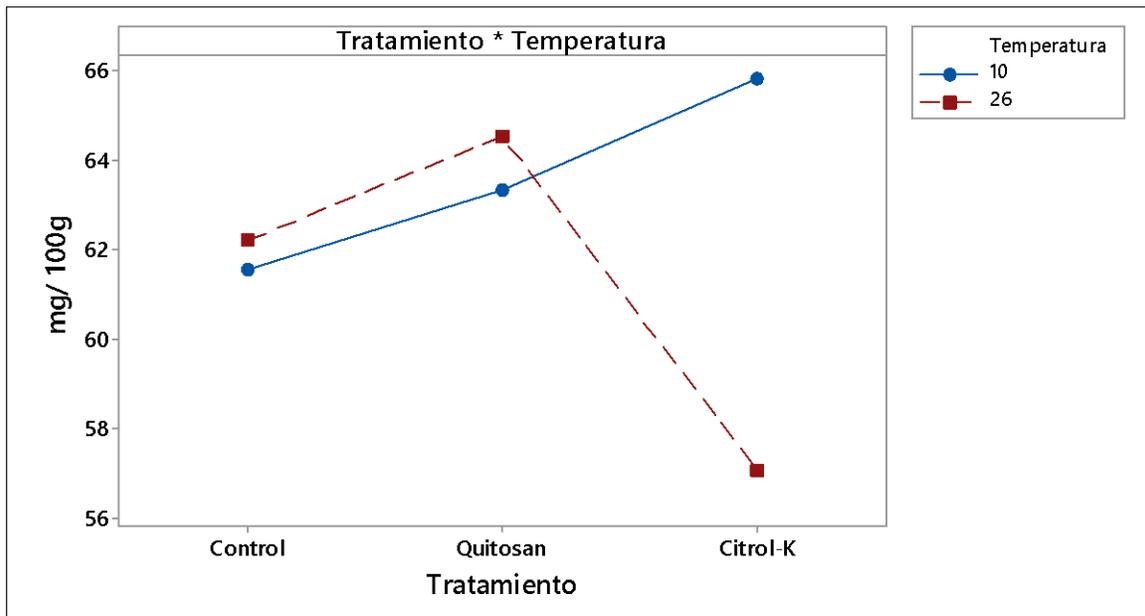


Figura 25. Interacción de los tratamientos y temperatura para Vitamina C.



Determinación de los parámetros Microbiológicos

Calidad microbiológica, Placas 3M Petrifilm*

La determinación de la calidad microbiológica se realizó al iniciar y finalizar la prueba de almacenamiento, Se realizó una evaluación de la presencia de coliformes, hongos y levaduras en las fresas con los diferentes tratamientos (control, Quitosán, Citrol- K Ultra).

Los datos obtenidos en la determinación de coliformes totales en fresas cubiertas con quitosán y Citrol-K Ultra y almacenadas a 10 y 26°C se muestran en la figura 26. Se realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2x2, en donde se observaron las interacciones entre los 3 tratamientos (Citrol-K Ultra, Quitosán y Control), 2 temperaturas (10 y 26°C) y 2 tiempos (principio y fin del almacenamiento), en el cual se obtuvo una tasa media de coliformes totales, el análisis mostró que existe una diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y temperaturas establecidas ($p < 0.05$)

Uno de los aspectos más importantes en la calidad microbiológica de las fresas es la ausencia de coliformes totales. Como se muestra en la figura 26, al inicio del almacenamiento en las fresas control se muestra la presencia de los coliformes totales, al inicio del almacenamiento a una temperatura de 26°C tenemos un total de 26 ufc/g y un total de 298 ufc al final del almacenamiento. Para el almacenamiento de las fresas control a 10°C, al inicio se muestra un total de 26 ufc/g, para el final del almacenamiento un total de 492 ufc/g.

La presencia de coliformes en las fresas sin recubrimiento se atribuye al tipo de agua utilizada para el riego, su siembra y tratamientos postcosecha. Durante la cosecha una mala manipulación, el contacto con la tierra y otras impurezas pudieron haber contribuido a la contaminación, así como las condiciones durante el transporte para su comercialización, ya que muchas veces no se cuentan con las medidas higiénicas adecuadas para el transporte incluyendo las condiciones de temperatura necesarias para el tipo de fruto. El tipo de envase y/o embalaje utilizado desde la cosecha hasta su comercialización influyen directamente en la prevención o propagación de lesiones mecánicas que contribuyan a la generación de microorganismos patógenos que degraden la calidad de los frutos.



Para el caso del recubrimiento de Citrol-K Ultra a 26°C se puede observar en la figura 26 que se manifestó la presencia de coliformes al inicio con un total de 24 UFC/g, al final del almacenamiento se realizó nuevamente la prueba dándonos un resultado de 272 UFC/g. Para el caso del almacenamiento con Citrol-K Ultra a 10°C, se muestran al final un total de 228 UFC/g. Se sugiere que la efectividad del tratamiento con Citrol- K Ultra, moléculas como limoneno, citral, linalol, en fresas, no logra inhibir el crecimiento microbiano por lo que no consigue una mayor calidad e inocuidad al producto. No existe diferencia significativa entre el control y el Citrol-K Ultra ($p>0.05$).

Como se trata de pruebas destructivas y son diferentes los individuos (fresas) para cada prueba, podría indicarnos este resultado el hecho de que una o varias fresas vinieran más contaminadas que otras y que a pesar del almacenamiento en refrigeración no detuvo éste el crecimiento microbiano. La población microbiana sobre los productos frescos puede variar mucho, con frecuencia estos organismos no están distribuidos uniformemente, por ejemplo suele hallarse 104 ufc/g en las hojas externas de una planta de lechuga sin sobrepasar las 30 ufc/g en las internas (Downes, et al. 2001).

El conteo de coliformes totales para el caso de Qitosán a una temperatura de almacenamiento de 26°C, nos dio un resultado al inicio del almacenamiento de 4 UFC/g y un total de 17 UFC/g al final del almacenamiento. Para el almacenamiento a una temperatura de 10 °C, al inicio se muestra un conteo de 4 UFC/g, para el final del almacenamiento se muestra un conteo total de coliformes totales de 5 UFC/g, como se observa en la figura 26, el recubrimiento logró aislar al fruto ya limpio y desinfectado, haciendo un efecto físico de barrera impidiendo la contaminación del producto.

El quitosán tiene amplio espectro de actividad y alta tasa de muerte frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Las variaciones en la eficacia antimicrobiana del quitosán surgen de varios factores, entre ellos los factores microbianos, relacionados con las especies de microorganismos y edad celular; factores intrínsecos de quitosán, incluyendo densidad de carga positiva, estado físico, es decir soluble en agua y estado sólido de quitosán; factores ambientales, que implican la fuerza iónica en el medio, pH, temperatura y tiempo reactivo (Castro, et al. 2012).

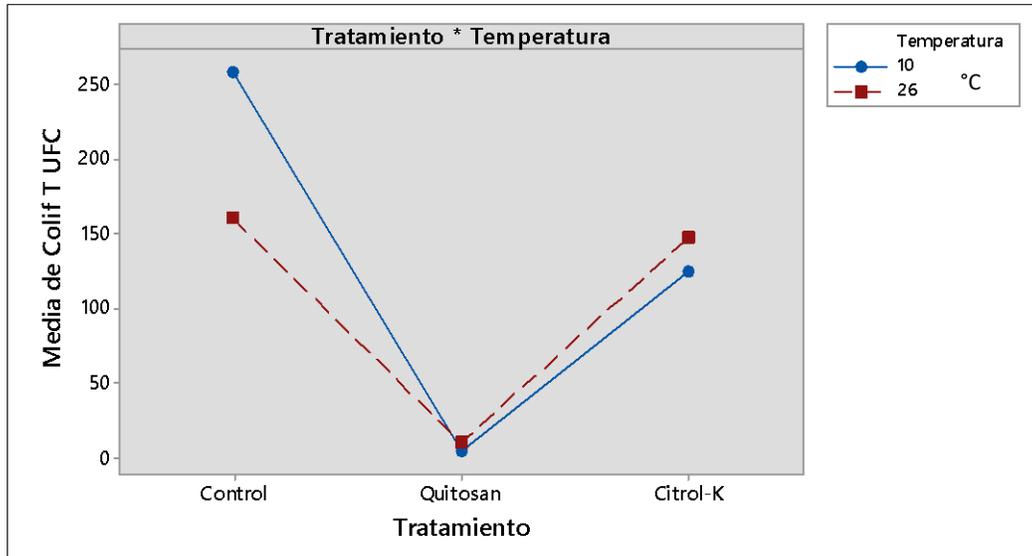


Figura 26. Interacción de los tratamientos y temperatura para Coliformes Totales

Existen diversos tipos de hongos patógenos capaces de iniciar una infección en la superficie de las partes florales y en las frutas sanas en desarrollo. La infección se detiene después y permanece latente hasta que la resistencia del hospedador se vea disminuida y las condiciones sean más favorables al desarrollo de agentes patógenos; por ejemplo, cuando la fruta comienza a madurar organolépticamente Banwart (1992), indica que estas infecciones latentes ofrecen gran importancia en relación con las pérdidas sufridas en bayas que pueden ser el resultado de la deshidratación, decoloración y exceso de maduración, esponjamiento, deterioro, enmohecimiento o corrupción de la fruta. Las bayas son dañadas principalmente por *Botrytis cinerea*, sin embargo, ciertos hongos son dominantes en bayas específicas, en diversos momentos de la producción, recolección y almacenamiento. Otras enfermedades poscosecha incluyen la pudrición por *Rhizopus spp* y la descomposición de la piel causada por *Phytophthora cactorum*.

Se evaluó la presencia de hongos y levaduras presentes en las fresas cubiertas con dos tratamientos diferentes y el control sin tratamiento, al inicio y al final del almacenamiento. A los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico ANOVA para el diseño factorial 3x2x2, en donde se observaron las interacciones entre los tratamientos, las 2 temperaturas (10 y 26°C) y tiempos (principio y fin del almacenamiento), en el cual se obtuvo una tasa media de hongos y levaduras, el análisis mostró que existe diferencia significativa entre las interacciones de los diferentes tratamientos y temperaturas establecidas ($p < 0.05$)



Las fresas sin recubrimiento presentaron una cuenta de 168 UFC/g al inicio del almacenamiento a una temperatura de 26°C, al final del almacenamiento presentaron una cuenta de mohos y levaduras total de 1320 UFC/g. En un almacenamiento a una temperatura de 10°C al inicio del almacenamiento se tuvo un conteo de 168 UFC/g al término del almacenamiento a dicha temperatura se tuvo un conteo total de 545 UFC/g. El desarrollo de enfermedades causadas por hongos y levaduras puede surgir durante el manejo postcosecha, en la mayoría de las veces es el resultado de una mal manejo precosecha, mientras que las infecciones poscosecha ocurren ocasionalmente cuando las frutas sanas se presionan contra la lesión de una fruta enferma (Sommer *et, al.* 1973).

Las fresas con tratamiento de Citrol-K Ultra mostró tener eficiencia al desinfectar por mohos y levaduras. Al inicio del almacenamiento a temperaturas de 10°C y 26°C mostraron un conteo total de 31 UFC/g, para el final del almacenamiento a una temperatura de 26°C con dicho tratamiento presentaron una cuenta de mohos y levaduras total de 332 UFC/g, para el almacenamiento a una temperatura de 10°C mostró un conteo total para mohos y levaduras de 260 UFC/g reduciendo significativamente las cuentas totales para mohos y levaduras en comparación con las fresas control. Para los aceites esenciales disponer de una aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos no solo deben ser seguros para el consumo, sino también debe reducir la carga microbiana inicial durante la producción de alimentos para extender la vida útil (Juarez. *et al.*, 2008). El mecanismo de acción de los desinfectantes orgánicos, se lleva a cabo a través del rompimiento de las membranas celulares de los microorganismos, dañando así el ciclo vital de la célula e interrumpiendo su multiplicación.

El conteo de mohos y levaduras para el caso de quitosán a una temperatura de almacenamiento de 26°C, se tuvo un resultado al inicio del almacenamiento de 6 UFC/g y un total de 35 UFC/g al final del almacenamiento. Para el almacenamiento a una temperatura de 10 °C, al inicio se muestra un conteo de 4 UFC/g, para el final del almacenamiento se muestra un conteo total de mohos y levaduras de 32 UFC/g, como se observa en la figura 27. La poca presencia de mohos y levaduras en fresas tratadas con Quitosán se puede deber a que los grupos amino cargados positivamente de las unidades de glucosamina interactúan con carga negativa de los microorganismos. Los componentes presentes en las membranas



celulares microbianas alteran las propiedades que los microorganismos tienen como barrera, e impiden así la entrada de nutrientes o causan la fuga de contenidos intermoleculares de los mismos. También se ha demostrado que el quitosán activa varios procesos de defensa en tejidos vegetales e inhibe la producción de toxinas y crecimiento microbiano debido a su capacidad para quelar iones metálicos (Castro, et al. 2012).

En general hubo mayor cantidad de mohos que de levaduras para los tratamientos y el control. La mayoría de las levaduras necesitan mayor humedad que los mohos. Para la mayoría de estas el Aw mínima de crecimiento oscila entre 0.88 y 0.94. El intervalo de temperaturas de crecimiento es parecido al de los mohos, con una temperatura óptima en torno a los 25 a 30°C.

El deterioro microbiano de un alimento se manifiesta habitualmente por alteraciones en el aspecto exterior, textura, color, olor y sabor o por la aparición de mucosidades. Visiblemente apreciamos cambios de color, formación de bolsas de gas o hinchamiento y proliferación microbiana, especialmente de hongos. El deterioro de los productos alimentarios suele implicar su reblandecimiento y su descomposición que lleva a la formación de compuestos que tienen olores y sabores diferentes de los productos originales. (Castro del Campo, *et al.* 2004)

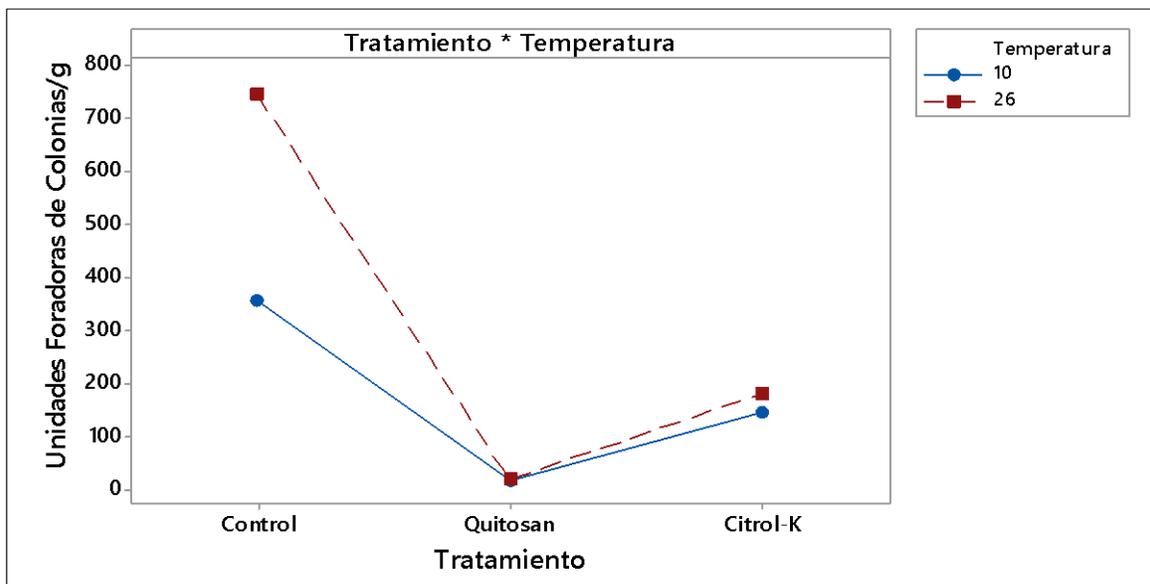
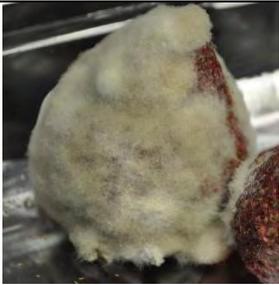


Figura 27. Interacción de los tratamientos, tiempo y temperatura para Mohos y Levaduras



Se identificaron los microorganismos presentes en la experimentación, como ya se había mencionado, los principales microorganismos son el *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, conocido como podredumbre gris, y podredumbre por *Rhizopus sp.*, estos hongos se presentan con mayor frecuencia en las fresas. Estos fueron los principales microorganismos que se desarrollaron durante el tiempo de almacenamiento, en donde se aislaron los diferentes microorganismos presentes durante este periodo de experimentación, separadas en cajas Petri con Agar Papa Dextrosa, una vez aislados se crearon microcultivos para ser visualizados en el microscopio. A continuación se presentan los microorganismos identificados en la presente experimentación.

Tabla 12: Microorganismos presentes durante la presente experimentación con los diferentes tratamientos

Figuras fresas infectadas	Figuras de microorganismos	Nombre de microorganismos	Observaciones
		<i>Aspergillus niger</i>	Se encontró en menor proporción en las fresas almacenadas, encontrándolas en los tratamientos control al 5 día de almacenamiento y quitosán 8 días, a una temperatura de 26 ° C. Se desarrolló de una manera mayor en el Citrol-K Ultra a la temperatura de 10°C al día 12 del almacenamiento. Presenta un micelo bien desarrollado con pequeños cuerpos fructíferos no pedunculados, aéreos y propagación por conidios.
		<i>Botrytis cinerea</i>	Se encontró el desarrollo de este microorganismo en las fresas almacenadas, encontradas en los tratamientos control al 5 día ya presentaba este microorganismo, Quitosán y Citrol-K Ultra presentaron este microorganismo al 8 día de almacenamiento, todos a 26°C.



			<p>A una temperatura de 10°C se comenzaron a desarrollar en el control al día 8, en el caso del Citrol-K Ultra se desarrolló a partir del día 10, para el caso del Quitosán este microorganismo se notó el desarrollo a partir del día 12, para el 15 ya estaban infectadas 1/3 de las fresas.</p>
		<p><i>Rhizopus sp</i></p>	<p>Este microorganismo fue el que se desarrolló con mayor facilidad y rapidez en las fresas almacenadas, en los tratamientos control a partir del día 5, Quitosán y Citrol-K Ultra a partir del día 8 a la temperatura de 26°C. Para la temperatura de 10°C se desarrolló el microorganismo en el tratamiento control al día 8 de almacenamiento, para Quitosán y Citrol-K Ultra para el día 15 no se detectó el desarrollo este microorganismo.</p>

En estudios anteriores se muestra que la aplicación de quitosán en concentraciones de 0.5 y 1.0% en combinación con 10 o 20% de etanol, respectivamente, permitieron una reducción en la respiración en uvas. El etanol y tratamientos térmicos sinérgicamente disminuyeron la germinación de microorganismos patógenos incluyendo a *Botrytis cinerea* el cual se redujo significativamente en la etapa postcosecha y durante su almacenamiento (Romanazzi *et al.*2007).

Botritis cinerea es generalmente visible en un principio en la superficie del fruto como penachos de micelio blanco, puede esparcirse hasta cubrir la superficie de la lesión completamente. Al esporular, el micelio se torna gris, ocasionalmente, se forman sobre las superficies del fruto esclerocios de forma irregular, en un principio de color gris pero negro al madurar, en lugar del micelio normal de la esporulación. El *Botritis cinerea* tiene éxito



para pudrir los frutos bajo condiciones de refrigeración es debido a su habilidad de crecer, aunque despacio, a -2°C . Sin embargo la tasa de crecimiento del hongo a 0°C es mínima comparada con la que se presenta a temperaturas más altas. Por lo tanto, los frutos deben enfriarse a cerca de 0°C después de la cosecha. Los daños al fruto como resultado del mal manejo, también aceleran la incidencia de la pudrición. (Kader, *et al.* 2011)

A una temperatura de 20 a 25°C las lesiones de *Rhizopus* se desarrollan rápidamente en frutos maduros o casi maduros, si los frutos son enfriados inmediatamente a 5°C o menos, el crecimiento del hongo casi se detiene. A menores temperaturas, las esporas en proceso de germinación y micelio joven no se desarrollan y el hongo no sobrevive. Las esporas en proceso de germinación inicialmente atacan a los frutos a través de heridas, pero se diseminan por medio de frutos podridos hacia frutos sanos por “anidamiento”. En los casos donde la epidermis es muy delgada, las esporas son capaces de penetrar la cutícula del fruto. En las lesiones el micelio inicialmente, se presenta de color blanco, para después cambiar a color negro al producirse los esporangios. (Kader, *et al.* 2011)

En los cultivos en placas de agar es difícil diferenciar las colonias de levaduras de las colonias bacterianas; la observación microscópica de los microorganismos es la única forma segura de diferenciarlas. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas; la mayoría de las colonias son blancuzcas, aunque algunas tienen un color crema o rosado. Los caracteres morfológicos de las levaduras se determinan mediante su observación microscópica. Su forma puede ser desde esférica a ovoide, alimonada, piriforme, cilíndrica, triangular e incluso alargada (Camacho, *et al.* 2009). Sin embargo no se lograron aislar las levaduras que presentaron las fresas con los diferentes tratamientos.



Conclusión:



Con base a los resultados de la presente investigación se puede concluir lo siguiente:

Los tratamientos de Citrol-K Ultra y Quitosán retardan a diferentes velocidades la maduración de la fresa bajo las dos condiciones de almacenamiento establecidas en el trabajo, ayudando a mantener las características deseables por un mayor periodo.

La pérdida de peso a 26°C para fresas con el tratamiento de Citrol- K Ultra tuvieron una pérdida de peso total 13.17 %, para el caso del quitosán tuvo un total de 22%, en este caso el tratamiento de Citrol-K Ultra pierde menos peso que el control, sin embargo el quitosán no está alejado de los parámetros que presentó el control un 18.78% a 26°C. Los valores de reducción de tamaño muestran que el Citrol-K Ultra fue el que menos reducción tuvo a lo largo de la experimentación, dejando al quitosán como el que más se redujo a dicha temperatura.

En el caso de temperatura baja (10°C) el tratamiento de Citrol- K Ultra mostró tener menor pérdida de peso total teniendo un resultado de 14.48 %, el tratamiento de quitosán perdió menos que el control, por lo que también fue favorable a bajas temperaturas teniendo solo una pérdida de 15%, por lo que no fue muy diferente entre tratamientos. En la prueba de reducción de tamaño los tratamientos tuvieron resultados similares, teniendo diferencias mínimas entre estos, por lo que concierne a la prueba los dos tratamientos pueden servir de manera adecuada.

La pérdida de la firmeza mostró que el tratamiento en fresas de Citrol-K Ultra es muy similar al control a esta temperatura teniendo solo una diferencia entre dichos tratamientos de pérdida de firmeza de 3%, con respecto al quitosán mostró un mayor porcentaje de firmeza, sin embargo en estas condiciones la diferencia entre el control y el quitosán solo es de 6% de pérdida de firmeza entre ellos. La pérdida de la firmeza a la temperatura baja de almacenamiento (10°C) mostró al quitosán como el tratamiento que perdió menor firmeza a lo largo del almacenamiento, mostrando al Citrol-K Ultra poco eficiente ya que este tratamiento tuvo un comportamiento similar al grupo control, sin embargo el resultado fue ligeramente mayor.

La prueba de color está dividida en los tres parámetros de la misma, para el caso de la luminosidad tanto el Citrol-K Ultra como el quitosán no mostraron poder detener la pérdida



de luminosidad en las fresas, ya que se fue degradando al mismo tiempo que en los frutos sin recubrimiento. En el caso del Croma y el tono, las fresas tratadas con Citrol-K Ultra mantuvieron un mayor valor en las dichas pruebas, no obstante las fresas tratadas con quitosán obtuvieron valores ligeramente inferiores, sin embargo para las dos pruebas no hubo diferencia significativa entre los tratamientos, por lo que los dos tratamientos son aptos para mantener un buen croma y tono a la temperatura de 26°C.

A la temperatura de 10°C la luminosidad, el Croma y el tono se vieron favorecidos por los tratamientos, en especial por el Citrol-K Ultra el cual perdió menor luminosidad, su croma y el tono se mantuvieron ligeramente mayores en comparación con los resultados que dio el quitosán, el Citrol-K Ultra que ayudo a mejorar la brillantez, sin embargo para el caso del croma no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos.

En la prueba de sólidos solubles, las fresas con el tratamiento de quitosán presentan un mayor número de sólidos solubles a temperatura de 26°C, esto generado por la pérdida de humedad que presenta dicho tratamiento, al contrario de las fresas tratadas con Citrol-K Ultra en donde la reducción de los sólidos solubles fue más visible ya que se sugiere que este tratamiento degrado las paredes celulares de las fresas por una mayor actividad fisiológica.

A 10°C se observó que en los dos tratamientos se presentó menor actividad enzimática por lo que genera que no se degraden con mayor facilidad los sólidos solubles, pero al tener pérdida de humedad los sólidos solubles tienden a aumentar, esto para el caso del quitosán, al contrario de las fresas tratadas con Citrol-K Ultra las cuales presentaron valores muy bajos.

En pruebas fisicoquímicas como el pH a temperatura de 26°C se pudo percibir que el quitosán tiene una media más alta que el control y el tratamiento de Citrol-K Ultra, pero la aplicación de Citrol-K Ultra en las fresas no afectó de manera significativa este parámetro, conservando la calidad del producto. Para el caso de acidez titulable, mostró que las fresas tratadas con quitosán retarda la degradación de los ácidos orgánicos y por consiguiente la velocidad de descenso de la acidez disminuye. Para las fresas tratadas con Citrol-K Ultra este mantuvo los porcentajes de acidez ligeramente mayor, esto debido a los componentes del tratamiento.

Se observó que el Citrol- K Ultra tuvo una media menor de pH que en las fresas control y las fresas con quitosán a baja temperatura (10°C). En la prueba de acidez titulable el Citrol-K



Ultra y el quitosán tuvieron comportamiento similares al control, el quitosán retarda la degradación de ácidos orgánicos por lo que el descenso de la acidez disminuye, pero en niveles de acidez, el Citrol-K Ultra es ligeramente mayor al resto, esto por los componentes del tratamiento.

El Citrol-K Ultra, no logró detener el decaimiento del contenido de ácido ascórbico en las fresas con dicho tratamiento. En el caso de temperaturas de almacenamiento menores (10°C) los tratamientos mostraron mayor contenido de Vitamina C, sin embargo, el quitosán logró reducir el decaimiento de la vitamina C en ambas temperaturas, mostrando diferencia significativa entre los tratamientos.

En el conteo de los microorganismos, se presentaron las pruebas de coliformes totales en donde se pudo observar que el quitosán mantuvo un resultado mínimo de ufc en comparación tanto del control, como del Citrol-K Ultra en ambas temperaturas (10 y 26°C). De igual manera para las pruebas de mohos y levaduras en ambas temperaturas el quitosán mostró tener mayor efectividad para contener el desarrollo de los mohos y las levaduras siendo menos efectivo en comparación, pero de igual manera con buen resultado.



Bibliografía



-
- Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT - Food Science And Technology*, 43(6), 837-842. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- Azevedo, A., Buarque, P., Cruz, E., Blank, A., Alves, P., Nunes, M., & Santana, L. (2014). Response surface methodology for optimisation of edible chitosan coating formulations incorporating essential oil against several foodborne pathogenic bacteria. *Food Control*, 43, 1-9.
- Badui, S. (2011). *Química de los alimentos* (3rd ed.). Pearson Educación de México S.A. de C.V. 646pp.
- Baka, M., Mercier, J., Corcuff, R., Castaigne, F., & Arul, J. (1999). Photochemical Treatment to Improve Storability of Fresh Strawberries. *Journal Of Food Science*, 64(6), 1068-1072.
- Banwart, G. & Sánchez Rodrigo, C. (1982). *Microbiología básica de los alimentos* (1st ed.). Barcelona: Edic. Bellaterra. 436pp.
- Baskaran, R., M., R., Prashanth, K., & R., T. (2002). Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. *European Food Research And Technology*, 215(6), 504-508.
- Bautista-Baños, S., García-Domínguez, E., Barrera-Necha, L., Reyes-Chilpa, R., & Wilson, C. (2003). Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest Biology And Technology*, 29(1), 81-92.
- Bautista-Baños, S., (2016). *Postharvest decay* (1st ed.). [s.l.]: *Elsevier Academic Press*.
- Bodelón, O., Blanch, M., Sanchez-Ballesta, M., Escribano, M., & Merodio, C. (2010). The effects of high CO₂ levels on anthocyanin composition, antioxidant activity and soluble sugar content of strawberries stored at low non-freezing temperature. *Food Chemistry*, 122(3), 673-678.
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B., Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos* (2nd ed.), Facultad de Química, UNAM. México.
- Miranda, P., Lizárraga, E., (2012). *Is Chitosan a New Panacea? Areas of Application* (1st ed.). INTECH Open Access Publisher. 3-436pp.



-
- Cordenunsi, B. R., Nasimento, J. R. O., Lajlo, F. M. (2003). Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. *Food Chemistry*, 83:167-173.
- Coffin, D. & Fishman, M. (1993). Viscoelastic properties of pectin/starch blends. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 41(8), 1192-1197.
- Derossi, A., De Pilli, T., & Fiore, A. (2010). Vitamin C kinetic degradation of strawberry juice stored under non-isothermal conditions. *LWT - Food Science And Technology*, 43(4), 590-595.
- Díaz Montenegro, D. (2002). *Fisiología de árboles frutales* (1st ed.). México: Editorial AGT. 211-285pp.
- Dominí, A. K. (2012). Mejora genética de la fresa (*Fragaria ananassa* Duch.), a través de métodos biotecnológicos. *Cultivos Tropicales*, 34-41.
- Downes, F. & Itō, K. (2001). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (1st ed.). Washington, DC: American Public Health Association. 515, 533, 561pp.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703-714.
- Evans, J.D. y Sikdar, S.K.. (1990). Biodegradable plastics: An idea whose time has come. *Chem. Tech*, 20: 38-42
- Fisher, K. & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. *Trends In Food Science & Technology*, 19(3), 156-164.
- Fisher, K. & Phillips, C. (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems. *Journal Of Applied Microbiology*, 101(6), 1232-1240.
- Galletta, G., Himelrick, D., & Chandler, L. (1990). *Small fruit crop management* (1st ed.). Englewood Cliffs, N.J.: Prentice Hall.
- García, O. E. (2001). *Título de tesis* (Permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas de películas modificadas de quitosán). Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlán Izcalli.
- González, A. (2001). *Morfología de la frutilla*. Botánica Morfológica.



-
- González, M. D. (2009). *Título de tesis* (Estimación de los daños físicos y evaluación de la calidad de la fresa durante el manejo de poscosecha y el transporte simulado). Universidad de Guanajuato, Guanajuato.
- Harborne, J. (1971). The biochemistry of fruits and their products. Vol. I. Phytochemistry, 10(11), 2857.
- Hernández Fuentes. (2012). Comportamiento poscosecha de pimiento morrón (*capsicum annum*) var. California por efecto de la fertilización química y aplicación de lombrihumus. *Revista iberoamericana de tecnología poscosecha.* , 11:82-91.
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., Valle, V., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria×ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110(2), 428-435.
- Hulme, A. (1970). The biochemistry of fruits and their products (1st ed.). London [etc.]: Academic press. 89-105 pp.
- Juárez, R. M. (2008). *Título de tesis* (Evaluación de desinfectantes iónicos). Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli.
- Krochta, J.N. (1994). Milk Protein-based edible films and coating. *Food Technol.* 52: 97-103.
- Kader, A. A. (2011). *Tecnología postchosecha de cultivos hortofrutícolas*. División de Agricultura y Recursos Naturales. Universidad de California. 242-244pp.
- Landi, L., Feliziani, E., & Romanazzi, G. (2014). Expression of Defense Genes in Strawberry Fruits Treated with Different Resistance Inducers. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 62(14), 3047-3056.
- Mauer, L., Smith, D., & Labuza, T. (2000). Water vapor permeability, mechanical, and structural properties of edible β -casein films. *International Dairy Journal*, 10(5-6), 353-358.
- Montero, T., Mollá, E., Esteban, R., & López-Andréu, F. (1996). Quality attributes of strawberry during ripening. *Scientia Horticulturae*, 65(4), 239-250.
- Morales, J. (2013). *Título de tesis* (Evaluación de la producción y calidad del pimiento (*Capsicumm annum L.*) cv. “Cannon” obtenido mediante biofertilización). Universidad Autónoma de Querétaro. Santiago de Querétaro.



-
- Muzzarelli, C., Muzzarelli, R. (2003). Chitin related food science today. AGROFood industry hi-tech. Sep/Oct.
- Muñoz, D. (1984). *Naturaleza y estructura de los productos vegetales comestibles: etapas de la vida de los frutos y hortalizas*. Madrid: Alhambra.321pp.
- Norma Oficial Mexicana, NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos.
- Núñez, M., Brecht, J., Morais, A., & Sargent, S. (1995). Physical and chemical quality characteristics of strawberries after storage are reduced by a short delay to cooling. *Postharvest Biology And Technology*, 6(1-2), 17-28.
- Norma Mexicana, NMX-FF-062-SCFI-2002. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - fruta fresca- fresa (fragaria x ananassa, dutch) especificaciones y método de prueba.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA FAOSTAT. (2017). Faostat.fao.org. from <http://faostat.fao.org>
- Osborne, D., Voogt, P., & Barrado, A. (1986). *Análisis de los nutrientes de los alimentos* (1st ed.). Zaragoza: Acribia. 258 pp.
- Pérez, G. (2013). *Título de tesis* (Extracción de compuestos activos de plantas para su aplicación en recubrimientos comestibles para controlar podredumbre gris en la fresa). Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli:
- Pineli, L., Moretti, C., dos Santos, M., Campos, A., Brasileiro, A., Córdova, A., & Chiarello, M. (2011). Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 24(1), 11-16.
- Primo Yúfera, E. (1997). *Química de los alimentos* (1st ed.). Madrid: Síntesis. 461pp.
- Rámirez Padron, Laura Cecilia. (2010). "Producción De Fresa En Zamora, Michoacán.",http://www.biblio.colpos.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/10521/368/Ramirez_Padron_LC_MC_Economia_2010.pdf?sequence=1.
- Robertson, K. (1994). *The Genera of Rosaceae in the southeastern United States* (1st ed.).



-
- Romanazzi, G., Milokota, G. F., Santini, M., Landi, L., Karabulut, O., Smilanick, J. (2007). *Advances in the use of chitosan to control postharvest decay of table grapes*. Bologna, Italia: Novel Approaches for the Control of Postharvest Diseases and Disorders. 327-334pp.
- Salvador, L. (2000). *Título de tesis (Recubrimiento de quitosán en aguacate)*. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán Izcalli.
- SISTEMA PRODUCTO FRESA CONSEJO NACIONAL DE LA FRESA, A.C.
<http://conafresa.com.mx/>
- Sommer, N. F., Fortlage, R. J., Mitchell, F. G. Y Maxie, E. C. (1973). Reduction of postharvest losses of strawberry fruit from grey mold. *J. Amer. Soc. Hort.Sci.*, 98 (3): 285-288.
- Srinivasa, P., Susheelamma, N., Ravi, R., & Tharanathan, R. (2004). Quality of mango fruits during storage: effect of synthetic and eco-friendly films. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 84(8), 818-824.
- Varela, P. & Fiszman, S. (2011). Hydrocolloids in fried foods. A review. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1801-1812.
- Velickova, E., Winkelhausen, E., Kuzmanova, S., Alves, V., & Moldão-Martins, M. (2013). Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv Camarosa) under commercial storage conditions. *LWT - Food Science And Technology*, 52(2), 80-92.
- Venegas, G., Nelson, J. W. y Buzón, S. (2002). *Maduración y calidad óptima de los frutos*. Zaragoza, España: Acribia. 310 p.
- Wills, R., Maglason, B., Graham, D. y Joyced, L. (1999). *Introducción a la Fisiología y manipulación Postcosecha de frutas y hortalizas y plantas ornamentales*. Zaragoza, España: Acribia.
- X-Rite, (2002). "Guía para entender la comunicación del color". Estados Unidos de America. X-Rite, Incorporated, 7pp.