



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Evaluación de recubrimientos a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo sobre aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill) durante el almacenamiento

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

BIBIANA LEONOR LÓPEZ GONZÁLEZ

ASESOR: Dra. Susana Patricia Miranda Castro
COASESOR: Dra. María Cristina Julia Pérez Reyes

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2018



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE



ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

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

Evaluación de recubrimientos a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo sobre aguacate variedad Hass (*Persea americana Mill*) durante el almacenamiento.

Que presenta la pasante: Bibiana Leonor López González

Con número de cuenta: 310734318 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 18 de Abril de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
SECRETARIO	I.A. María Guadalupe López Franco	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	M. en C. Ana Elvia Sánchez Mendoza	

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

“No es el tamaño de las alas lo que cuenta, sino la grandeza del espíritu”

-Valiant & C.



Dedicatoria

A mis padres, Bibiano López y Dorotea González.



Agradecimientos

A Dios por permitirme llegar a este punto, por cumplir esta meta y por la vida de mis seres queridos, de mis padres y la bendición de tenerlos a mi lado

A mis padres por todo el amor y apoyo incondicional, por estar al pie del cañón desde el primer día, por ser mis pilares y mi mayor motor, ustedes son mi ejemplo de vida, de lucha y superación. Por darme la herencia más valiosa que es el estudio, por forjarme y hacer de mí una persona de bien, poco a poco el esfuerzo se ve recompensando y este logro es de todos.

A mi hermano Raúl por ser mi compañero desde siempre, por tus consejos y ser refugio en todo momento, por mostrarme los lados que tiene la vida, tú día a día me demuestras que con trabajo, esfuerzo y dedicación todo se puede lograr.

A mi familia por el apoyo recibido, los consejos y ejemplos, principalmente de mis hermanos mayores.

A la Dra. Susana Patricia, usted se convirtió en algo más que mi asesora de tesis, gracias por el apoyo, comprensión y cariño durante todo este tiempo, por sus consejos y motivación.

A la Dra. Cristina, por ser mi coasesora, por su apoyo, paciencia, ayuda en todo el trabajo y por todas las atenciones que tuvo para conmigo.

A Dany, por ser ejemplo de una persona comprometida y disciplinada con todo lo que hace, siempre que te veo entiendo lo que una persona puede llegar a ser si se lo propone, gracias por toda tu ayuda en el laboratorio y por ser mi amiga.

A todos mis profesores que tuve a lo largo de este tiempo pues son ellos quienes me motivaron y ayudaron a encontrar el camino que he tomado, principalmente mis profesores de secundaria y bachillerato de donde tengo muy gratos recuerdos. Pero en especial quiero agradecerle a la madre Clemencia, la profesora Socorro y a mis maestras Graciela y Gabriela por siempre estar pendientes de mí, por su guía y enseñanzas dentro y fuera del aula, por haber formado parte de mi educación, docentes como ustedes no sé encuentran en cualquier lugar y por ello tienen mi cariño y admiración.

A Diego por ser y por estar en cada momento, por tu apoyo incluso en los momentos más difíciles hasta donde tus alcances lo permitían y más, por tu comprensión, cariño y entrega en cada día; estoy agradecida con la vida por habernos hecho coincidir en este camino, por permitirme estar a tu lado y mostrarme la bella persona que eres. “Yo pienso en ti”.

A Helia y Marisol por ser mis compañeras y amigas, trabajar en el laboratorio no era lo mismo sin ustedes, gracias por ayudarme y hacer más feliz ese tiempo juntas.



|

A Bianca, Ara y Gaby por ser las primeras personas en extenderme la mano cuando me encontraba lejos de casa, por su amistad y apoyo a durante todo este tiempo.

A Yess, Cyn y Miztli por su amistad, por mostrarme lo bonito de esta etapa en la vida y lo importante que son los amigos de cuidar a las personas que son importantes para ti.

A Karime y Carlos Fernando porque ustedes son ejemplo de que la amistad no conoce barreras, que no importa el tiempo ni la distancia. Ustedes tienen un lugar importante en mi corazón, gracias por estar todos estos años, por los momentos vividos y por su apoyo.

A Jonathan, por escucharme y leerme siempre, incluso en los detalles más pequeños; por tus consejos y por todo lo que compartimos. En el pasado no me habría imaginado el rumbo que hoy ha tomado esta amistad, sin duda alguna, por algo pasan las cosas y que mejor que haya sido de esta manera.

A la Familia Álvarez Aguayo por recibirme en su hogar y hacerme sentir que no me encuentro lejos de casa estando ahí, gracias por tanto.

A quienes me han mostrado lo que es un amor incondicional, que no se agota nunca, que te reconocen al llegar a casa a pesar de haberte marchado por mucho tiempo, todos los días demuestran que lo importante es el tamaño de tu corazón y la fuerza que existe en nuestro interior.

A la máxima casa de estudios, la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por abrirme sus puertas y brindarme más de lo nunca imaginé, por regalarme tan bellos recuerdos y por permitirme formar parte de esta gran institución.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”



Agradecimientos

Al proyecto PIAPI 1642, “Infección e inmunidad”

Al Proyecto PAPIME PE204217

Por el apoyo brindado en la realización de este trabajo.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	XI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	5
1.1 Generalidades del aguacate Hass (<i>Persea americana</i> Mill).....	6
1.1.1 Definición.....	6
1.1.2 Clasificación botánica.....	6
1.1.3 Anatomía del aguacate.....	6
1.1.4 Composición química y nutricional.....	8
1.1.5 Cambios asociados a la maduración.....	10
1.1.6 Enfermedades.....	13
1.1.7 Aspectos socioeconómicos.....	19
1.1.8 Tratamiento postcosecha.....	22
1.2 Generalidades de los recubrimientos.....	24
1.2.1 Definición.....	24
1.2.2 Clasificación.....	25
1.2.3 Propiedades.....	26
1.2.4 Aplicaciones en alimentos.....	27
1.3 Generalidades del quitosán.....	27
1.3.1 Definición.....	27
1.3.2 Propiedades.....	28
1.3.3 Aplicaciones en alimentos.....	29
1.4 Generalidades de los aceites esenciales.....	29
1.4.1 Definición.....	29
1.4.2 Propiedades.....	29
1.4.3 Composición química.....	30
1.4.4 Aplicación en alimentos o actividad antimicrobiana.....	30
1.4.5 Aceite esencial de tomillo.....	31
1.4.6 Aceite esencial de clavo.....	31
1.4.7 Aceite esencial de canela.....	32



CAPÍTULO II METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	33
2.1 Objetivos	34
Objetivo general	34
Objetivo particular 1	34
Objetivo particular 2	34
2.2 Materiales y métodos	35
2.2.1 Aislamiento e identificación de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	35
2.2.2 Evaluación antifúngica del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas <i>In Vitro</i>	38
2.2.3 Identificación de la actividad fungicida y/o fungistática del tratamiento con quitosán mejorado al 1% y aceites esenciales.....	41
2.2.4 Evaluación del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas <i>In Vivo</i>	42
2.2.5 Evaluación de pruebas físicas y químicas.....	45
2.2.5.1 Físicas	45
2.2.5.1.1 Pérdida fisiológica de peso.....	45
2.2.5.1.2 Dureza	45
2.2.5.1.3 Color	47
2.2.5.2 Químicas	45
2.2.5.2.1 Contenido de aceite (método Soxhlet AOAC)	49
2.2.5.2.2 Contenido de humedad (Termobalanza).....	50
2.2.5.2.3 Actividad de agua a_w (AquaLab modelo CX-2).....	51
2.2.6 Análisis estadístico	52
CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
3.1 Aislamiento de identificación <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	54
3.2 Evaluación antifúngica del quitosán mejorado y los aceites esenciales <i>In Vitro</i>	55
3.3 Identificación de la actividad fungicida y/o fungistática del tratamiento con quitosán mejorado al 1% y aceites esenciales	61
3.4 Evaluación del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas <i>In Vivo</i>	62
3.5 Evaluación de pruebas físicas y químicas.....	64
3.5.1 Físicas	64
3.5.1.1 Pérdida fisiológica de peso.....	64
3.5.1.2 Dureza	65
3.5.1.3 Color	67



I

3.5.2. Químicas	76
3.5.2.1 Contenido de aceite.....	76
3.5.2.2 Contenido de humedad	77
3.5.2.3 Actividad de agua (a_w).....	78
CONCLUSIONES.....	81
REFERENCIAS.....	84



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla.1 Composición química del aguacate (Yahia y Woolf, 2011).....	8
Tabla. 2 Contenido nutricional (g 100 g ⁻¹) de aguacates cultivados en México (Yahia y Woolf, 2011)...	9
Tabla. 3 Contenido de vitaminas (mg 100 g ⁻¹) en tres cultivares de aguacate (Yahia y Woolf, 2011).....	10
Tabla 4. Producción de aguacate de principales países productores 2018 (FAO, 2018).....	20
Tabla 5. Top 10 en volumen de producción de las principales entidades productoras (SIAP, 2017).....	21



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del aguacate, modificado de Barrientos et al., (1996).....	7
Figura 2. Daño en el exocarpio del Aguacate infectado con el hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (InfoHass 2016).....	14
Figura 3. Lesiones en la pulpa de aguacate Hass causadas por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (INIA 2017).	15
Figura. 4 Daños en el exocarpio del aguacate ocasionados por roña (Enfermedades de la palta, 2014)...	16
Figura 5. Mancha de la hoja y la mancha negra del fruto ocasionado por <i>Pseudocercospora purpurea</i> (infoAgro, 2016).....	17
Figura 6. Daños ocasionados en el fruto por <i>R. stolonifer</i> (infoAgro, 2016).....	18
Figura 7 Volumen de la producción nacional 2007-2016 (miles de toneladas) (SIAP, 2017).....	21
Figura 8. Formación de recubrimiento por inmersión del producto (De Ancos et al., 2015).....	24
Figura 9. Estructura química de la quitina y el quitosán (Castro & Paulín, 2012).....	28
Figura 10. Aguacate en bolsa estéril para el desarrollo del hongo <i>C. gloeosporioides</i>	35
Figura 11. Toma de muestra a partir de aguacate Hass enfermo.....	36
Figura 12. Incubación a 28°C en fotoperiodo	36
Figura 13. Tinción con azul de algodón para identificar las características de la micromorfología de <i>C. gloeosporioides</i>	37
Figura 14. Preparación de la solución de quitosán mejorado al 1%.....	39
Figura 15. Campana de flujo laminar YECO.....	39
Figura 16. Evaluación del crecimiento micelial.....	40
Figura 17. A y B) Siembra de <i>C. gloeosporioides</i> con explantes discoidales.....	41
Figura 18. A) Lavado y B) secado de los frutos seleccionados.....	43
Figura 19. Aplicación de recubrimiento de quitosán mejorado al 1% por	



inmersión.....	44
Figura 20. Cámara de almacenamientos con A) Frutos control y B) Frutos con recubrimiento de quitosán modificado 1%.....	44
Figura 21. Penetrómetro universal.....	46
Figura 22. A) Análisis de imagen en Image J, B) Histograma con valores RGB.....	48
Figura 23. Equipo de extracción Soxhlet.....	50
Figura 24. Determinación de humedad por termobalanza.....	51
Figura 25. Determinación de aw en el equipo Aqualab Model CX-2.....	52
Figura 26. Crecimiento de <i>C. gloeosporioides</i> en medio PDA.....	54
Figura 27. A. Conidios y setas de <i>C. gloeosporioides</i> ; B. Conidios unicelulares hialinos de <i>C. gloeosporioides</i>	55
Figura 28. Cinética de crecimiento de <i>C. gloeosporioides</i> en medio PDA durante 8 días de incubación a 28°C.....	56
Figura 29. Crecimiento del hongo <i>C. gloeosporioides</i> aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en PDA, quitosán mejorado 1% y tratamientos de quitosán con aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones.....	57
Figura 30. Crecimiento del hongo <i>C. gloeosporioides</i> aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con aceite esencial de tomillo y canela a diferentes concentraciones.....	58
Figura 31. Crecimiento del hongo <i>C. gloeosporioides</i> aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con aceite esencial de clavo a diferentes concentraciones.....	59
Figura 32. Crecimiento del hongo <i>C. gloeosporioides</i> aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con la mezcla de aceites esenciales (tomillo, canela y clavo) a diferentes concentraciones.....	60
Figura 34. Efecto del tratamiento de quitosán mejorado al 1% sobre aguacate variedad Hass.....	63
Figura 35. Porcentaje de pérdida de masa de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	64
Figura 36. Dureza de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1%	



durante 14 días de almacenamiento.....	66
Figura 37. Porcentaje de pérdida de firmeza de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	67
Figura 38. Valores de luminosidad en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	68
Figura 39. Valores de a* en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	69
Figura 40. Valores de b* en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	71
Figura 41. Valores de croma en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	72
Figura 42. Valores de ángulo hue (°) en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1%.....	73
Figura 43. Cambio de color en A) frutos sin recubrimiento, B) frutos con recubrimiento quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	74
Figura 44. Valores de Delta E en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	75
Figura 45. Contenido de aceite de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	76
Figura 46. Contenido de humedad de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	78
Figura 47. Actividad de agua de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.....	79
Figura 48. Aguacate recubierto con quitosán modificado 1% después de 60 días de almacenamiento a 4°C.....	80



RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar un recubrimiento a base de quitosán mejorado al 1% y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo en aguacate variedad Hass (*Persea americana* Hill) *In vitro* e *In vivo*, sobre algunos parámetros físicos, químicos y microbiológicos durante el almacenamiento para alargar su tiempo de vida útil.

De frutos enfermos de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) se aisló e identificó el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la antracnosis o mancha negra. Posteriormente se probó *In Vitro* su crecimiento utilizando cajas de Petri con PDA como control y PDA - quitosán mejorado y PDA - quitosán mejorado con diferentes concentraciones de los aceites esenciales de tomillo, canela y clavo. *In Vivo* se trataron aguacates en estado verde-maduro con un recubrimiento a base de quitosán mejorado al 1% y se evaluaron algunos parámetros físicos y químicos a través del tiempo a temperatura ambiente.

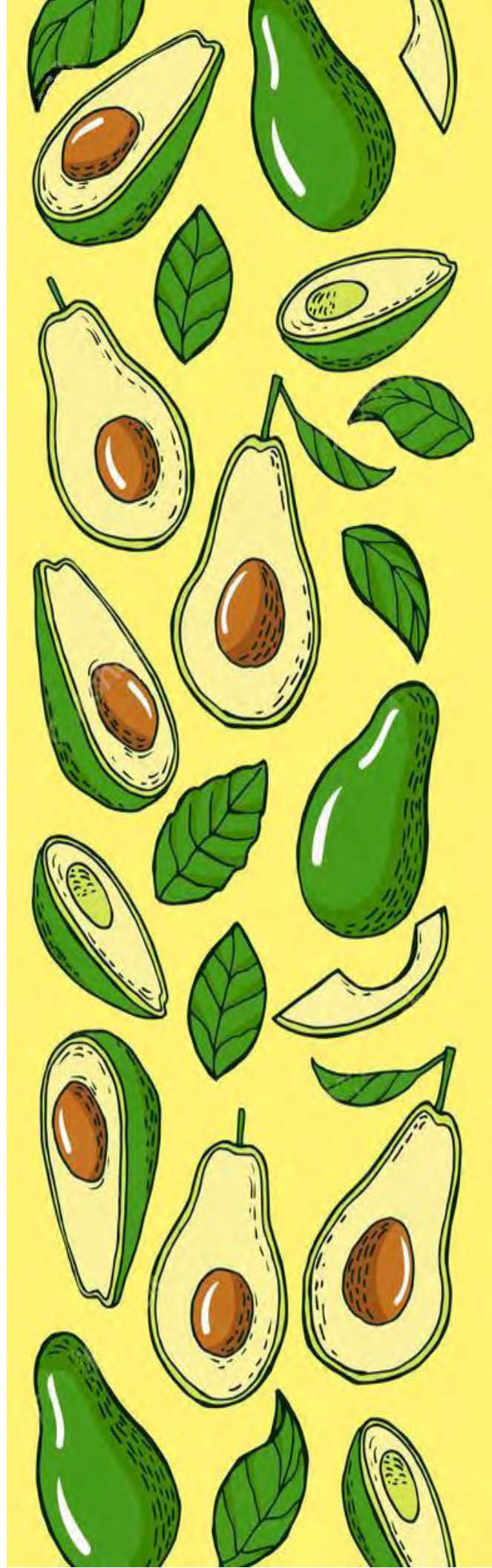
Los resultados obtenidos son los siguientes: Se corroboró género y especie del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. A través de la cinética de crecimiento del hongo *In Vitro*, se observó que tanto el quitosán como el quitosán con aceites de tomillo, canela y clavo a todas las concentraciones probadas presentó un efecto antifúngico. Posteriormente, este efecto se probó para determinar si era fungistático o fungicida, el cual resultó como fungicida.

Conociendo este resultado, la prueba *In Vivo* sobre el recubrimiento de quitosán mejorado al 1% en los aguacates, mostró que los frutos no tratados, presentaron desde el día 7 de almacenamiento a temperatura ambiente, la presencia del hongo mientras que en los aguacates cubiertos con quitosán mejorado al 1% mostraron la presencia del hongo hasta el día 14 de almacenamiento, doblando el tiempo de vida útil del aguacate.

Con relación a los parámetros evaluados en el aguacate durante el almacenamiento, no hubo diferencia significativa con respecto al control sin recubrir lo que nos indica que el recubrimiento a base de quitosán mejorado al 1% no afectó la calidad del fruto y si ayudó a retrasar la aparición de la antracnosis.



INTRODUCCIÓN



El aguacate desempeña un papel importante en la nutrición humana debido a sus propiedades nutricionales como los ácidos oleico, palmítico, linoleico, palmitoleico, trazas de ácido esteárico, vitamina A, B, C, E, K y alto contenido de fibra (Bill et al., 2014).

El aguacate Hass (*Persea americana* Mill) es el cultivar comercial más importante de todo el mundo, y es el cultivar predominante en los países productores más importantes como México, Chile y Estados Unidos (Yahia y Woolf, 2011).

México, representa más del 30% de la cosecha mundial y es el principal productor y exportador de aguacate en el mundo a países como China, Chile y Australia, siendo Estados Unidos el principal importador de aguacate mexicano (SIAP, 2017).

El aguacate es afectado por varias enfermedades que dañan el fruto y se han convertido en la mayor amenaza del comercio internacional del aguacate. La principal enfermedad es la antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz el cual ocasiona pérdidas sustanciales por decaimiento de frutos durante el almacenaje y comercialización, la enfermedad se manifiesta con la presencia de manchas circulares café oscuras en el pericarpio y daños por ablandamiento y pudrición de la pulpa o mesocarpio (Gutiérrez-Contreras et al., 2010; Rodríguez-López et al., 2009).

El fruto de aguacate se consume principalmente en fresco y para conservarlo se usa primordialmente refrigeración. Sin embargo, hay regiones productoras sin infraestructura para aplicar este método, lo que crea la necesidad de explorar otras estrategias (Espinosa-Cruz et al., 2014).

Por ello se buscan métodos postcosecha que ayuden a tener una mejor calidad, mayor vida de anaquel, menores pérdidas económicas y que eviten el desarrollo de microorganismos patógenos en el fruto; los métodos más utilizados actualmente son la refrigeración, el uso de atmósferas modificadas, tratamientos térmicos y la aplicación de recubrimientos (Román Mares y Yahia Kazuz, 2002).

Actualmente, los recubrimientos se utilizan en diversos productos alimenticios, principalmente en frutas y verduras, para prolongar el tiempo de vida útil en donde ofrecen muchas ventajas debido a su comestibilidad, biocompatibilidad, propiedades de barrera frente a microorganismos patógenos, no toxicidad, no contaminante y bajo costo (Han, 2014; Vásconez et al., 2009).



|

El quitosán ha sido ampliamente utilizado como recubrimiento debido a que posee propiedades fungistáticas o fungicidas contra los patógenos de varios productos alimenticios y ha demostrado que su aplicación ayuda a reducir la pérdida de peso, la tasa de respiración, la pérdida de color y la infección fúngica en alimentos (Bautista-Baños et al., 2003; Xing et al., 2011).

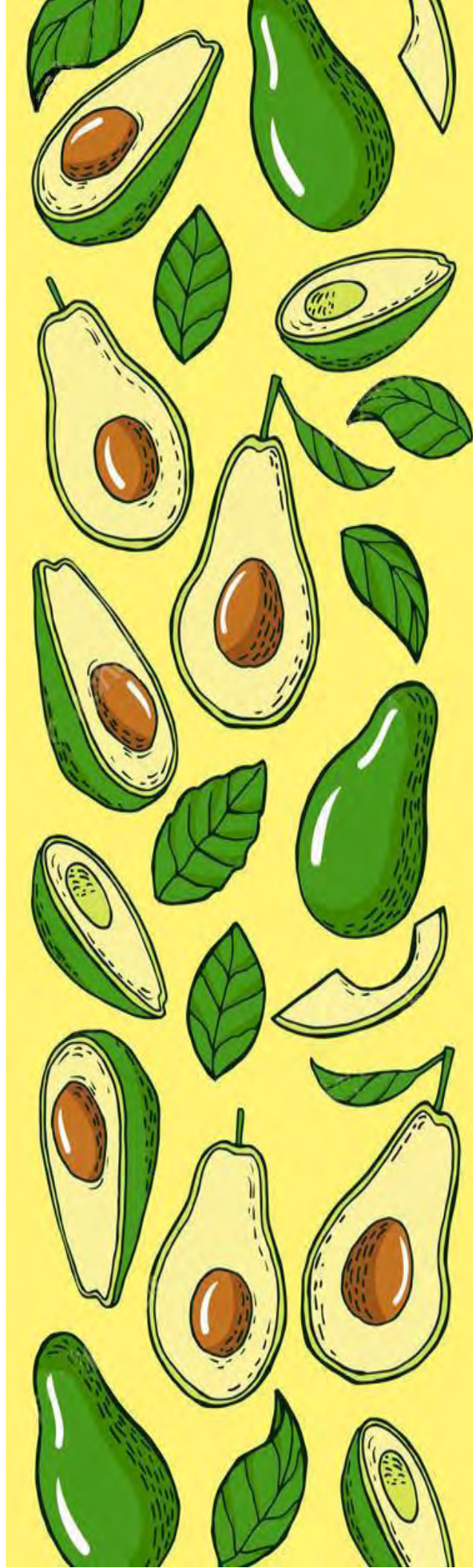
En este estudio se evalúa el uso de un recubrimiento a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo para ser aplicado sobre aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill) con el propósito extender su tiempo de vida útil y poder ser utilizado en la industria alimentaria y agrícola para reducir las pérdidas causadas por daños postcosecha y enfermedades como la antracnosis durante el almacenamiento y exportación del aguacate.



I

CAPÍTULO I.

ANTECEDENTES



1.1 Generalidades del aguacate Hass (*Persea americana* Mill)

1.1.1 Definición

El aguacate Hass (*Persea americana* Mill) es originario de Guatemala, México y parte de Centro América. Ha sido reconocido como una buena fuente de energía, bajo en calorías y sodio con alto contenido de ácidos grasos insaturados, vitamina E, ácido ascórbico, vitamina B6, β -caroteno, y potasio (Restrepo Duque et al., 2012)

Es una fruta extremadamente perecedera, con una tasa metabólica muy alta, resultando en una corta vida postcosecha de alrededor de tres a cinco semanas cuando se almacena en condiciones óptimas. La vida de almacenamiento después de la cosecha del fruto de aguacate está limitada por su patrón de maduración climatérica que exhibe una alta acumulación de etileno, estimulando una maduración más rápida como resultado de la alta tasa de respiración (Tsfay y Magwaza, 2017).

1.1.2 Clasificación botánica

El aguacate es una planta dicotiledónea de la orden Ranales y pertenece a la familia Lauraceae. Fue clasificado como *Persea gratissima* por Gaertner, y *Persea americana* por Miller. El aguacate (*Persea americana* Mill) es uno de los pocos miembros comercialmente significativos del género *Persea* (Yahia y Woolf, 2011).

1.1.3 Anatomía del aguacate

El aguacate 'Hass' es un híbrido guatemalteco-mexicano (G-MX), es un cultivar ovo de piel negra (cuando maduro), cuyo fruto pesa de 140 a 300 g.



La fruta del aguacate puede ser redonda, en forma de pera u oblonga, figura 1. El pericarpio, comprende la corteza (exocarpio), la porción comestible de carne (mesocarpio) y una capa delgada al lado del recubrimiento de la semilla (endocarpio) (Yahia y Woolf, 2011).

El exocarpio, conocido comúnmente como cáscara, en la variedad Hass suele ser rugoso e irregular, la piel de la fruta puede variar en textura (lisa a áspera) y en color (verde-amarillo, rojizo-púrpura, púrpura, o negro). El mesocarpio es la pulpa del aguacate es de color amarillo verdoso a amarillo brillante cuando está madura y con una consistencia similar a la mantequilla, pero las variedades inferiores pueden ser fibrosas (Barrientos et al., 1996; Yahia y Woolf, 2011).

El endocarpio consiste en una capa frágil que se encuentra fuertemente asociado con la envoltura de la semilla, factor que lo hace difícil de identificar en el fruto maduro. La fruta del aguacate tiene una semilla grande, que ocupa de 10 al 25% del peso del fruto (Yahia y Woolf, 2011).

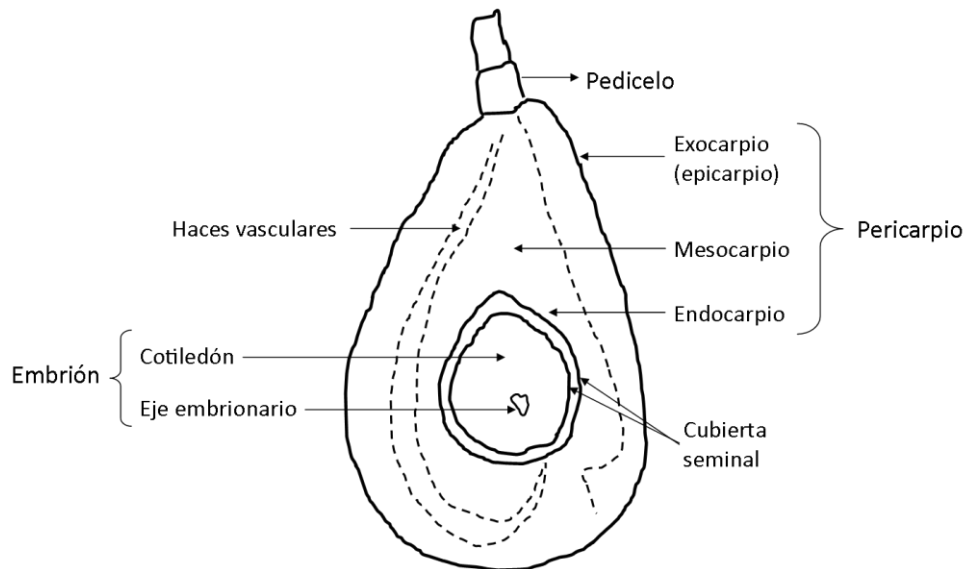


Figura 1. Estructura del aguacate, modificado de Barrientos et al., (1996).



1.1.4 Composición química y nutricional

En la tabla 1 se puede observar la composición química del aguacate, el cual es una fruta muy nutritiva y contiene una mayor cantidad de fibra soluble e insoluble y proteínas que muchos otros frutos carnosos. El aguacate es también una rica fuente de potasio y de vitaminas E y C y β -caroteno (provitamina A). Además, los ácidos grasos monoinsaturados en el aguacate reducen eficazmente los niveles sanguíneos del colesterol indeseable (Cowan y Wolstenholme, 2016). Estas propiedades nutricionales se detallan en las tablas 2 y 3.

Tabla.1 Composición química del aguacate.

Componente	Cantidad
Agua (%)	74.4
Lípidos (%)	20.6
Proteínas (%)	1.8
Fibra (%)	1.4
Cenizas (%)	1.2
Azúcares (%)	
Glucosa	0.30
Fructosa	0.10
Sacarosa	0.10
Ácidos orgánicos (%)	
Ácido málico	0.32
Ácido cítrico	0.05
Ácido oxálico	0.03
Vitaminas (mg 100 g ⁻¹)	
Ácido ascórbico	11.0
Tiamina	0.07
Riboflavina	0.12



Ácido nicotínico	1.9
Vitamina B6	0.62
Ácido fólico	0.04
Biotina	0.006
Carotenoides (mg 100 g⁻¹)	
α-caroteno	0.29
β-caroteno	0.03
Criptoxantina	0.16
Minerales (mg 100 g⁻¹)	
Potasio	480
Fósforo	27.0
Calcio	14.0
Magnesio	23.0
Sodio	2.0
Hierro	0.7
Zinc	0.5

(Yahia y Woolf, 2011)

Tabla. 2 Contenido nutricional (g 100 g⁻¹) de aguacates cultivados en México.

Variedad	Humedad	Cenizas	Grasas	Proteína	Carbohidratos	Fibra total
Pellejo	1.10	1.37	1.37	1.37	3.70	3.73
Grande	0.50	1.37	1.37	1.37	4.82	2.25
Verde	1.10	1.81	1.81	1.81	5.89	0.40
Hass	1.30	1.60	1.60	1.60	5.60	-

(Yahia y Woolf, 2011).



Tabla. 3 Contenido de vitaminas (mg 100 g⁻¹) en tres cultivares de aguacate.

Vitaminas	Fuerte	Hass	Anaheim
Tiamina	0.12	0.09	0.08
Riboflavina	0.22	0.23	0.21
Niacina	1.45	2.16	1.56
Ácido pantoténico	0.90	1.14	1.11
Piridoxina*	0.61	0.62	0.39
Ácido fólico	0.03	0.04	0.018
Biotina	0.005	0.006	0.0034

Nota: * Incluidos piridoxal y piridoxamina.

(Yahia y Woolf, 2011)

1.1.5 Cambios asociados a la maduración

Comercialmente, la calidad de la fruta de aguacate se clasifica según el tamaño, el contenido de aceite estimado (materia seca), la ausencia de defectos y la firmeza (Landahl et al., 2009).

Durante la maduración, el fruto sufre cambios marcados en una variedad de procesos bioquímicos. Estos incluyen el aumento de la respiración (es decir, el consumo de oxígeno y la liberación de dióxido de carbono), el aumento de la producción de etileno, los cambios en la textura y la producción de volátiles como el β -cariofileno (28%), α -copaeno (11%), α,β -cubebeno (8%), α -farneseno (6%), decanal (6%) y heptatina (3%), que imparten sabor.

Después de la cosecha, los frutos de aguacate típicamente maduran dentro de 5-20 días a temperaturas entre 15 y 24°C. Sin embargo, 'Hass' muestra gran heterogeneidad y es impredecible en el tiempo que se tarda en llegar a la madurez comestible (Cowan y Wolstenholme, 2016).



1.1.5.1 La respiración

El aguacate es una fruta climatérica, con un marcado aumento en la tasa de respiración y la producción de etileno al inicio de la maduración, seguida de una disminución. La tasa de respiración de la fruta de aguacate es relativamente alta.

Comparado con el de muchas otras frutas; de aproximadamente 20 a 50 mg de $\text{CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 5°C, de 50 a 160°C a 10°C y de 80 a 300 mg de $\text{CO}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20°C. Las tasas de producción de etileno son generalmente bajas para los aguacates inmaduros, $<0,1 \mu\text{L Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20 °C, pero aumentan rápidamente después de la cosecha hasta $>100 \mu\text{L Kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 20 ° C cuando están completamente maduras. (Yahia y Woolf, 2011).

1.1.5.2 Pérdida fisiológica de peso

Se considera que los frutos de aguacate tienen una elevada pérdida de masa después de la cosecha, y esto se debe principalmente a la pérdida de humedad por transpiración, que se ha demostrado que contribuye alrededor del 90% de la pérdida total de masa de fruta (Tsfay y Magwaza, 2017).

1.1.5.3 Contenido de aceite

El fruto del aguacate es único en su valor nutritivo debido al alto contenido de aceite representado por ácidos grasos insaturados. La fracción de aceite puede llegar hasta el 70% de la materia seca del mesocarpio (Landahl et al., 2009).

Se compone principalmente del ácido oleico monoinsaturado (del 50% al 60% del contenido en ácidos



|

grasos), del ácido palmítico saturado (15-20%), palmitoleico insaturado (6-10%), ácido linoleico poliinsaturado (11-15%) y ácido linolénico (1%) (Donetti y Terry, 2014).

El contenido de aceite es el mejor índice de madurez de la cosecha para el aguacate. El contenido mínimo de aceite necesario para la comercialización de fruta de aguacate es del 8%. Después de la maduración, pueden ocurrir valores superiores al 20%. Estos valores ocurren en el período comprendido entre la cosecha, cuando se alcanza la madurez comercial y la maduración completa, cuando el contenido de aceite aumenta y se produce un cambio en la composición del aceite. Las concentraciones de ácidos grasos insaturados aumentan y las de ácidos grasos saturados disminuyen (Ozdemir y Topuz, 2004).

1.1.5.4 Humedad

La pérdida de humedad de las frutas y verduras frescas debe principalmente a la difusión de la fase de vapor impulsada por un gradiente de presión de vapor de agua entre el interior y el exterior de la fruta (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005).

Dentro de los síntomas iniciales de la pérdida excesiva de humedad del aguacate se encuentra el encogimiento de la fruta, que aparece inmediatamente en la cáscara, y la pérdida de brillo y suavidad (Tesfay y Magwaza, 2017).

1.1.5.5 Dureza

El ablandamiento es el rasgo más característico del proceso de maduración de un fruto de aguacate 'Hass' y se considera un criterio de referencia para evaluar la vida postcosecha potencial (Ochoaet al., 2009). El ablandamiento de la fruta es una consecuencia de los cambios en el metabolismo de la pared celular resultante de alteraciones en la actividad de la celulasa, polilacturonasa, pectinesterasa y β -galactosidasa (Cowan y Wolstenholme, 2016).



|

Durante la maduración del aguacate, la laminilla media de las paredes celulares comienza a desaparecer, con la eliminación de la pectina de la matriz de las paredes celulares. Posteriormente, ocurre una pérdida de organización y densidad en las paredes y durante el periodo postclimatérico, las paredes desaparecen casi por completo (Yahia y Woolf, 2011).

1.1.5.6 Color

El color de cáscara es un atributo que se relaciona con el grado de madurez en frutos de aguacate 'Hass. El color cambia de verde a púrpura/negro, debido a la acumulación de pigmentos de antocianina (Cowan y Wolstenholme, 2016; Espinosa-Cruz et al., 2014).

Los aguacates contienen altas concentraciones de carotenoides y clorofilas, compuestos que disminuyen con la maduración después de la cosecha. Las concentraciones de clorofila son más altas en la piel de aguacate ($186 \mu\text{g g}^{-1}$ FW), las cuales disminuyen migrando hacia el interior del mesocarpio de verde a amarillo, 38 a $2,2 \mu\text{g g}^{-1}$ FW, respectivamente (Yahia y Woolf, 2011).

El cambio de color en los aguacates 'Hass' de verde a morado, para obtener un color negro, resulta de una disminución inicial en el contenido de clorofila, seguido por un aumento en los niveles de antocianina, cianidina 3-O-glucósido (Cox et al., 2004).

1.1.6 Enfermedades

Las enfermedades que dañan el fruto se han convertido en la mayor amenaza del comercio internacional del aguacate, debido a la alta calidad que exigen los mercados de destino (Gutiérrez-Contreras et al., 2010). El aguacate es afectado por varias enfermedades producidas por bacterias y hongos principalmente (Rodríguez-López et al., 2009).



1.1.6.1 Antracnosis del fruto (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Colletotrichum gloeosporioides Penz. Es un patógeno fúngico postcosecha grave de la fruta del aguacate (*Persea americana* Mill) (Sarkhosh et al., 2017). La infección se inicia en el campo en las primeras etapas del desarrollo del fruto y se manifiesta con mayor severidad hasta el inicio de la maduración del fruto cuando las condiciones favorecen el crecimiento del hongo y las lesiones se desarrollan figura 2 (Molina-Bosquez et al., 2010).

Las etapas de desarrollo de las especies de *Colletotrichum* pueden separarse en: 1) deposición en la superficie del hospedante, 2) establecimiento del conidio en la superficie, 3) germinación del conidio, 4) formación del apresorio, 5) penetración de la epidermis de la planta, 6) crecimiento y colonización del tejido del hospedante y 7) producción de acérvulos y esporulación (Rodríguez-López et al., 2013).

La antracnosis ocasiona pérdidas sustanciales por decaimiento de frutos durante el almacenaje y comercialización y se manifiesta con la presencia de manchas circulares café oscuras en el pericarpio y daños por ablandamiento y pudrición de la pulpa o mesocarpio figura 3 (Rodríguez-López et al., 2009).



Figura 2. Daño en el exocarpio del aguacate infectado con el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (InfoHass 2016).





Figura 3. Lesiones en la pulpa de aguacate Hass causadas por *Colletotrichum gloeosporioides* (INIA 2017).

1.1.6.2 Viruela viva y seca

La viruela viva es una forma de antracnosis, que consiste en lesiones individuales, circulares, color café oscuras, abultadas o hundidas, que dejan a la exposición un exudado blanco y cristalizado. Cuando la lesión es vieja, la viruela seca adquiere un aspecto circular obscuro y corchoso en forma de “cabeza de clavo” y da la impresión de que se va a desprender (PC-001-2004, 2004).

1.1.6.3 Roña (Sphaceloma perseae)

El ataque de la roña es favorecido por la presencia de trips, que abren puertas de entrada al patógeno. En el fruto, se presentan lesiones redondas o irregulares de color pardo o café claro, de apariencia corchosa, que pueden unirse y afectar gran parte del fruto figura 4. Las lesiones de la roña son superficiales y no afectan la calidad de la pulpa (Tamayo Molano, 2007).





Figura. 4 Daños en el exocarpio del aguacate ocasionados por roña (Enfermedades de la palta, 2014).

1.1.6.4 Varicela

La varicela es una variante de la antracnosis, que consiste en una lesión de color café oscuro, abultada, de 1–3 mm, de forma oval, que al pincharla deja salir un exudado cristalino, los frutos con ésta lesión son más propensos al rozamiento al momento de la cosecha, por la fricción a la que es sometido el fruto (PC-001-2004, 2004).

1.1.6.5 Mancha de la hoja y la mancha negra del fruto por Pseudocercospora purpurea

En postcosecha, causa la llamada mancha negra del fruto, y llega a causar pérdidas del 2% en condiciones de inadecuado almacenamiento. Afecta hojas y frutos en condiciones de campo y postcosecha. En los frutos, las lesiones son de tamaño mediano (1 a 2 cm de diámetro), de color negro, bordes angulosos o irregulares, con bordes rojizos bien definidos figura 5.



Generalmente, la lesión es superficial, levemente deprimida y no penetra ni compromete la pulpa, por lo cual no hay daño interno del fruto, pero sí deteriora la apariencia del mismo. En otras variedades, las lesiones son pequeñas (0,5 a 1 cm de diámetro), de color café oscuro a rojizas, con bordes irregulares (Tamayo Molano, 2007).



Figura 5. Mancha de la hoja y la mancha negra del fruto ocasionado por *Pseudocercospora purpurea* (infoAgro, 2016).

1.1.6.6 Rhizopus stolonifer (Ehrenb.: Fr.) Lind, pudrición chocolate

La pudrición del fruto causada por *R. stolonifer*, es una enfermedad de reciente detección en cultivos de aguacate. El hongo, es considerado un patógeno débil en postcosecha y puede llegar a causar pérdidas cercanas al 30%, al deteriorar la calidad del fruto en condiciones de mal almacenamiento.

En la inserción del pedúnculo con el fruto, es posible observar una pequeña lesión de color café que invade parcialmente la cáscara y la pulpa figura 6. Con el tiempo, el hongo ocasiona una pudrición de color chocolate, marrón o café oscuro de bordes irregulares, que avanza de manera gradual hacia el centro del mismo, posteriormente invade totalmente el fruto y causa una pudrición interna de la pulpa de color café claro, que le da un sabor desagradable a la misma (Tamayo Molano, 2007).





Figura 6. Daños ocasionados en el fruto por *R. stolonifer* (infoAgro, 2016).

1.1.6.7 Podedumbre por Dothiorella sp.

En la etapa de postcosecha las pérdidas por la enfermedad, son cercanas al 10%, al deteriorar la calidad de la fruta cosechada. El hongo produce infecciones latentes en el campo antes de la cosecha y sólo se manifiesta en el fruto en la etapa de postcosecha. La lesión que ocasiona una pudrición de color marrón o café oscuro en cualquier parte de la cáscara, que avanza de manera gradual y uniforme hacia el centro del mismo (Tamayo Molano, 2007).

1.1.6.8 Escamas

Insectos en forma de medias conchas que van del blanco amarillento al blanco total, dependiendo de su grado de desarrollo, conocidas como escamas armadas, siendo la especie *Hemiberlesia lataniae* la más común (PC-001-2004, 2004).



1.1.6.9 Gusanos

Cicatrices en forma de áreas circulares corchosas y aisladas o en zig-zag, ocasionadas por gusanos como el telarañero, el medidor y el falso medidor. (PC-001-2004, 2004).

1.1.6.10 Trips

Cicatrices en forma de abultamientos o pliegues, resultante de lesiones ocasionadas por insectos como *Liothrips perseae* (PC-001-2004, 2004).

1.1.7 Aspectos socioeconómicos

El cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.) es una fuente económica muy importante para México, es de consumo creciente debido a su incorporación en la dieta y genera fuentes de empleo directos e indirectos en su cadena productiva (Rodríguez-López et al., 2009).

La tabla 4 indica que para el 2016 México fue el principal productor y exportador de aguacate en el mundo, seguido de República Dominicana y Perú, (FAO, 2018). La producción de aguacate representa más del 30% de la cosecha mundial así México exporta aguacate a diversos países; principalmente a China, Chile y Australia, siendo Estados Unidos el principal importador de aguacate mexicano, seguido por Francia, Japón y Canadá (SIAP, 2017).



Tabla 4. Producción de aguacate de principales países productores en el 2018.

Ranking	País	Producción (toneladas)
1	México	1,889, 354
2	República Dominicana	601, 349
3	Perú	455, 394
4	Colombia	309, 431
5	Indonesia	304, 938
6	Brasil	196, 492
7	Kenya	176, 045
8	Estados Unidos de América	172, 630
9	Chile	137, 365
10	China	122, 942

(FAO, 2018)

La tabla 5 muestra que la mayor producción de aguacates se localiza en el estado de Michoacán donde se concentra un volumen de producción de 1, 477,263 toneladas, 8 de cada 10 aguacates de la producción nacional 2016 proviene de esta entidad federativa y junto con Jalisco son los únicos productores con municipios certificados para exportar a Estados Unidos (SIAP, 2017).

Existen más de 400 variedades de aguacate en el mundo según el clima en el que se cultiven; éstas dan frutos con formas, sabores, texturas, colores y olores de gran diversidad. El aguacate Hass es la variedad que más se consume en el mundo, representando un consumo anual per cápita de 7.0 kg en México (SIAP, 2017) así, durante el periodo 2007-2016 en México hubo un promedio de producción igual 1,375 millones de toneladas, y un incremento del mismo a partir del 2013 figura 7.



Volumen de la producción nacional (2007-2016)

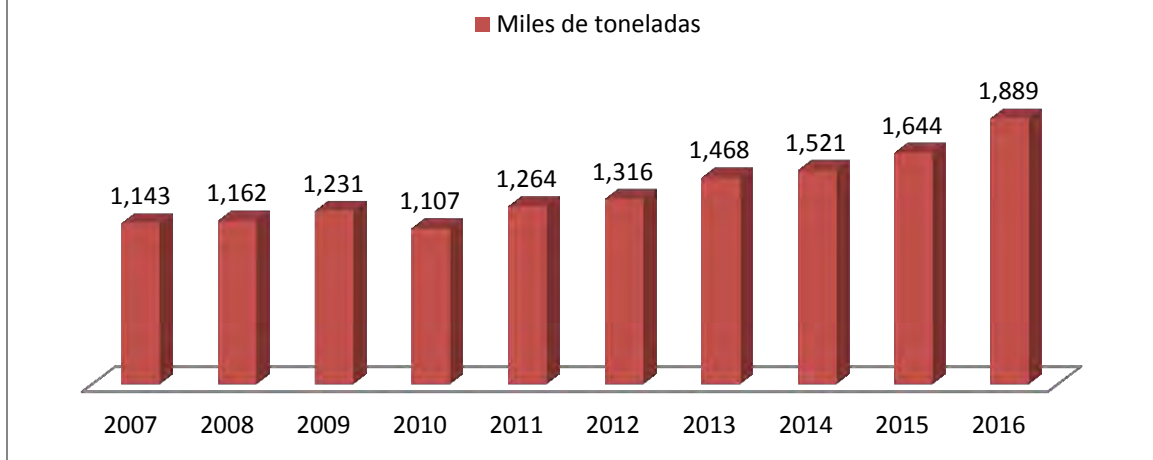


Figura 7. Volumen de la producción nacional 2007-2016 (miles de toneladas) (SIAP, 2017).

Tabla 5. Top 10 en volumen de producción de las principales entidades productoras.

RANK	Entidad federativa	Volumen (Toneladas)	Variación (%) 2015-2016
	Total nacional	1, 889, 354	14.9
1	Michoacán	1, 477, 263	15.1
2	Jalisco	143, 505	19.9
3	México	109, 209	22.7
4	Nayarit	33, 240	-15.1
5	Morelos	32, 448	9.8
6	Guerrero	21, 582	30.6
7	Puebla	16, 293	5.0
8	Yucatán	10, 795	7.0
9	Chiapas	10, 437	-2.5
10	Oaxaca	7, 727	8.3
	Resto	26, 855	14.0

(SIAP, 2017).



1.1.8 Tratamiento postcosecha

El fruto de aguacate se consume principalmente en fresco y para conservarlo se usa primordialmente refrigeración. Sin embargo, hay regiones productoras sin infraestructura para aplicar este método, lo que crea la necesidad de explorar otras estrategias (Espinosa-Cruz et al., 2014).

Las zonas productoras del aguacate se encuentran lejanas de las zonas de comercio, por lo que es importante retardar la maduración entre la cosecha y el arribo del fruto al punto de consumo. A través de los años se han usado diversas metodologías para retardar la maduración y conservar el fruto o la pulpa como la refrigeración, atmósfera controlada, aplicación de cera y reducción de presión.

La vida de almacenamiento después de la cosecha de la fruta de aguacate está limitada por su patrón de maduración climatérica que exhibe una alta acumulación de etileno, estimulando una maduración más rápida como resultado de la alta tasa de respiración (Tesfay y Magwaza, 2017).

1.1.8.1 Refrigeración

La refrigeración se utiliza comúnmente para incrementar el tiempo de almacenamiento, sin embargo, la reducción de la temperatura durante periodos muy largos causa daños por frío y la maduración anormal. La respuesta a diferentes temperaturas de almacenamiento fue clasificada por Zauberman en 3 diferentes clases:

- 10-25°C causa el ablandamiento y maduración del fruto
- 5-8°C retarda la maduración y el ablandamiento del fruto
- 0-4°C es limitado en tiempo por la susceptibilidad del fruto al daño por frío.



1.1.8.2 Atmosferas controladas

El aguacate no se almacena en atmósferas controladas, sin embargo, el transporte en estas es muy utilizado. Altas concentraciones de CO₂ y/o bajas de O₂ en la atmósfera retardan la maduración (ablandamiento y cambio de color en el exocarpio) y disminuyen los síntomas del daño por frío durante el almacenamiento. Las concentraciones adecuadas son de 5-8% de CO₂ y 3-5% de O₂, posteriormente el fruto sigue su maduración normal.

El almacenamiento del fruto en empaques con atmósferas modificadas (MAP) con polietileno de alta densidad en atmósferas pasiva o semiactiva, disminuyen la incidencia de la pudrición y el daño por frío en aguacate “Hass” además de prolongar la vida postcosecha al reducir la pérdida de peso y el ablandamiento de la pulpa (Román Mares y Yahia Kazuz, 2002).

1.1.8.3 Aplicación de ceras

La práctica de aplicación de ceras en aguacate tiene un efecto mínimo en el proceso de maduración, causa un ligero incremento en la concentración de CO₂ (respiración), aunque disminuye con respecto al tiempo. El uso de cera en el aguacate también puede mejorar el aspecto del producto, al proporcionar brillo (Román Mares y Yahia Kazuz, 2002).

1.1.8.4 Tratamientos térmicos

Un tratamiento que permite reducir el daño por bajas temperaturas es exponer el fruto a temperaturas elevadas antes de almacenarlo en refrigeración, estos tratamientos pueden ser aplicados a frutas y vegetales en diversas formas: exposición en agua caliente, vapor saturado, aire seco, radiación infrarroja y radiación de microondas, siendo comercialmente de mayor uso el vapor saturado y el agua caliente.



Los pretratamientos a una temperatura de 38 °C reducen niveles de oscurecimiento externo, endurecimiento de cáscara y desordenes internos como oscurecimiento y pudrición (Román Mares y Yahia Kazuz, 2002).

1.2 Generalidades de los recubrimientos

1.2.1 Definición

Un recubrimiento comestible se puede definir como una matriz continua, delgada, que se forma alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento figura 8. (Quintero et al., 2010), siendo capas delgadas de materiales comestibles formados como recubrimientos en productos alimenticios. Estas películas tienen funciones como barreras contra el vapor de agua y gases, asimismo mejoran la integridad estructural y las propiedades de manipulación mecánica de los alimentos (Yuan et al., 2016).



Figura 8. Formación de recubrimiento por inmersión del producto (De Ancos et al., 2015).



|

Un recubrimiento comestible tiene la capacidad de trabajar sinérgicamente con otros materiales de embalaje (Quintero et al., 2010). Los materiales más comunes para la formulación de películas y revestimientos comestibles / biodegradables son polisacáridos, proteínas y lípidos, y la combinación de éstos permite producir mezclas de características mejoradas (Chiralt y Atar, 2016).

1.2.2 Clasificación

1.2.2.1 Proteínas

Las proteínas se usan comúnmente como materiales formadores de película. Son macromoléculas con secuencias de aminoácidos y estructuras moleculares específicas. Las características más distintivas de las proteínas en comparación con otros materiales formadores de película son su desnaturalización de conformación, cargas electrostáticas y naturaleza anfifílica (Han, 2014).

Las películas de base proteica pueden ser de origen animal como las gelatinas y las proteínas de suero de leche, o de origen vegetal como las proteínas de soja y de maíz (zeína) (De Ancos et al., 2015).

1.2.2.2 Polisacáridos

Los materiales formadores de película de polisacárido incluyen almidón, quitosán, alginatos, carragenanos, gelanos y pectinas de fruta, entre otros. Los polisacáridos tienen monómeros simples en comparación con proteínas, que tienen 20 aminoácidos comunes. Debido al gran número de grupos hidroxilo u otros restos hidrófilos en la estructura de hidratos de carbono neutros, los enlaces de hidrógeno juegan el papel más significativo en la formación de la película y sus características (Han, 2014).



1.2.2.3 Lípidos

Los lípidos y resinas también se usan como materiales formadores de película, son biomateriales comestibles, biodegradables y cohesivos. La mayoría de los lípidos y resinas comestibles son sólidos blandos a temperatura ambiente y poseen temperaturas de transición de fase características.

Entre sus características destacan la reducción de la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y ayudan a mejorar el brillo y el sabor. Generalmente son ceras (carnauba, abeja), ácidos grasos y monoglicéridos (glicerol) (De Ancos et al., 2015).

Los lípidos pueden combinarse con otros materiales formadores de película, tales como proteínas o polisacáridos, como partículas de emulsión o revestimientos multicapa para aumentar la resistencia a la penetración de agua (Han, 2014).

1.2.3 Propiedades

Los recubrimientos y los materiales de revestimiento son biodegradables. Esta biodegradabilidad es uno de los mayores beneficios de las películas y revestimientos junto con su comestibilidad.

Para fines de envasado de alimentos, las películas comestible y los materiales de revestimiento deben ser elegidos de acuerdo a las aplicaciones específicas, los tipos de productos alimenticios y los principales mecanismos de deterioro de la calidad (Han, 2014) por lo que se han considerado particularmente importantes en la conservación de los alimentos debido a su capacidad para extender la vida útil (Elsabee y Abdou, 2013).



1.2.4 Aplicaciones en alimentos

Actualmente, las películas y revestimientos comestibles se utilizan con varios productos alimenticios, principalmente frutas, verduras, dulces y algunas nueces (Han, 2014).

El uso de los recubrimientos en aplicaciones alimentarias y en especial en productos altamente perecederos, como los pertenecientes a la cadena hortofrutícola, se basa en características como el costo, disponibilidad, atributos funcionales, propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), propiedades ópticas (brillo y opacidad), su efecto barrera frente al flujo de gases, resistencia a microorganismos y su aceptabilidad sensorial (Quintero et al., 2010).

En la industria alimenticia, las películas ofrecen muchas ventajas debido a su comestibilidad, biocompatibilidad, propiedades de barrera frente a microorganismos patógenos, no toxicidad, no contaminante y bajo costo (Vásquez et al., 2009). Por estas razones, han atraído una atención particular en la conservación de los alimentos como materiales de revestimiento que prolonguen la vida útil de diferentes productos alimenticios (Aider, 2010).

Los recubrimientos han mostrado resultados prometedores para el control de la descomposición después de la cosecha, manteniendo al mismo tiempo la calidad global del producto (Cindi et al., 2015).

1.3 Generalidades del quitosán

1.3.1 Definición

El quitosán es un copolímero compuesto por unidades de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina figura 9. Se obtiene de tres maneras diferentes, desacetilación termoquímica de quitina en presencia de álcali, por hidrólisis enzimática en presencia de quitindesacetilasa, o se encuentra naturalmente en ciertos hongos como parte de su estructura (Castro y Paulín, 2012).



El quitosán se deriva de la quitina la cual es un abundante biopolímero natural que se encuentra en el exoesqueleto de los crustáceos, en las paredes celulares de hongos y en otros materiales biológicos. Es principalmente poli (β - (1-4) -2-acetamido-D-glucosa) (Elsabee y Abdou, 2013).

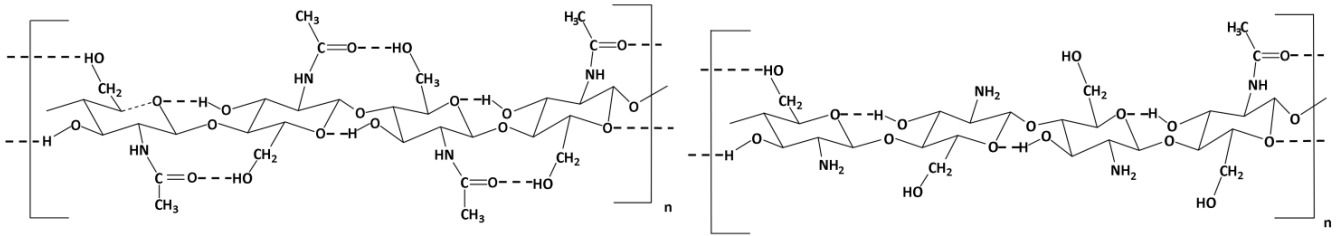


Figura 9. Estructura química de la quitina y el quitosán (Castro & Paulín, 2012).

El quitosán se describe en términos de grado de desacetilación y peso medio promedio y su importancia reside en sus propiedades antimicrobianas en conjunción con su carácter catiónico y propiedades filmógenas (Elsabee & Abdou, 2013).

1.3.2 Propiedades

Se ha encontrado que el quitosán no es tóxico, es biodegradable, biofuncional, biocompatible y fue reportado por varios investigadores por tener fuertes actividades antimicrobianas y antifúngicas (Aider, 2010) Principalmente el quitosán con alto grado de desacetilación (>75%) y un peso molecular importante han mostrado los efectos antibacterianos más fuertes en soluciones acuosas independientemente del tipo de ácido utilizado para la solubilización (Hafsa et al., 2016).



1.3.3 Aplicaciones en alimentos

El quitosán es también un excelente material formador de película y poseen una permeabilidad selectiva a los gases (CO₂ y O₂) y buenas propiedades mecánicas, estas propiedades ayudan a reducir la pérdida de peso, la tasa de respiración, la pérdida de color y la infección fúngica en diversos alimentos (Xing et al., 2011; Elsabee y Abdou, 2013).

El quitosán posee propiedades fungistáticas o fungicidas contra los patógenos de varias frutas y verduras como contra el crecimiento de hongos postcosecha importantes como *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus stolonifer* y *Penicillium* spp. (Bautista-Baños et al., 2003).

1.4 Generalidades de los aceites esenciales

1.4.1 Definición

Los aceites esenciales son los metabolitos secundarios de las plantas, se han utilizado tradicionalmente para prolongar la vida útil de los alimentos debido a su actividad antimicrobiana/antifúngica. (Yuan et al., 2016).

1.4.2 Propiedades

Los aceites esenciales de origen vegetal son uno de los productos importantes de la industria basada en la agricultura. Estos han sido utilizados durante muchos miles de años, especialmente en la conservación de los alimentos, los productos farmacéuticos, la medicina alternativa y las terapias naturales (Imelouane et al., 2009).

Se utilizan comúnmente como agentes aromatizantes en productos alimenticios, bebidas, productos farmacéuticos y cosméticos. Los aceites esenciales de las plantas poseen diversas aplicaciones principalmente en las industrias de la salud, la agricultura, la cosmética y la alimentación. Los aceites



|

esenciales son mezclas complejas de compuestos de bajo peso molecular, extraídos por destilación con vapor, hidrodestilación o extracción con disolvente (Raut y Karuppayil, 2014).

Los aceites esenciales son fuentes potenciales de nuevos compuestos antimicrobianos especialmente contra patógenos bacterianos, además han demostrado un gran potencial como alternativas a los fungicidas sintéticos para el control de enfermedades y mantenimiento de calidad alimentos como tomates, arándanos, fresas, aguacates y cítricos (Shao et al., 2015; Imelouane et al., 2009).

1.4.3 Composición química

Los terpenoides y los fenilpropanoides forman los constituyentes principales de los aceites esenciales. Además, también están presentes pocos constituyentes aromáticos y alifáticos. Los monoterpenos, los sesquiterpenos y los derivados oxigenados de estos dos son el grupo más grande de entidades químicas en los aceites esenciales (Raut y Karuppayil, 2014).

1.4.4 Aplicación en alimentos o actividad antimicrobiana

Se ha demostrado que la aplicación de aceites esenciales o sus compuestos volátiles en la etapa posterior a la cosecha controla las enfermedades postcosecha en diferentes frutas al proporcionar acción fungitóxica (Simas et al., 2017; Bill et al., 2014).

Especialmente se ha demostrado que exhiben actividades inhibitoras de amplio espectro contra diversos patógenos bacterianos Gram positivos y Gram negativos, levaduras y hongos. En general, los antimicrobianos más activos son los aceites de tomillo, orégano, árbol de té, canela, hierba de limón, bahía, limón, mirto y palo de rosa. (Raut y Karuppayil, 2014).

Las películas a base de quitosán pueden encapsular aceites esenciales para que estos compuestos naturales puedan ser utilizados en la conservación de alimentos, mejorando la funcionalidad y así mismo reducir la intensa percepción del aroma del aceite esencial (Perdones et al., 2016).



1.4.5 Aceite esencial de tomillo

Thymus vulgaris L. (tomillo), es miembro de la familia Lamiaceae, ampliamente utilizado en la medicina tradicional por sus propiedades expectorante, antitusiva, antibroncolítica, antiespasmódica, antihelmíntica, carminativa y diurética. Las propiedades aromáticas y medicinales del género *Thymus* lo han convertido en una de las plantas más populares en todo el mundo.

Las especies de timo se usan comúnmente como té de hierbas, agentes aromatizantes (condimentos y especias) y plantas medicinales. Los componentes principales del aceite esencial de tomillo son geranial, linalol, γ -terpineol, carvacrol, timol y trans-thujan-4-ol / terpinen-4-ol (Imelouane et al., 2009).

Se ha demostrado que las especies de timo tienen fuertes actividades antibacterianas, antimicóticas, antivirales, antiparasitarias, espasmolíticas y antioxidantes (Imelouane et al., 2009).

El aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) es rico en timol y carvacrol, compuestos fenólicos que son los principales componentes responsables de la acción antimicrobiana de este y otros aceites esenciales, así como las propiedades antioxidantes para combatir las especies reactivas y evitar la oxidación de los alimentos (Gonçalves et al., 2017).

En la literatura se afirma que el aceite esencial de tomillo tiene considerables efectos antioxidantes y antimicrobianos contra muchos microorganismos, incluyendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis* y *Escherichia coli* (Sotelo-Boyás et al., 2017). La actividad antifúngica del aceite de tomillo está bien documentada y se ha demostrado que inhibe el crecimiento fúngico de *C. gloeosporioides* *In Vitro* o *In Vivo* en los cultivares de aguacate Hass y Fuerte (Bill et al., 2014).

1.4.6 Aceite esencial de clavo

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) es una especia perteneciente a la familia *Myrtaceae*, El aceite de clavo ha sido ampliamente utilizado debido a su popularidad, vasta



disponibilidad y alto rendimiento, en la industria alimentaria el aceite esencial y los extractos de clavo pueden ser utilizados como aditivos naturales alternativos a los antimicrobianos sintéticos naturales y así extender la vida útil de los alimentos procesados (Aguilar González y López Malo, 2013).

El aceite de clavo, se extrae de los botones florales secos de *Eugenia caryophyllata* L. Merr. & Perry (Myrtaceae), este aceite es ampliamente utilizado por su actividad antimicrobiana, antioxidante, antifúngica y antiviral, con aplicaciones de protección agrícola y alimentaria (Shao et al., 2015).

Entre los principales compuestos del aceite de clavo se encuentra los fenilpropanoides como el eugenol (76.8%), el β -cariofileno (17.4%), el α -humuleno (2.1%) y el acetato de eugenol (1.2%) (Chaieb et al., 2007). El eugenol es conocido por ser un componente fenólico que posee características fungicidas siendo eficaz contra diversos patógenos como *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus Botrytis cinerea*.

1.4.7 Aceite esencial de canela

El aceite esencial de canela se usa comúnmente en la industria alimenticia debido a su aroma en combinación con sus propiedades medicinales (Ayala-Zavala et al., 2013)

La canela es rica en cinamaldehído (60%), así como β -cariofileno, linalol, eugenol, 1,8-cineol y otros terpenos, que son " Generalmente reconocidos como Safe-GRAS " por la Administración de Alimentos y Medicamentos, además algunas componentes bioactivos como el eugenol y el cinnamaldehído del aceite esencial de canela inhiben el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos dañando las células microbianas ralentizando su desarrollo(Ayala-Zavala et al., 2013; Xing et al., 2011).

Por su potencial de inhibición en el desarrollo de diversos microorganismos patógenos, el aceite esencial de canela ha sido utilizado en numerosos tratamientos postcosecha alternativos, entre ellos para el control la antracnosis del banano causada por *Colletotrichum musae*, *Lasiodiplodia theobromae* y *Fusarium spp.* debido a sus propiedades fungistáticas y fungicidas contra estos patógeno (Win et al., 2007).

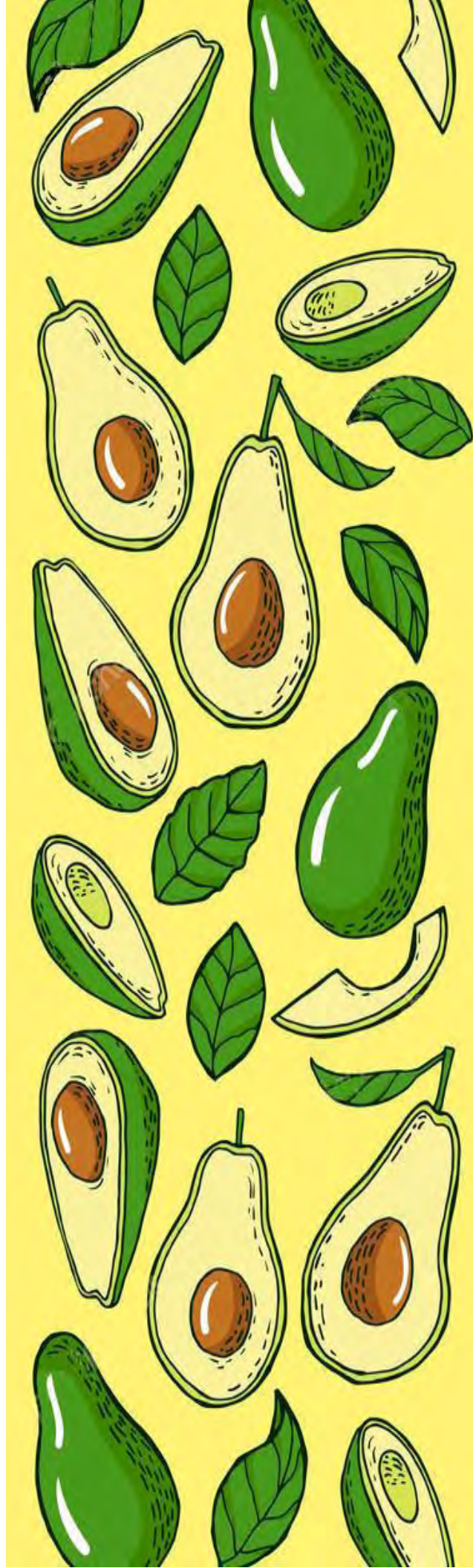


I

CAPÍTULO II.

METODOLOGÍA

EXPERIMENTAL



2.1 Objetivos

Objetivo general

Evaluar un recubrimiento a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo en aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill) sobre algunos parámetros físicos y químicos durante el almacenamiento para alargar su tiempo de vida útil.

Objetivo particular 1

Evaluar la calidad del aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill) tratado con diferentes recubrimientos a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo mediante parámetros físicos (pérdida fisiológica de peso, dureza y color) durante el almacenamiento.

Objetivo particular 2

Evaluar la calidad del aguacate variedad Hass (*Persea americana* Hill) tratado con diferentes recubrimientos a base de quitosán y aceites esenciales de tomillo, canela y clavo mediante parámetros químicos (contenido de aceite, contenido de humedad y actividad de agua) durante el almacenamiento.



2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Aislamiento e identificación de Colletotrichum gloeosporioides

La cepa del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* que se utilizó se aisló de frutos enfermos de aguacate Hass (*Persea americana* Mill) provenientes del estado de Morelos, las cuáles se obtuvieron en el mercado de Cuautitlán Izcalli en el Estado de México. En el laboratorio de micología de la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNIGRAS), ubicado en el Centro de Asimilación y Tecnología (CAT). Los frutos se colocaron en bolsas estériles con cierre, figura 10, que contenían toallas de papel humedecidas con 20 mL de agua estéril, se sellaron y se dejaron en incubación a 28°C durante 3 días para favorecer el desarrollo del hongo.



Figura 10. Aguacate en bolsa estéril para el desarrollo del hongo *C. gloeosporioides*.



A partir del fruto enfermo figura 11 se tomaron muestras aleatorias de las zonas que presentaban los síntomas de la enfermedad que se caracterizan por lesiones circulares oscuras y hundidas, con masas compactas de color naranja (Montero Tavera et al., 2010) . Se sembraron bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar marca YECO en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) tomando una pequeña porción con una aguja de disección estéril y se sellaron con papel parafilm, posteriormente las placas y se incubaron en un fotoperiodo 12 h de luz y 12 h de oscuridad a 28°C durante 3 días

Se realizaron resiembras de la cepa del hongo que se obtuvieron en cajas de PDA mediante la técnica de picadura hasta obtener cultivos axénicos, las cajas se sellaron y se llevaron a incubación en fotoperiodo durante 10 días, figura 12.



Figura 11. Toma de inóculo a partir de aguacate Hass enfermo.



Figura 12. Incubación de cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* a 28°C en fotoperiodo.



2.2.1.1 Identificación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*

Para identificar la morfología del hongo, se realizaron siembras de los cultivos axénicos en cajas con PDA y se incubaron a 28°C con fotoperiodo, posteriormente con 10 días de crecimiento se observaron las características macroscópicas principales como el tamaño, color, presencia de micelio y forma de la colonia.

Se elaboraron preparaciones semipermanentes figura 13 para la observación microscópica de las estructuras del hongo. En un portaobjetos se añadió una gota de azul de algodón como medio de tinción y se colocó una pequeña cantidad de muestra de la cepa para observar las características de la micromorfología del hongo en un microscopio óptico compuesto OLYMPUS e identificó a nivel especie siguiendo las claves de Mathur y Kongsdal (2003).

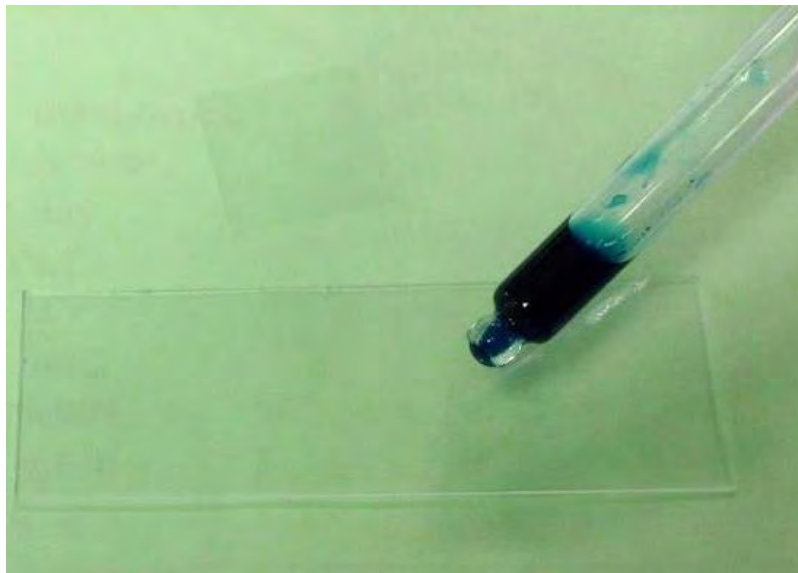


Figura 13. Tinción con azul de algodón para identificar las características de la micromorfología de *C. gloeosporioides*.



2.2.2 Evaluación antifúngica del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas In Vitro

Se realizó una evaluación microbiológica para aislar e identificar el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* causante de la enfermedad antracnosis en aguacate y observar el efecto del quitosán mejorado y aceites esenciales sobre su crecimiento y desarrollo para la formulación del recubrimiento.

2.2.2.1 Preparación de medios de cultivo

El medio que se utilizó para el crecimiento de la cepa del hongo *C. gloeosporioides* fue Agar papa-dextrosa MCD LAB. La preparación de este medio se llevó a cabo usando el medio comercial, se utilizó 39g de agar para 1 litro de agua. Se calentó y se dispersó con agitación suave. Se esterilizó en autoclave a 121°C, (15lb de presión) durante 15 minutos, se enfrió y se vació el contenido en cajas Petri estériles.

2.2.2.2 Preparación de la solución de quitosán mejorado al 1% y quitosán con aceites esenciales

El quitosán mejorado se obtuvo a partir de las cáscaras de camarón siguiendo la patente Mexicana No. 293022 con el nombre “Proceso para la extracción de quitina a partir de exoesqueletos de crustáceos y su conversión a quitosán”, al cual se le hicieron modificaciones que están en estudios para patente.

Se preparó una solución de quitosán mejorado al 1% con ácido acético al 1% a la cual se le ajustó el pH a 5 con una solución de NaOH 1N figura 14. En la solución resultante de quitosán mejorado se preparó el medio PDA y se adicionó Tween 80 para homogenizar, posteriormente se esterilizó en autoclave a 15 lb durante 10 min y se vació en cajas Petri estériles de 87 mm de diámetro.



|

Se dividió la solución de quitosán en matraces de 150 mL, en forma estéril en una campana de flujo laminar marca YECO figura 15 se les adicionaron los aceites esenciales (tomillo, canela y clavo) hasta obtener las concentraciones de 200, 300, 400 y 500 ppm de cada aceite esencial y de la mezcla de ellos. Se agitó hasta obtener una mezcla homogénea y se vaciaron en las cajas Petri estériles.

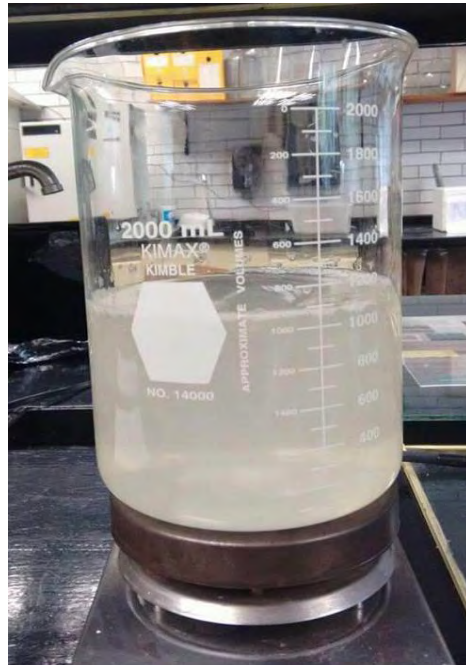


Figura 14. Preparación de la solución de quitosán mejorado al 1%.

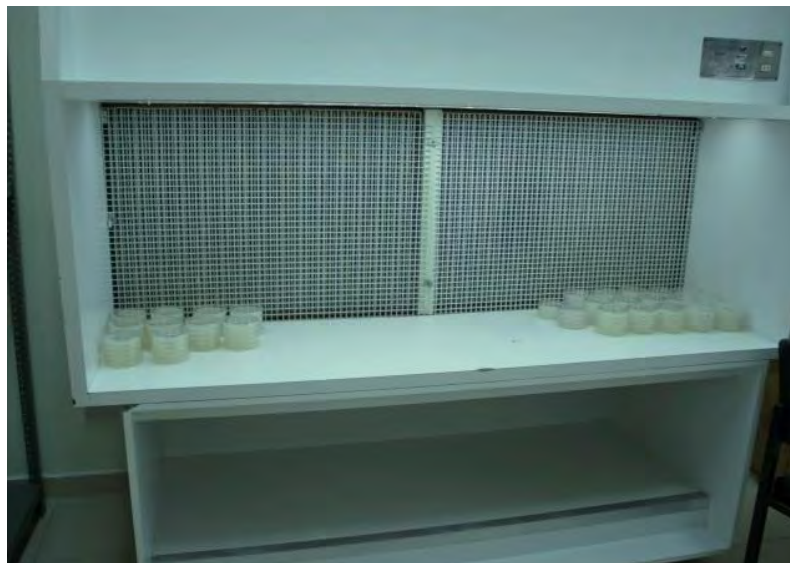


Figura 15. Campana de flujo laminar YECO.



2.2.2.3 Variables evaluadas In Vitro

2.2.2.3.1 Cinética de crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* e identificación de la actividad antifúngica del quitosán mejorado y los aceites esenciales

Para evaluar el crecimiento micelial de los hongos cada 24 h durante 8 días, se utilizó un calibrador digital vernier marca “TRUPER”, se midió el diámetro de la colonia, figura 16, tomando dos ejes en ángulo recto entre sí para promediar y obtener los resultados, esto se realizó hasta que el tratamiento con mayor velocidad de crecimiento llenó la caja Petri. Se realizó una gráfica de cinética de crecimiento con el promedio de los valores obtenidos. Esta prueba se realizó por triplicado.

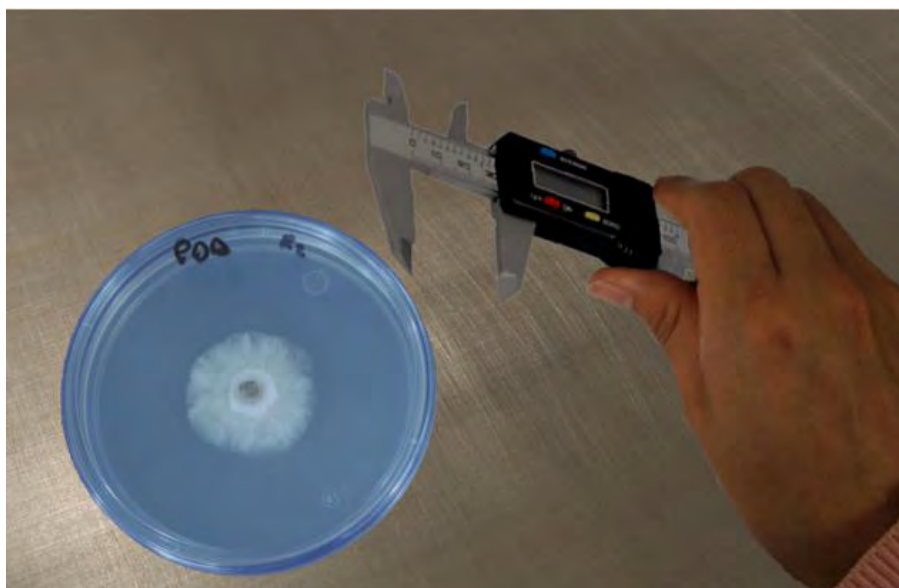


Figura 16. Evaluación del crecimiento micelial.

Para evaluar la actividad antifúngica de *C. gloeosporioides*, la cepa se sembró en cajas de Petri con papa dextrosa agar con quitosán mejorado 1%, adicionado con aceites esenciales de tomillo, canela, clavo y la mezcla de estos a concentraciones de 200, 300, 400 y 500 ppm y un control figura 17; tomando explantes discoidales de 5 mm de diámetro de las colonias en las placas de agar con 10 días de desarrollo. Para cada tratamiento y el control la prueba se realizó por triplicado.



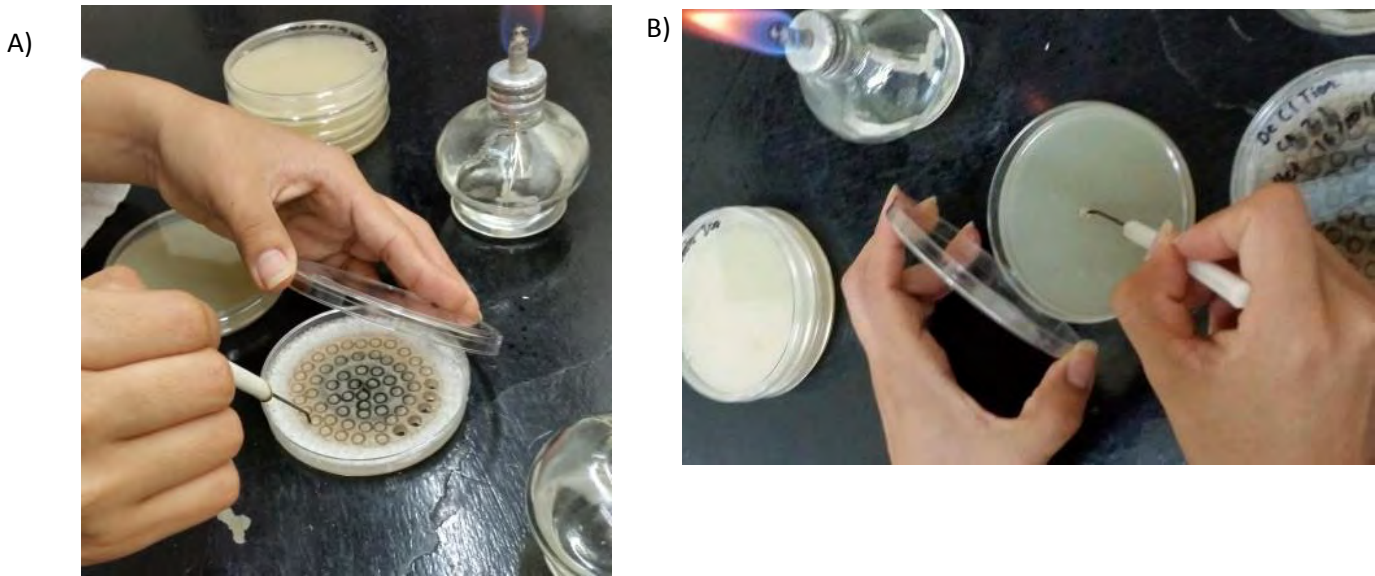


Figura 17. A y B) Siembra de *C. gloeosporioides* con explantes discoidales

2.2.3 Identificación de la actividad fungicida y/o fungistática del tratamiento con quitosán mejorado al 1% y aceites esenciales

Para identificar la actividad fungicida o fungistática, las cajas Petri con PDA solo y con tratamientos de quitosán mejorado al 1% y quitosán mejorado con aceites esenciales a diferentes concentraciones inoculadas con el hongo *C. gloeosporioides* se incubaron a 28 °C durante 8 días para observar si había desarrollo del hongo (actividad fungistática) o no había crecimiento (actividad fungicida). La prueba se realizó por triplicado.



2.2.4 Evaluación del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas In Vivo

2.2.4.1 Formulación del recubrimiento

La formulación del recubrimiento se realizó con base en los datos obtenidos de las pruebas *In Vitro*, el quitosán modificado al 1% pudo inhibir el crecimiento del hongo, al igual que todas las concentraciones aceites esenciales, por lo que se decidió utilizar como recubrimiento únicamente el quitosán mejorado al 1%.

2.2.4.2 Recepción de materia prima

Se utilizaron aguacates de la variedad Hass (*Persea Americana* Mill.) provenientes del estado de Morelos. Los frutos se llevaron al laboratorio de Biotecnología en el edificio de Posgrado ubicado en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1 donde para su estudio se seleccionaron aquellos frutos que cumplieron las especificaciones de la norma (PC-001-2004).

Los aguacates se clasificaron de acuerdo a su peso y estado de madurez, dividieron en dos grupos, el primer grupo al cual no se le aplicó ningún tratamiento y el segundo grupo al cual se le aplicó el recubrimiento con quitosán modificado.



2.2.4.3 Limpieza y lavado de los aguacates

A los frutos se les retiró cualquier materia extraña y basura, se lavaron y fueron colocados en rejillas sobre una mesa para su secado figura 18.

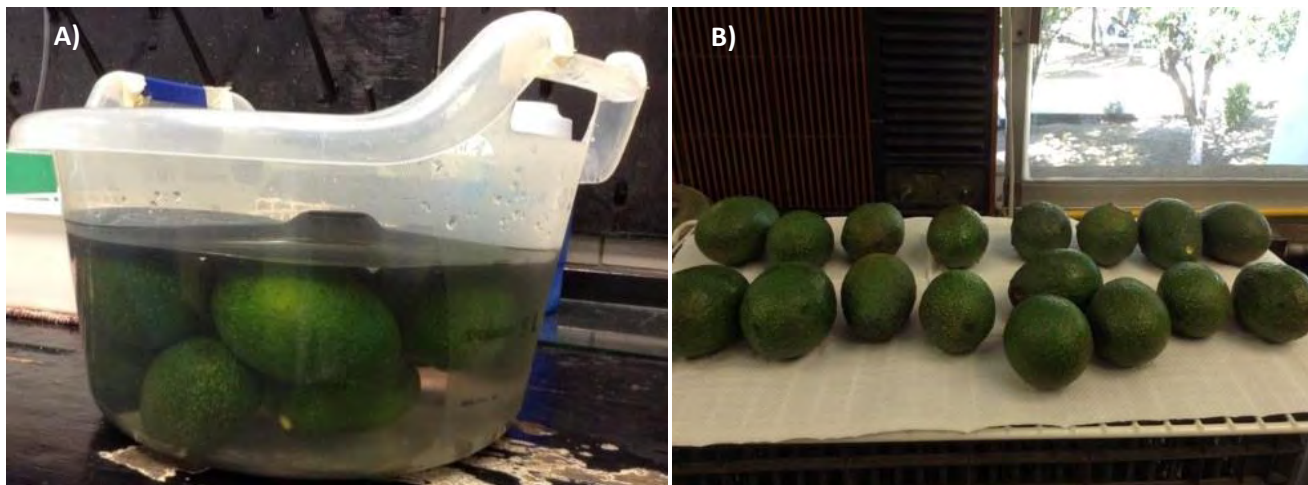


Figura 18. A) Lavado y B) secado de los frutos seleccionados.

2.2.4.5 Aplicación del recubrimiento

Se aplicó recubrimiento de quitosán al 1% a los frutos seleccionados, mediante la técnica de inmersión figura 19 durante 30 segundos para asegurar que las muestras fueran cubiertas totalmente, posteriormente se colocaron sobre rejillas para retirar el excedente y fueron secadas por convección natural. Los frutos se dividieron en dos lotes, el primer lote como control sin tratamiento y el segundo lote con recubrimiento, los cuales se almacenaron en una cámara figura 20 a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) con 45% de humedad relativa.





Figura 19. Aplicación de recubrimiento de quitosán mejorado al 1% por inmersión.



Figura 20. Cámara de almacenamientos con A) Frutos control y B) Frutos con recubrimiento de quitosán modificado 1%.



2.2.5 Evaluación de pruebas físicas y químicas

2.2.5.1 Físicas

2.2.5.1.1 Pérdida fisiológica de peso

Para la evaluación se utilizaron aguacates previamente acondicionados, se dividieron en dos grupos los cuáles se pesaron para formar lotes de 500g, el primer grupo sin recubrimiento y el segundo con recubrimiento; cada grupo de aguacate se pesó diariamente en una balanza analítica Standard Ohaus modelo AS200.

2.2.5.1.2 Dureza

La prueba de dureza se realizó sobre el mesocarpio del fruto y se determinó con el penetrómetro universal, figura 21, utilizando como dispositivo el cono de 45°, obteniendo así resultados de distancia penetrada la cual presenta un comportamiento inverso con el valor de dureza.

En la evaluación primero se midió el espesor de la muestra, para colocar el dispositivo a un 10% por encima de la base de la muestra, con la varilla altura se ajustó la carátula secundaria a 0 (cero) y la carátula principal con el disco. En función del espesor se definió la altura de penetración haciendo subir la varilla de altura, la cual se indicó con la carátula secundaria. El dispositivo quedó al ras de la superficie de la muestra.

Se ajustó la carátula principal a cero 0 haciéndola girar en sentido a las manecillas del reloj. Se presionó el indicador de disparo del cabezal, se tomó la lectura de la carátula principal y de la secundaria que se indica con las agujas.



El cálculo de la dureza se realizó con la siguiente ecuación

$$D = \frac{F}{A} = \frac{m_T a_g}{A}$$

Ecuación 1. Dureza

Dónde: $D = \text{dureza (Pa)}$

$A = \text{área total del dispositivo que penetró (m}^2\text{)}$

$m_T = \text{peso del dispositivo, varilla y cabezal (kg)}$

$a_g = \text{aceleración de la gravedad (m/s}^2\text{)}$



Figura 21. Penetrómetro universal



2.2.5.1.3 Color

El color en los alimentos es un parámetro que permite identificar anomalías, realizar clasificaciones de productos, evaluar materias primas, por lo cual resulta necesario su análisis de forma cualitativa o cuantitativa.

Actualmente se utiliza la herramienta de análisis digital de imagen, este método permite medir y analizar el color de las superficies de los alimentos. El espacio de color RGB es el más usado en cámaras digitales, en el cual cada sensor captura la intensidad de la luz reflejada en los componentes rojo (R=red), verde (G=green) y azul (B=blue) (León et al., 2006).

En 1905, Munsell identificó tres atributos básicos del color: tono, valor y croma. Tono es la cualidad por la cual se distingue una familia de otra, de colores cromáticos. Valor es la luminosidad del color, con el valor se distinguen los colores claros de los oscuros. Croma es la fuerza o intensidad del color (von Atzingen y Machado Pinto, 2005).

Por lo general, el color de los alimentos se mide en el espacio de color $L^* a^* b^*$, o CIELab. CIELab, es un estándar internacional para mediciones de color, adoptado por la Comisión Internacional de Ingeniería (CIE) en 1976. En este sistema los valores de luminosidad L^* van de cero (negro) a 100 (blanco), el componente a^* indica el ángulo hue (tono) en una escala de verde (valores negativos) a rojo (valores positivos) y el componente b^* indica el ángulo hue (tono) en una escala de azul (valores negativos) a amarillo (valores positivos). Por lo que utilizando fórmulas estándar los valores RGB de las cámaras digitales se transforman en valores CIE $L^* a^* b^*$, este procedimiento puede realizarse mediante el uso de versiones de software editor de imágenes (Delmoro et al., 2010).

Para el análisis de imagen se determinó el lugar y se mantuvo constante para la captura de imágenes, se colocó un fondo blanco y se utilizó una cámara digital Panasonic Lumix DMC-FH2, las fotografías fueron tomadas a 30 cm de distancia, en modo fotografía automático, flash apagado y equilibrio de blanco automático. Las fotografías se analizaron utilizando el programa Image J figura 22, el software carga la imagen, se selecciona y delimita la zona de la imagen que se va a analizar; mediante la herramienta de análisis se obtuvo un histograma con los valores en el espacio RGB, los valores fueron analizados con el software NIX para convertirlos de RGB a $L^* a^* b^*$ y obtener los valores de croma y el ángulo Hue (ecuación 1 y 2 respectivamente). Con los valores $L^* a^* b^*$ el software proporciona una

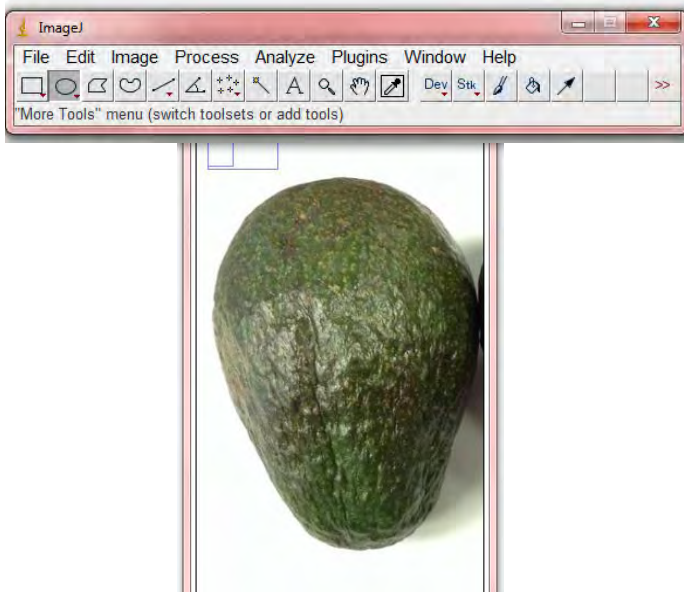


imagen con el color correspondiente. Al comparar dos imágenes el software presenta un valor de Delta E 2000 que mide la diferencia entre dos colores, en este caso señala si existe o no diferencia entre el color del fruto con recubrimiento y el del fruto sin recubrimiento.

Ecuación 2. $C^*=(a^2+b^2)^{1/2}$

Ecuación 3. $h= \arctan (b^*/a^*)$

A)



B)

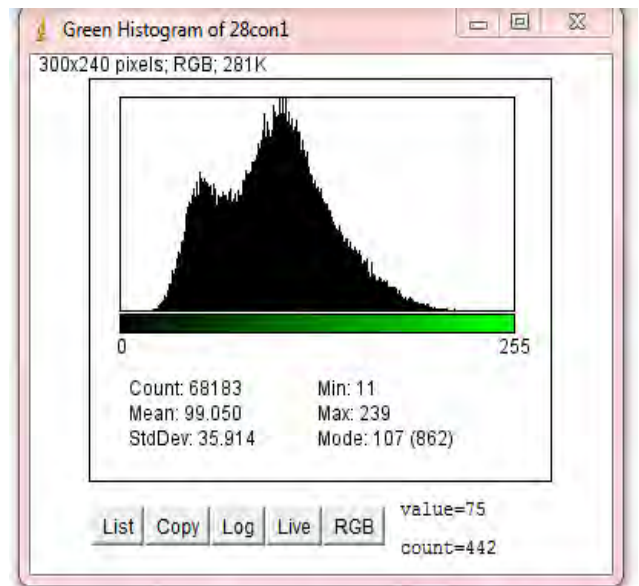


Figura 22. A) Análisis de imagen en Image J , B) Histograma con valores RGB



2.2.5.2 Químicas

2.2.5.2.1 Contenido de aceite (método Soxhlet AOAC)

Se utilizó el método Soxhlet cuyo fundamento es una extracción semicontinua con disolvente, donde una cantidad de disolvente rodea la muestra y se calienta a ebullición, una vez que dentro del Soxhlet figura 23 el líquido condensado llega a cierto nivel es sifoneado de regreso al matraz de ebullición, la grasa se mide por pérdida de peso de la muestra o por cantidad de muestra removida (Nielsen, 1998).

Se pesaron 5 gramos de muestra homogeneizada en un cartucho de extracción, se tapó con algodón, y se colocó el cartucho en el extractor. Se conectó el matraz previamente puesto a peso constante al extractor, el cual en la parte superior está conectado al refrigerante. Se agregó una carga de disolvente (hexano) y utilizando una parrilla, se calentó el matraz a ebullición suave. La extracción duró 6 horas.

Una vez extraída toda la grasa, se retiró el cartucho con la muestra desengrasada y el matraz se colocó en la estufa a 100°C para eliminar los residuos de disolvente. Posteriormente el matraz se enfrió en un desecador y se pesó en una balanza analítica para calcular el porcentaje de grasa con la ecuación 4.

Ecuación 4.

$$\% \text{ grasa} = \frac{m_2 - m_1}{M} \times 100$$

Dónde: m_1 = masa en g del matraz vacío

m_2 = masa en g del matraz con grasa tras el secado

M = peso de la muestra en g





Figura 23. Equipo de extracción Soxhlet

2.2.2.5.2 Contenido de humedad (Termobalanza)

Para la determinación de la humedad se utilizó el método de secado por termobalanza, este método se basa en evaporar de manera continua la humedad de la muestra y el registro continuo de la pérdida de peso, hasta que la muestra se estabilice a peso constante (Nollet, 1996), para esto se ocupó un instrumento de humedad, la termobalanza Precisa XM 50, figura 24, la cual emplea una balanza de torsión sensible para pasar la muestra y una lámpara infrarroja para secarla.

Se pesaron 5 g de muestra que fueron colocadas en una charola de aluminio formando una capa lo más homogénea posible. Se colocó la charola con muestra en la termobalanza y se bajó la tapa del equipo para comenzar la evaluación. Se registró el porcentaje de humedad después de 20 minutos cuando el equipo ya no presentaba variación en la lectura (Kirk et al., 2011).



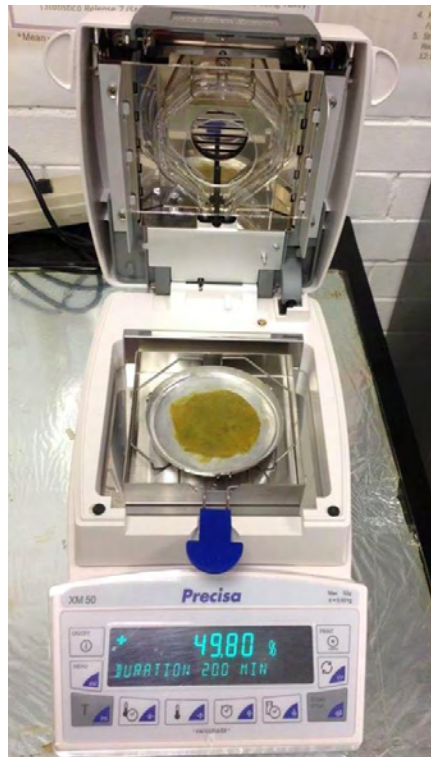


Figura 24. Determinación de humedad por termobalanza.

2.2.2.5.3 Actividad de agua a_w (AquaLab modelo CX-2)

La actividad del agua es una medida de la energía del agua. Indica el agua libre en una muestra, “libre” haciendo referencia a las moléculas de agua en un producto que no están unidas química o físicamente.

Se utilizó aproximadamente 5 gramos de muestra previamente homogenizada la cual fue colocada de manera uniforme hasta cubrir la mitad del contenedor que utiliza el equipo AquaLab modelo CX-2 figura 25. Se introdujo el contenedor con la muestra en el equipo y se giró la perilla a la posición de "lectura" para iniciar la evaluación. El ciclo de lectura duró 15 minutos y al finalizar la prueba se registraron los datos directamente de la pantalla digital del AquaLab.





Figura 25. Determinación de a_w en el equipo Aqualab Model CX-2.

2.2.6 Análisis estadístico

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado y los datos obtenidos se analizaron mediante una prueba de t de student con un nivel de significancia de 0.05 para identificar si existen o no diferencias significativas entre los tratamientos en cada evaluación.

El análisis permite contrastar la hipótesis nula que indica que las medias son iguales frente a la hipótesis alterna que señala que al menos una de las poblaciones es diferente a las demás. Esta prueba es importante en el análisis de resultados experimentales en los que se busca comparar los resultados de 'tratamientos' con respecto a la variable dependiente o de interés.

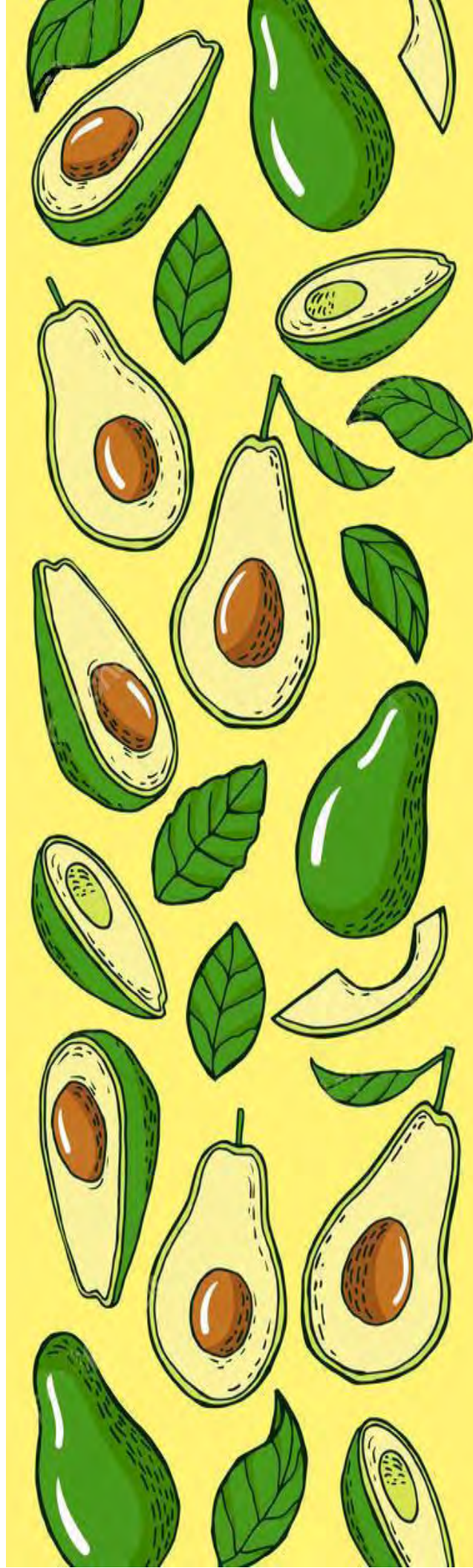
Es importante identificar los valores de p, $p < 0.05$ indica que las diferencias entre algunas de las medias son estadísticamente significativas (se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna), en cambio $p > 0.05$ indican que las diferencias entre las medias no son estadísticamente significativas (se acepta la hipótesis nula).



CAPÍTULO III

RESULTADOS Y

DISCUSIÓN



3.1 Aislamiento de identificación *Colletotrichum gloeosporioides*

3.1.1 Identificación del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*

La caracterización morfológica de *Colletotrichum gloeosporioides* se evaluó a los 10 días de incubación alcanzando la colonia un diámetro de 85mm cubriendo por completo la caja con medio PDA con una forma circular, en la cual se observó la formación de anillos concéntricos a partir del quinto día de incubación a 28°C.

El micelio algodonoso se observó en el segundo día de crecimiento, presentando una coloración blanca que al aglomerarse formaba una masa micelial gris oscura al quinto día y en el séptimo día de incubación el color salmón fue visible en el desarrollo del hongo figura 26. Estas observaciones coinciden con lo mencionado por Rodríguez-López et al (2009) en su descripción sobre la etiología y epidemiología de la antracnosis del aguacate.

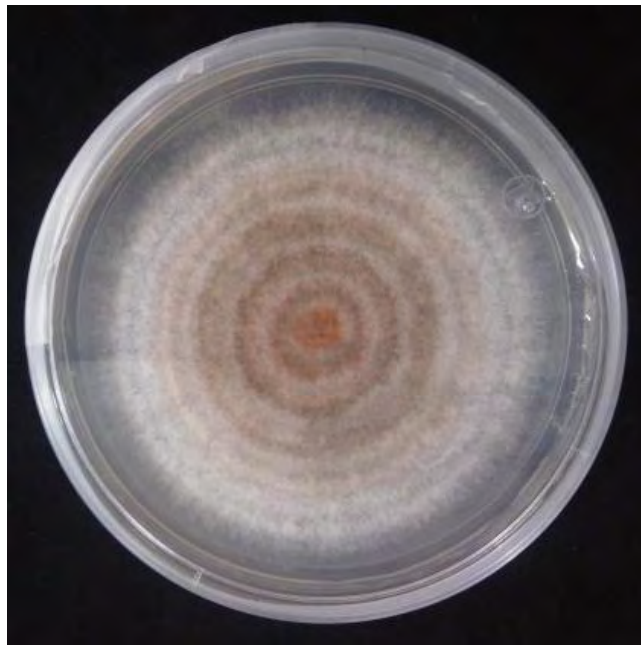


Figura 26. Crecimiento de *C. gloeosporioides* en medio PDA.



Utilizando el microscopio óptico OLYMPUS y la tinción con azul de algodón, se observaron las características de la micromorfología de la colonia, entre ellos la presencia de conidios hialinos de forma cilíndrica y obtusos en el ápice ($6-5 \times 3-4 \mu\text{m}$) y la presencia de setas oscuras propias de la especie *C. gloeosporioides* figura 27.

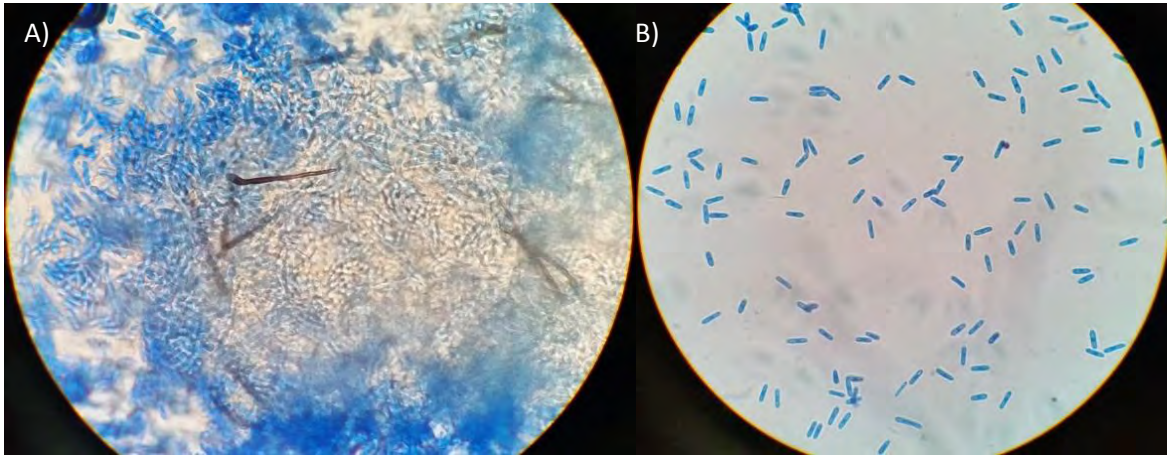


Figura 27. A. Conidios y setas de *C. gloeosporioides*; B. Conidios unicelulares hialinos de *C. gloeosporioides*.

3.2 Evaluación antifúngica del quitosán mejorado y los aceites esenciales In Vitro

3.2.1 Variables evaluadas In Vitro

3.2.1.1 Cinética de crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* e identificación de la actividad antifúngica del quitosán mejorado y los aceites esenciales

Las figuras 29-32 muestran el crecimiento micelial del hongo durante 8 días de incubación a 28°C en fotoperiodo. El hongo se desarrolló únicamente en medio PDA donde presentó un crecimiento de 18.82 mm por día, figura 28 hasta alcanzar un tamaño final de 84.25 mm cubriendo completamente la caja Petri que lo contenía.



Por otro lado todos los tratamientos con quitosán mejorado al 1% y quitosán con aceites esenciales (tomillo, canela clavo y mezcla) no presentaron crecimiento del hongo en ninguna caja Petri, estos tratamientos inhibieron totalmente el desarrollo del hongo, con lo cual se puede decir que existe una gran diferencia al adicionar quitosán modificado y aceites esenciales al medio ya que estos proporcionan un efecto antifúngico.

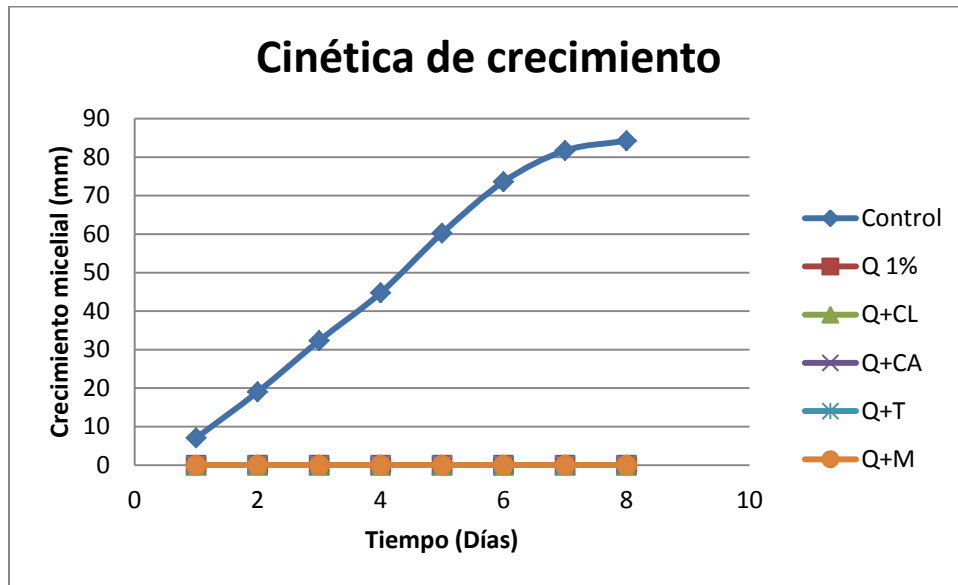


Figura 28. Cinética de crecimiento de *C. gloeosporioides* en medio PDA durante 8 días de incubación a 28°C (Q 1%: Quitosán modificado al 1%, Q+CL: Quitosán y aceite esencial de clavo a 200, 300, 400 y 500 ppm, Q+CA: Quitosán y aceite esencial de canela a 200, 300, 400 y 500 ppm, Q+T: Quitosán y aceite esencial de tomillo a 200, 300, 400 y 500 ppm, Q+M: Quitosán y mezcla de aceites esenciales a 200, 300, 400 y 500 ppm).



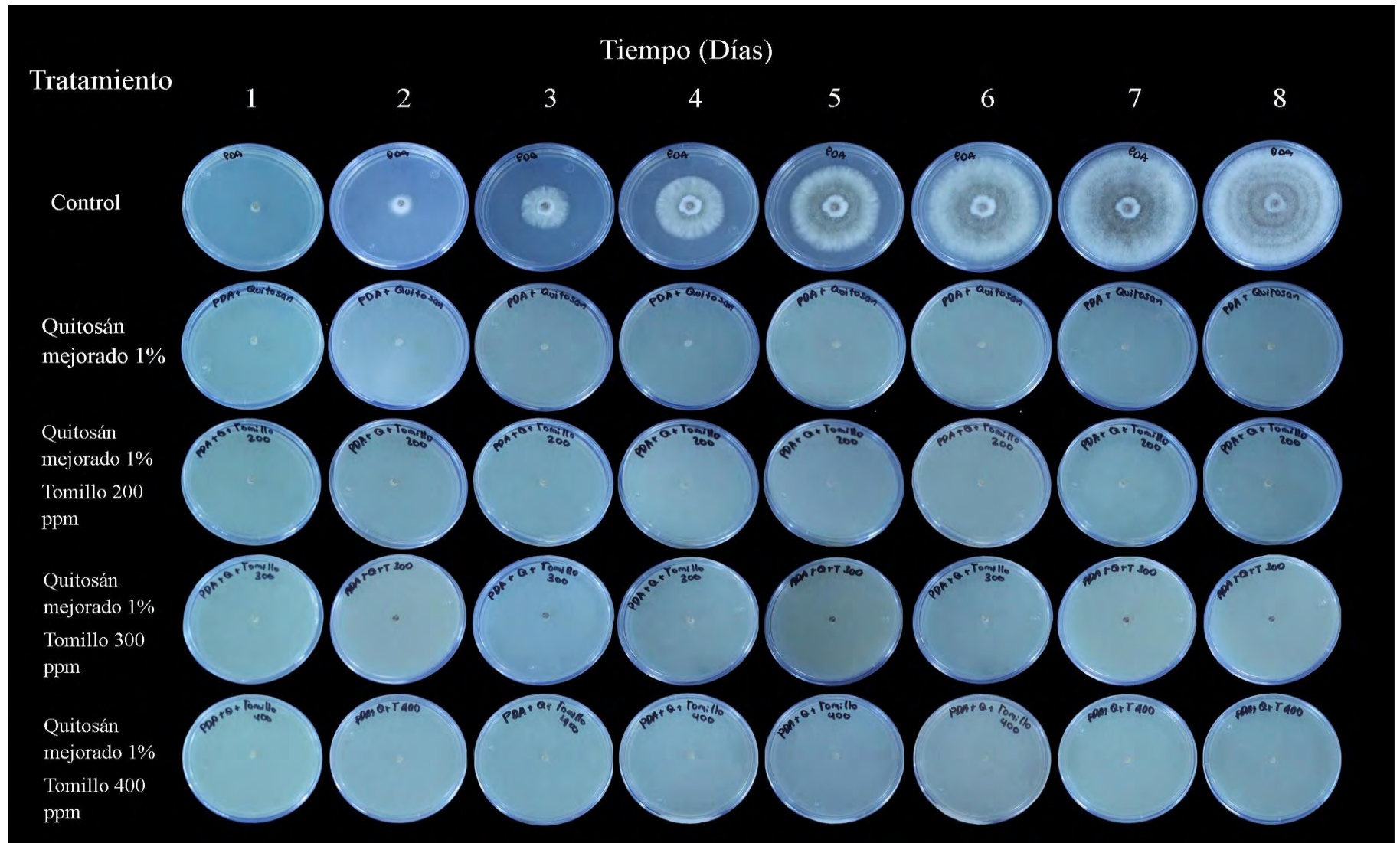


Figura 29. Crecimiento del hongo *C. gloeosporioides* aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en PDA, quitosán mejorado 1% y tratamientos de quitosán con aceite esencial de tomillo a diferentes concentraciones.



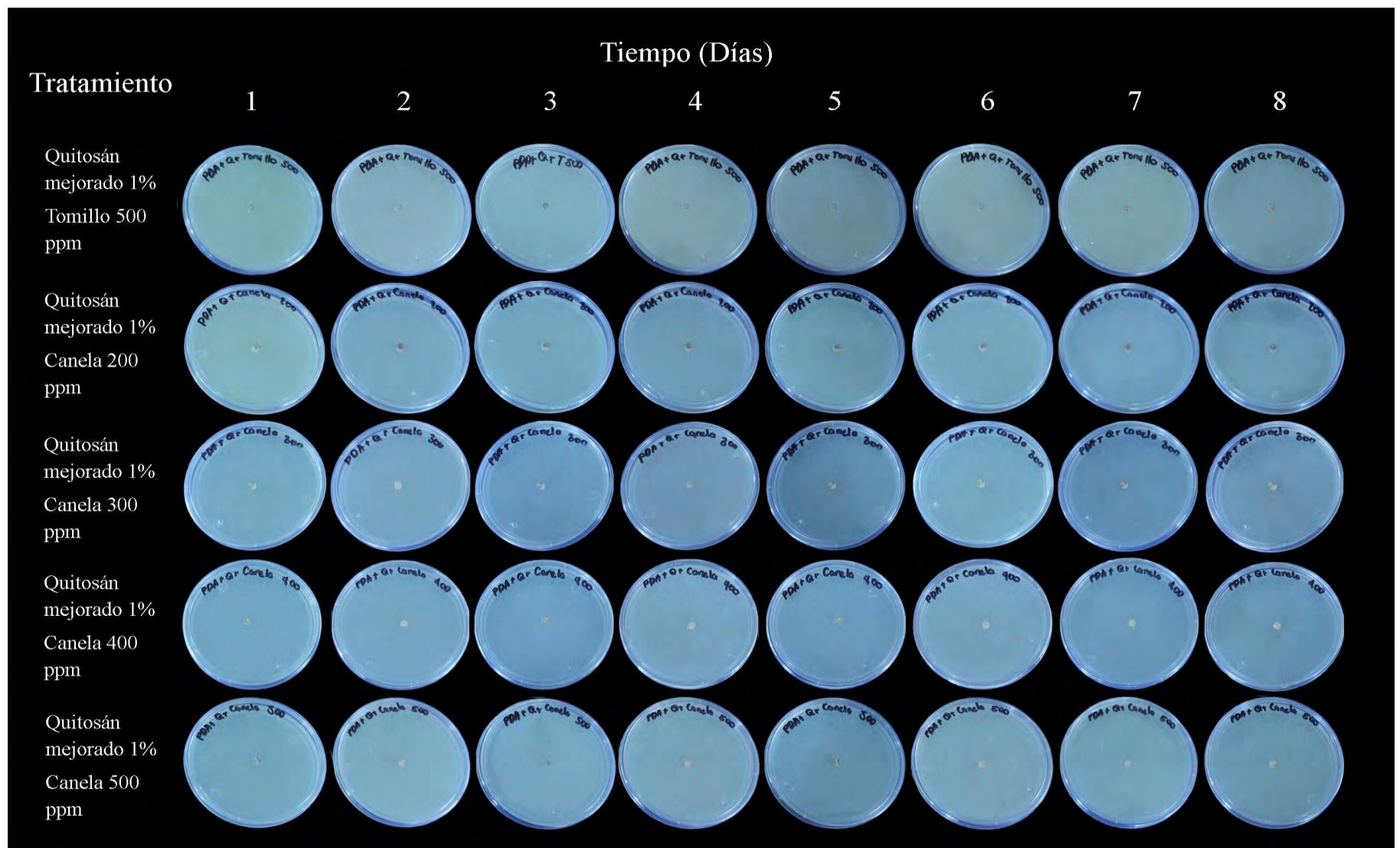


Figura 30. Crecimiento del hongo *C. gloeosporioides* aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con aceite esencial de tomillo y canela a diferentes concentraciones.



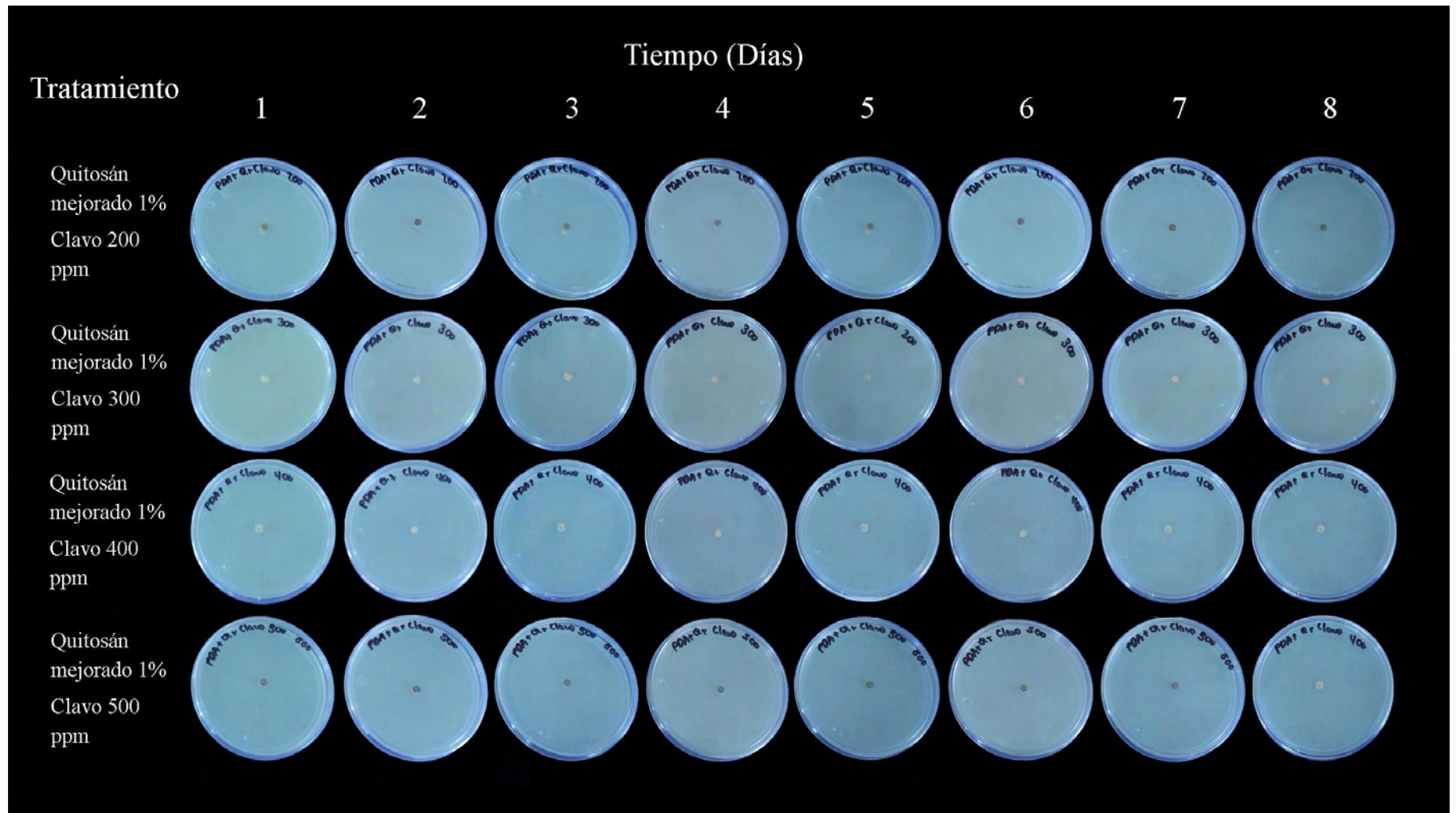


Figura 31. Crecimiento del hongo *C. gloeosporioides* aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con aceite esencial de clavo a diferentes concentraciones.



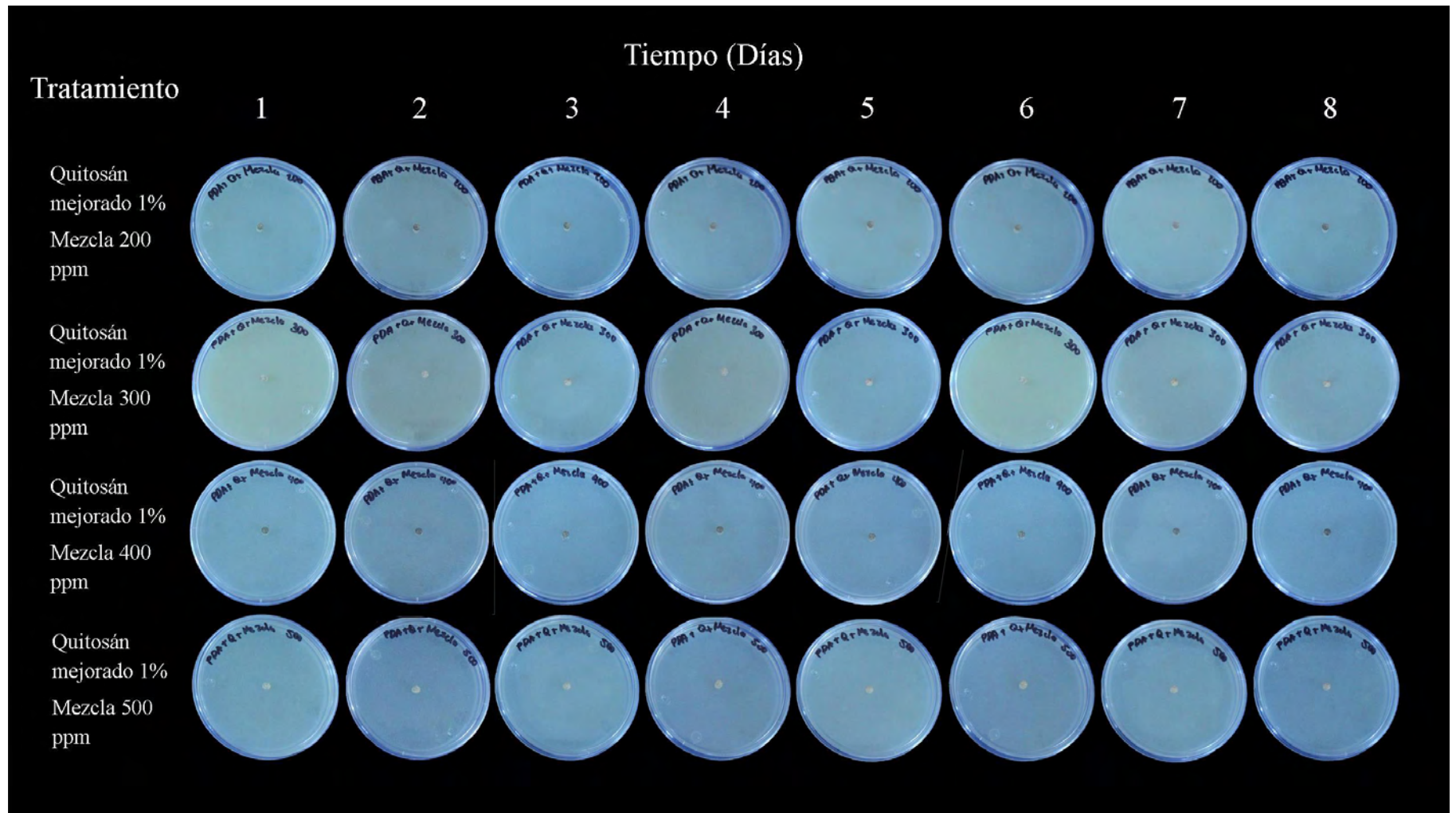


Figura 32. Crecimiento del hongo *C. gloeosporioides* aislado de aguacate Hass, durante 8 días a 28°C en fotoperiodo en tratamientos de quitosán con la mezcla de aceites esenciales (tomillo, canela y clavo) a diferentes concentraciones.



3.3 Identificación de la actividad fungicida y/o fungistática del tratamiento con quitosán mejorado al 1% y aceites esenciales

Para comprobar la actividad fungicida o fungistática del quitosán mejorado, se transfirieron los explantes discoidales de los tratamientos de quitosán mejorado al 1% y quitosán con aceites esenciales (tomillo, canela clavo y mezcla) que estuvieron en la prueba de crecimiento micelial a cajas de Petri con PDA, no observando ningún desarrollo de las colonias del hongo, por lo que se determinó que todos los tratamientos presentaron una actividad fungicida, donde el quitosán modificado fue el componente que influyó totalmente en el crecimiento del hongo.

Estos resultados de pruebas *In Vitro* indican que dichos tratamientos pueden ser utilizados para la formulación de recubrimientos que prolonguen la vida útil del aguacate.

Yuan, Chen, & Li, (2016) mencionan que el quitosán en forma de recubrimiento o en solución es efectivo contra varios hongos patógenos postcosecha como *Colletotrichum gloeosporioides*, esto fue en este trabajo, mostrando la inhibición total del hongo en la pruebas *In Vitro* con quitosán modificado y quitosán modificado con aceites esenciales.

Los resultados obtenidos posiblemente se debieron al potencial del quitosán que se atribuye de poseer carga policationica, mientras que las paredes de los hongos poseen carga negativa desactivando la germinación de las esporas de *C. gloeosporioides* (Everett et al., 2005; Landero-Valenzuela et al., 2016).

Bautista-Baños et al., (2003) encontraron que el crecimiento micelial de *C. gloeosporioides* en pruebas *In Vitro*, fue inhibido completamente por concentraciones de quitosán de 2.5% y 3.0% durante el período de incubación de 7 días. En otro estudio realizado por Bill et al., (2014) se realizaron pruebas *In Vitro* de diferentes recubrimientos entre ellos, quitosán (1% w/v), goma arábica (10%, w/v) y Aloe vera (2%, w/v) sometidos a un período de incubación de 7 días a 25°C para identificar la actividad fungicida o fungistática de los compuestos, estos recubrimientos presentaron un crecimiento micelial radial de 15.2, 58 y 30.4 mm respectivamente revelando un efecto fungistático de los recubrimientos sobre *C. gloeosporioides*.



|

En este estudio el quitosán modificado presenta una buena alternativa de uso como recubrimiento debido a su actividad fungicida a una concentración baja (1%).

3.4 Evaluación del quitosán mejorado al 1% y los aceites esenciales en pruebas In Vivo

La figura 34 muestra el avance de la enfermedad antracnosis en el mesocarpio del aguacate. El fruto con recubrimiento de quitosán modificado al 1% no mostró lesiones causadas por el hongo *C. gloeosporioides* hasta el día 14 de almacenamiento, donde se pueden observar pequeñas manchas oscuras en el mesocarpio del aguacate.

Por otro lado los frutos sin recubrimiento mostraron presencia del hongo al séptimo día de almacenamiento, identificándolo por las manchas presentes en el mesocarpio del aguacate, para el día 11 se notó un avance en la enfermedad el cual cambio de color y provocó el debilitamiento del mesocarpio, en el día 14 de almacenamiento el fruto presentó un gran deterioro por la infección de *C. gloeosporioides* en el cual fue posible observar la presencia de micelio blanco algodonoso y manchas negras en todo el fruto y debido a esto no fue posible desarrollar las pruebas de dureza, contenido de aceite, humedad y actividad de agua.

Con este análisis se observó el efecto que tiene el quitosán modificado (1%) ya que la aplicación del recubrimiento ayudó a retrasar la aparición y el desarrollo del hongo *C. gloeosporioides*, duplicando el tiempo de vida útil de los frutos con recubrimiento.

Salvador et al., (1999) utilizaron recubrimientos de quitosán en aguacates y lograron extender la vida de almacenamiento del aguacate a y a 6 días a 27-29 °C. En el presente estudio con la aplicación de quitosán mejorado al 1% se conservó el aguacate en buenas condiciones después de 13 días de almacenamiento a temperatura ambiente (25° ±2°C) por lo que se puede decir que la aplicación del recubrimiento mejora el tiempo de vida útil frutos y conserva parámetros de calidad.



|

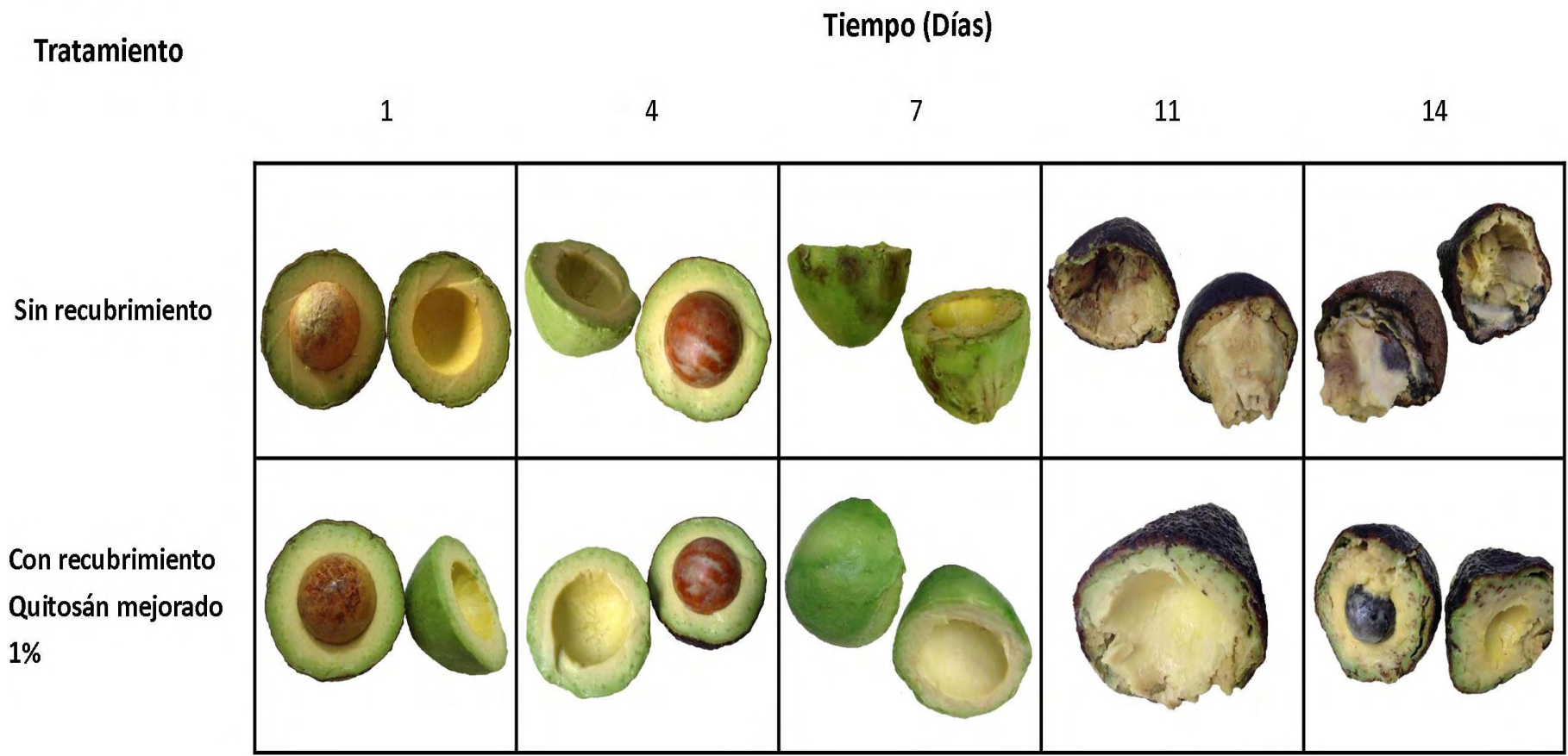


Figura 34. Efecto del tratamiento de quitósán mejorado al 1% sobre la pulpa de aguacate variedad Hass.



3.5 Evaluación de pruebas físicas y químicas

3.5.1 Físicas

3.5.1.1 Pérdida fisiológica de peso

Los datos del análisis estadístico mostraron que no hay diferencia significativa entre cada tratamiento en la pérdida fisiológica de peso ($p > 0.05$) lo que quiere decir que la pérdida de peso no depende del tipo de tratamiento aplicado.

La pérdida de peso presentó un comportamiento lineal que aumentó con respecto al tiempo, en la figura 35 se observa el porcentaje de pérdida peso el cual fue mayor en todos los días para los aguacates sin recubrimiento y en general se presentó una mayor pérdida de masa a partir del doceavo día de almacenamiento; al finalizar el estudio los frutos sin recubrimiento presentaron un 28.2% de pérdida de masa y los frutos recubiertos un 20.3%.

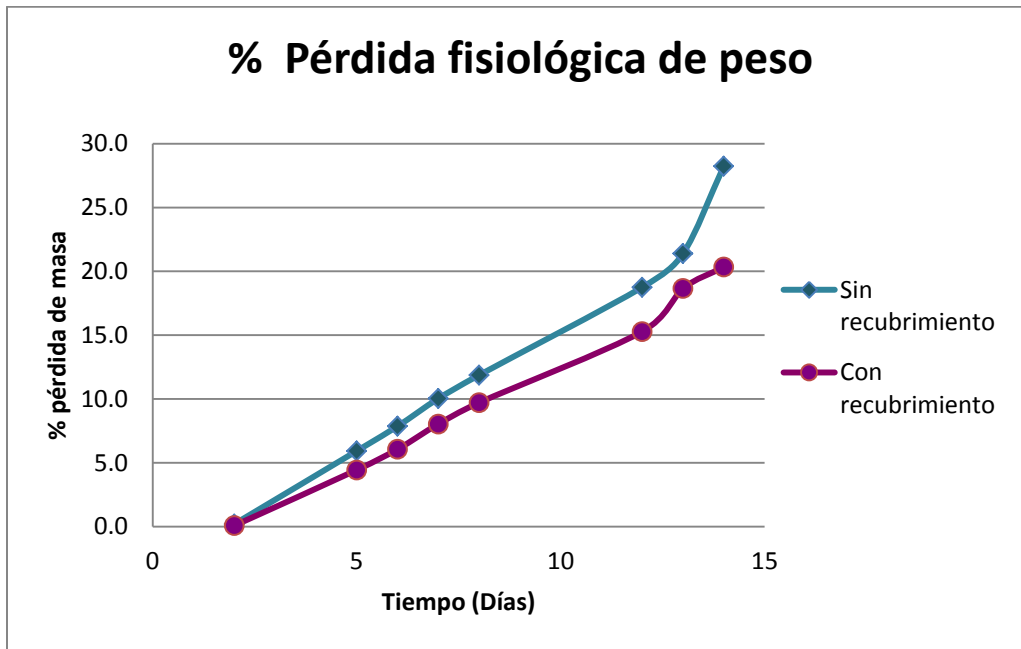


Figura 35. Porcentaje de pérdida de masa de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.



|

Es importante mencionar que los frutos sin recubrimiento siguieron disminuyendo su peso pero no fueron tomados en cuenta para las demás pruebas físicas y químicas a partir del día 11 de almacenamiento, debido a que presentaron un alto grado de putrefacción en el mesocarpio a partir del séptimo día de evaluación. Por lo que la aplicación del recubrimiento contribuyó a conservar el peso durante el almacenamiento además de prolongar la vida útil de los frutos.

Espinosa-Cruz et al., (2014) sugieren que la pérdida de peso en postcosecha se atribuye a la transpiración causada por un déficit de presión de vapor del fruto con relación a su entorno. El déficit de presión se ve favorecido por la humedad relativa baja y por la temperatura lo que sugiere que estos factores son los que se vieron involucrados en la pérdida de peso de los frutos no tratado y los recubiertos.

3.5.1.2 Dureza

La firmeza o dureza del aguacate es una de los parámetros de calidad más utilizados en el mercado y la industria, ya que se utiliza para evaluar el grado de madurez del fruto necesario para la venta y el consumo (Landahl et al., 2009).

La figura 36 muestra el efecto del tratamiento sobre la firmeza del aguacate, la dureza de los aguacates disminuyó con el tiempo tanto en los frutos sin recubrimiento como en los frutos recubiertos con quitosán mejorado al 1%.

En el análisis estadístico no se encontró diferencia significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$), sin embargo, se tuvo una mayor pérdida de firmeza en los frutos sin recubrimiento a partir del séptimo día cuando se encontraba completamente maduro y presentaba daños en el mesocarpio ocasionados por el hongo, que provocó el ablandamiento y pudrición del mesocarpio, factor que también contribuyó al debilitamiento de la superficie del fruto con una mayor diferencia de firmeza el día 11 de almacenamiento, donde el fruto recubierto obtuvo un valor de dureza de 911 Pa mientras el fruto sin recubrimiento alcanzó los 886 Pa día.



|

Los frutos recubiertos con quitosán mejorado al 1% presentaron menores distancias de penetración que se traducen en un menor descenso de la dureza conforme al tiempo y una mayor retención de la firmeza.

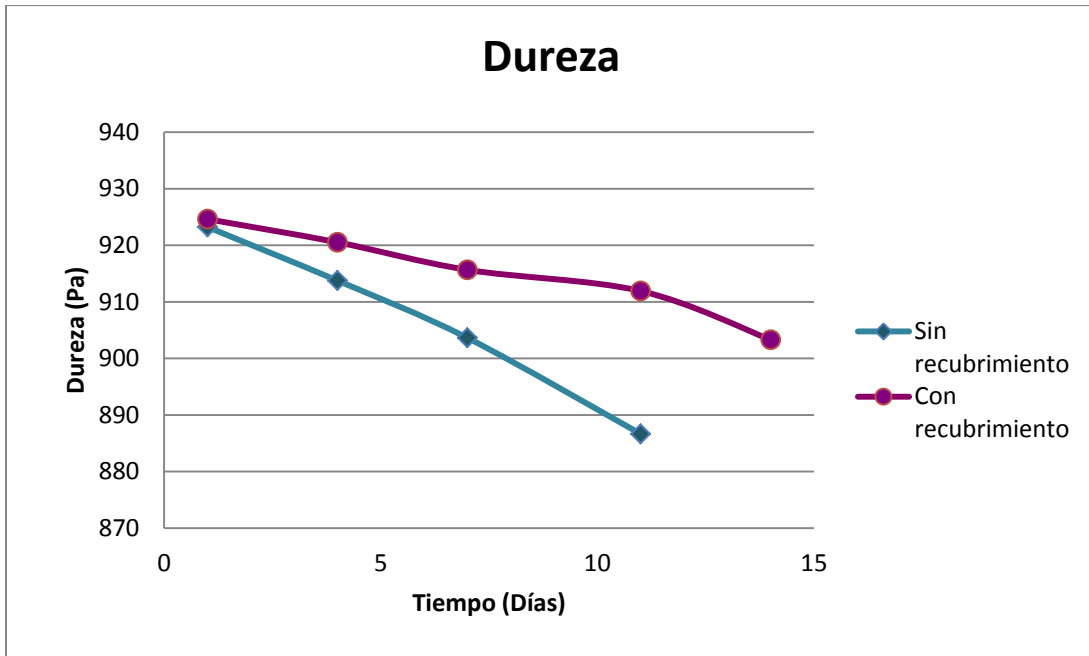


Figura 36. Dureza de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

La figura 37 muestra el porcentaje de firmeza registrada durante la evaluación, en el cual se puede observar que los frutos sin recubrimiento presentaron mayor pérdida de firmeza alcanzando un 4% de pérdida el día 11 de almacenamiento; por otro lado los frutos recubiertos perdieron hasta el 2.30% de firmeza, casi la mitad de lo obtenido por los frutos sin recubrimiento.



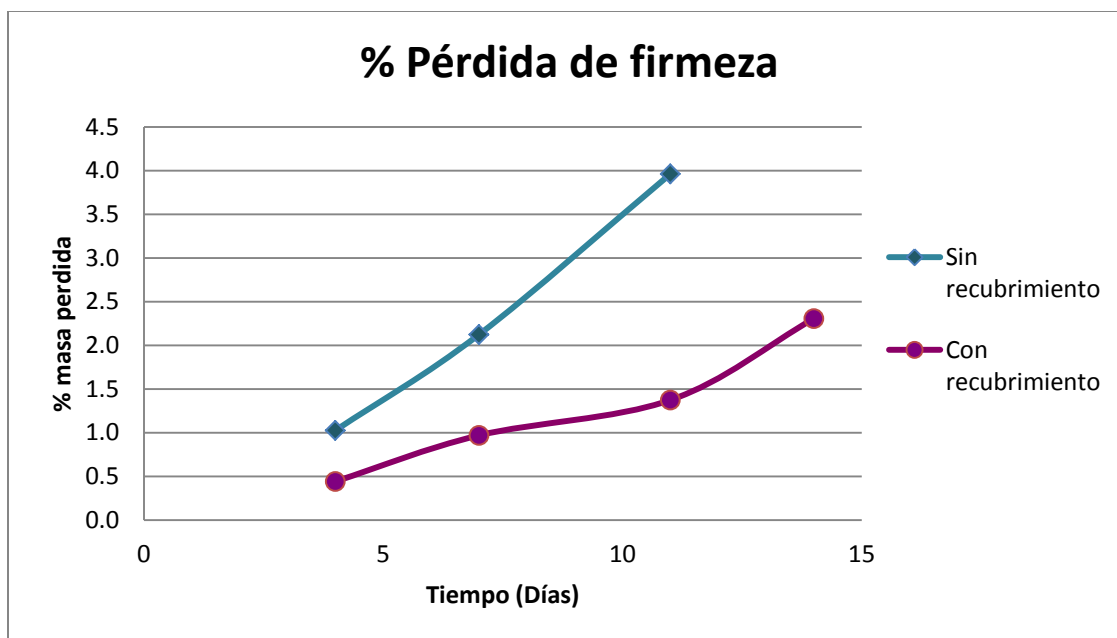


Figura 37. Porcentaje de pérdida de firmeza de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

Se ha observado que la pérdida de firmeza del aguacate se debe al debilitamiento de la estructura de la pared celular, la pérdida de la integridad de la membrana, la hidrólisis de la celulosa y la hemicelulosa y la despolimerización de la pectina y el almidón (Tsfay y Magwaza, 2017).

Por lo que se puede decir que la aplicación del recubrimiento reduce la actividad de las enzimas como poligalacturonasa, pectato liasa, pectina metilesterasa y celulasa, que degradan la composición de las paredes celulares, conservando así la firmeza de los frutos por mayor tiempo (Bill et al., 2014).

3.5.1.3 Color

3.5.1.3.1 Luminosidad

En la figura 38 se observa un descenso en la luminosidad con el tiempo de almacenamiento para ambos grupos, L^* es una medida en el eje claro/oscuro por lo que se dice que los frutos sin recubrimiento perdieron brillo y oscurecieron con mayor velocidad que los frutos recubiertos con quitosán mejorado al



1%.

Estadísticamente existe diferencia significativa ($p < 0.05$) en los valores de L^* por lo que aplicación de recubrimiento brindó mayor luminosidad y conservó por mayor tiempo el brillo en el epicarpio del aguacate, característica que da una mejor aceptación del fruto al conservar un aspecto de calidad por mayor tiempo.

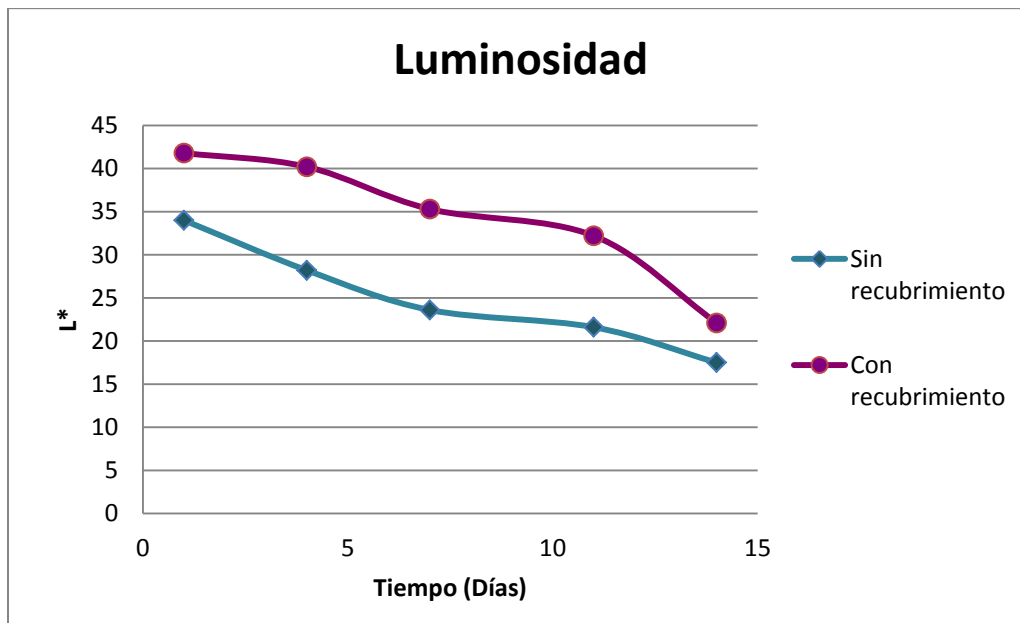


Figura 38. Valores de luminosidad en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

3.5.1.3.2 Valor a^*

Los resultados del parámetro a^* , que señalan los valores que van de verde a rojo indican que los frutos con recubrimiento mantuvieron valores negativos por mayor tiempo, estos valores muestran el espectro verde como el predominante en el exocarpio del aguacate figura 39 los cuales aumentaron lentamente conforme al tiempo hacia tonos rojizos hasta llegar al día 14 donde el fruto había oscurecido mostrando la madurez del aguacate.



|

Los valores de a^* de los frutos sin recubrimiento aumentaron rápidamente alejándose del color verde para tomar colores rojizos, esto se puede observar en el día 7 donde los frutos recubiertos aún se encontraba en el espectro verde y los frutos sin recubrimiento ya presentaban valores positivos señalando la tendencia hacia el color rojo.

Maftoonazad y Ramaswamy, (2005) mencionan que el cambio de color hacia valores de a^* positivo indican un mayor enrojecimiento en el color, el cual es resultado de la maduración.

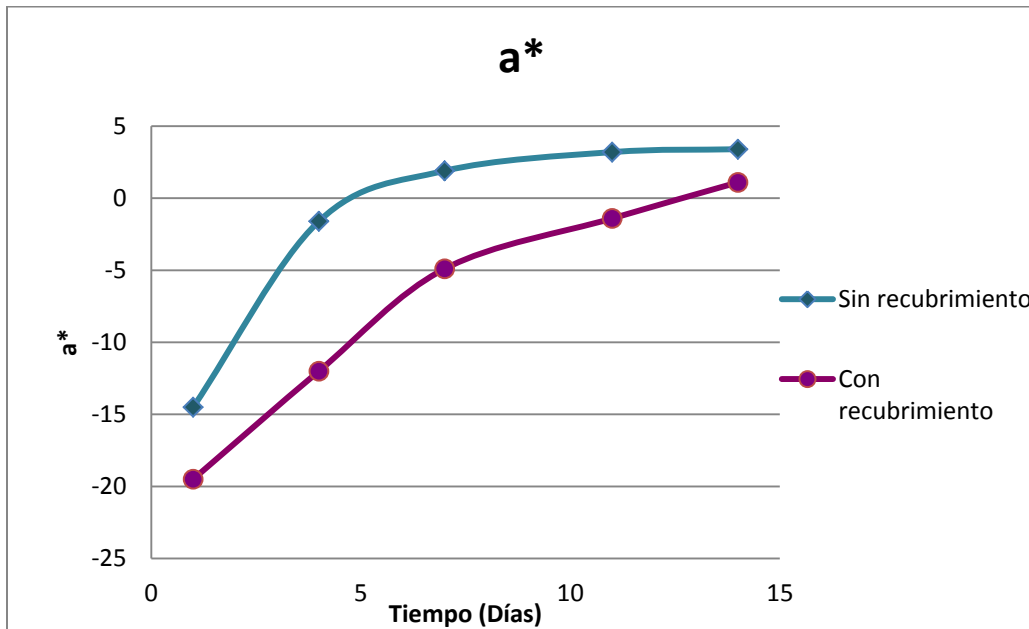


Figura 39. Valores de a^* en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

El tratamiento estadístico mostró una diferencia significativa ($p < 0.05$), los frutos con recubrimiento preservaron el color verde por mayor tiempo, retardando la degradación de la clorofila presente en el epicarpio del aguacate, por otro lado, los frutos sin recubrimiento oscurecieron rápidamente lo que indica una mayor velocidad de maduración.

La influencia del recubrimiento sobre el parámetro a^* es de importancia ya que la aplicación de un recubrimiento que conserve la presencia de color verde en los frutos influye en la decisión del consumidor para la elección del fruto a través del sentido de la vista relacionándolo con el grado de



madurez del aguacate, por lo que se menciona que los frutos recubiertos tiende a preservar por más tiempo su tiempo de vida útil al conservar por mayor tiempo tono verde en el epicarpio.

*3.5.1.3.3 Valor b**

El análisis estadístico indicó que el efecto del recubrimiento presentó una diferencia significativa ($p < 0.05$) sobre el valor de b^* que va del espectro azul al amarillo, tanto para los frutos sin recubrimiento como para los frutos recubiertos con quitosán mejorado 1% lo valores de b^* fueron disminuyendo conforme al tiempo acercándose al croma oscuro.

En la figura 40 se puede observar que al inicio de la evaluación los frutos mostraron valores cercanos al amarillo, sin embargo, a partir del segundo día se presentó un importante descenso del valor b^* de los frutos sin recubrimiento (10.7) respecto al valor de b^* de los frutos recubiertos (20.6), los frutos presentaron el color oscuro propio de la madurez del aguacate en el séptimo día de almacenamiento, esta tendencia se mantuvo hasta llegar a un valor de 5.6 dando tonos azules, lo que indica colores más oscuros en menor tiempo.

Los frutos recubiertos presentaron un mayor descenso en el valor b^* hasta el séptimo día de almacenamiento, lo que puede atribuirse a la aplicación del recubrimiento que mantuvo por más tiempo los valores cercanos al amarillo y retardó el cambio hacia el color púrpura-negro de un aguacate maduro, por lo que se dice que los frutos sin recubrimiento presentaron un mayor avance en el proceso de maduración en menor tiempo que los frutos recubiertos.



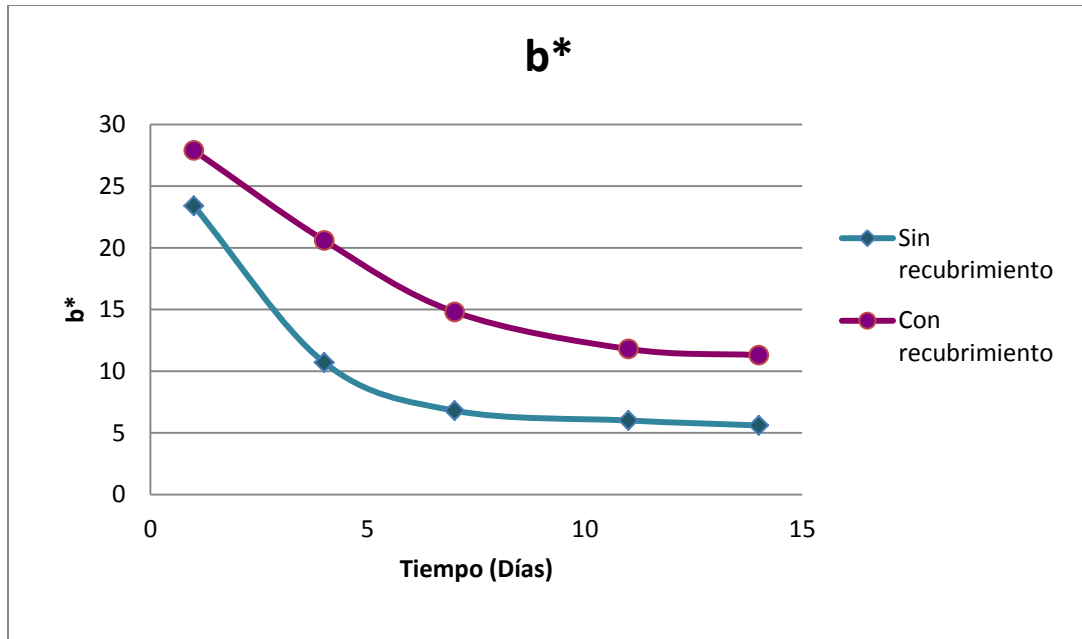


Figura 40. Valores de b^* en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

3.5.1.3.4 Croma

El análisis estadístico de los valores de croma indican que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los frutos sin recubrimiento y los frutos con recubrimiento de quitosán mejorado al 1%.

Los frutos sin recubrimiento tuvieron valores bajos de croma, de 27.5 descendió hasta 6.6, es decir, presentaron colores pálidos en su proceso de maduración. Los frutos recubiertos obtuvieron valores mayores de croma, de 34.1 a 11.4, figura 41 dando colores más fuertes y vivos; esto se puede atribuir al efecto que tuvo la película al conservar y realzar el color del aguacate durante todo su proceso de maduración.



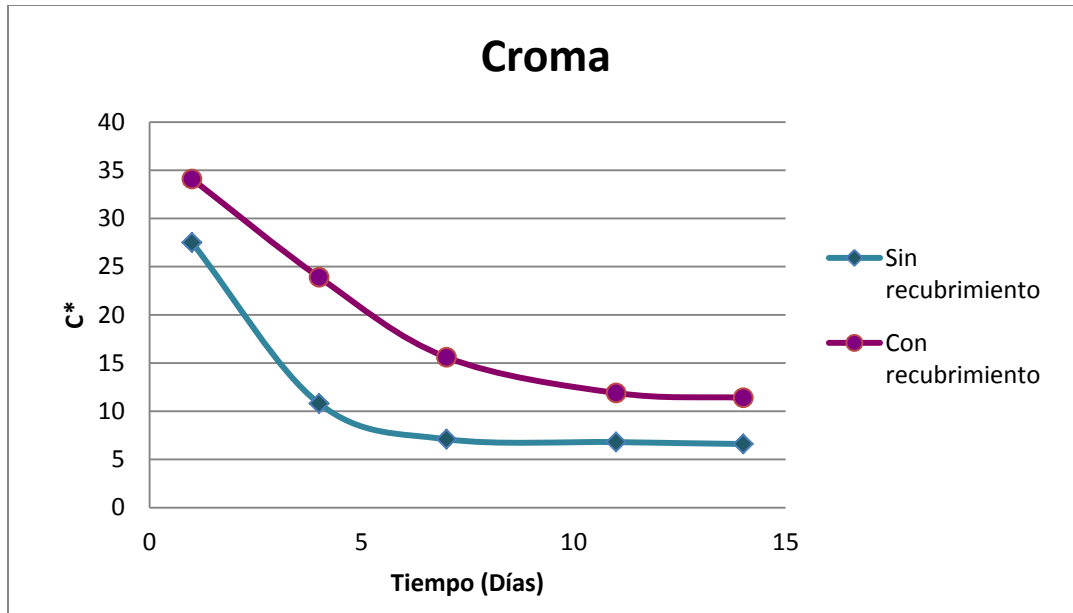


Figura 41. Valores de croma en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

3.5.1.3.5 Ángulo hue (h)

En el análisis estadístico se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores obtenidos de ángulo de hue (h). Los valores son mayores para los frutos recubiertos iniciando con 124° y conforme avanzó el tiempo los valores fueron descendiendo hasta llegar a 85° figura 42, lo que indica que el epicarpio al iniciar la evaluación se encontraba espectro verde y disminuyeron hasta llegar al espectro amarillo. Estos datos coinciden con lo mencionado por Bill et al., (2014), donde los frutos recubiertos presentaron un retraso en la maduración con cambios más lentos en los valores de h.

Por otro lado los frutos sin recubrimiento pasaron del espectro verde con un valor inicial de 124° hasta tomar valores del espectro amarillo-rojo (ángulo de 58.3°) en menor tiempo que los frutos recubiertos, teniendo así una maduración más rápida.

La aplicación de quitosán mejorado 1% redujo la velocidad de cambio de color, por lo que el uso del recubrimiento muestra un efecto positivo sobre el retraso de la maduración.



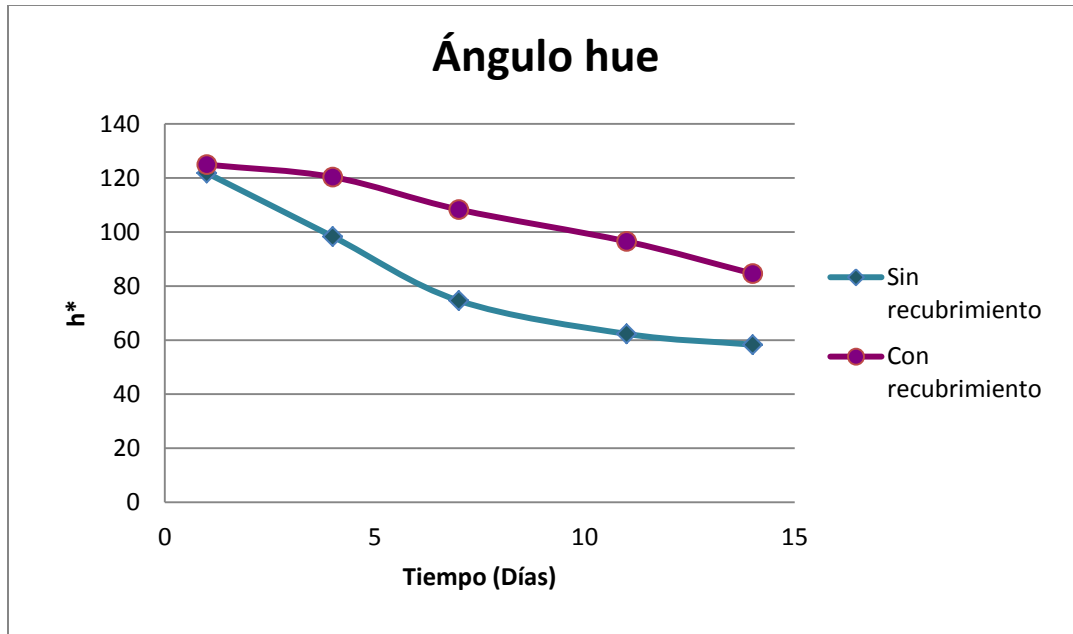


Figura 42. Valores de ángulo hue ($^{\circ}$) en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1%.

Con los valores L^* a^* b^* , las fotografías tomadas y las imágenes de color obtenidas con el software NIX, se elaboró una escala del cambio de color conforme al tiempo figura 43, donde se observó que los frutos con recubrimiento conservaron por mayor tiempo la presencia de tonos color verde incluso después de once días de almacenamiento a temperatura ambiente, para el día 14 los frutos mostraron un cambio de color a un tono más oscuro en el exocarpio que señala la madurez del aguacate.

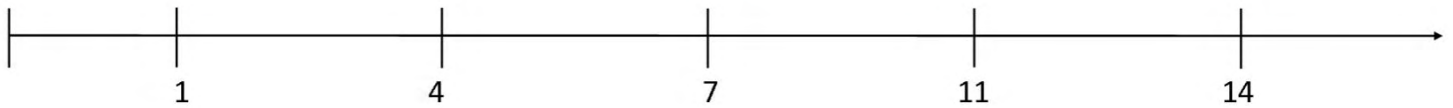
Los frutos sin recubrimiento conservaron tonos verdes hasta el cuarto día, sin embargo para el séptimo día de almacenamiento el fruto mostró un cambio de color hacia tonos más oscuros con valores alejados del tono verde desviándose a tonos cercanos al negro. En el día 14 se pudo observar las lesiones provocadas por el hongo en el exocarpio del aguacate, manchas secas circulares hundidas de color café y presencia de micelio blanco, estos frutos sin recubrimiento presentaron un grave daño por lo que no pudieron ser utilizados para realizar todas las pruebas físicas y químicas propuestas.

Los menores cambios de color en la fruta recubierta pueden estar relacionados con el efecto del recubrimiento en la creación de atmósferas modificadas dentro de la fruta. (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005).



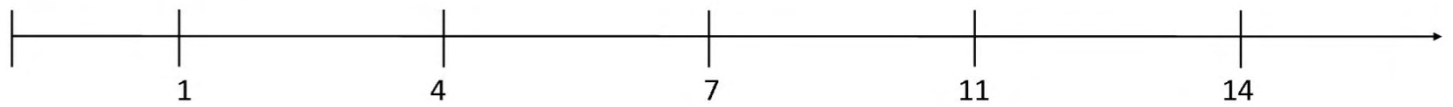
I

A)



Tiempo (Días)

B)



Tiempo (Días)

Figura 43. Cambio de color en los frutos: A) frutos sin recubrimiento. B) frutos con recubrimiento quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.



3.5.1.3.6 Delta E

La diferencia de color total ΔE , es un parámetro colorimétrico que se utiliza para caracterizar la variación en la percepción del color (Maftoonazad y Ramaswamy, 2005). En este estudio los valores de ΔE muestran la diferencia que existe entre los colores del fruto con recubrimiento y el fruto sin recubrimiento durante los 14 días de almacenamiento, valores bajos entre 2 y 3.5 son valores ya perceptibles como colores distintos.

En la figura 44 se observa que al cuarto día se presentó una mayor diferencia en los tonos, con un valor de ΔE de 14.3. Lo cual indica que el recubrimiento retrasó el proceso de maduración, ya que los frutos con recubrimiento conservaron el tono verde por mayor tiempo, mientras los frutos sin recubrimiento tomaron colores oscuros (negro) propios de un fruto maduro. El día 14 de almacenamiento presentó menos diferencia, ya que ambos frutos se encontraban en un estado avanzado de madurez observando un color negro-púrpura característico de un aguacate maduro.

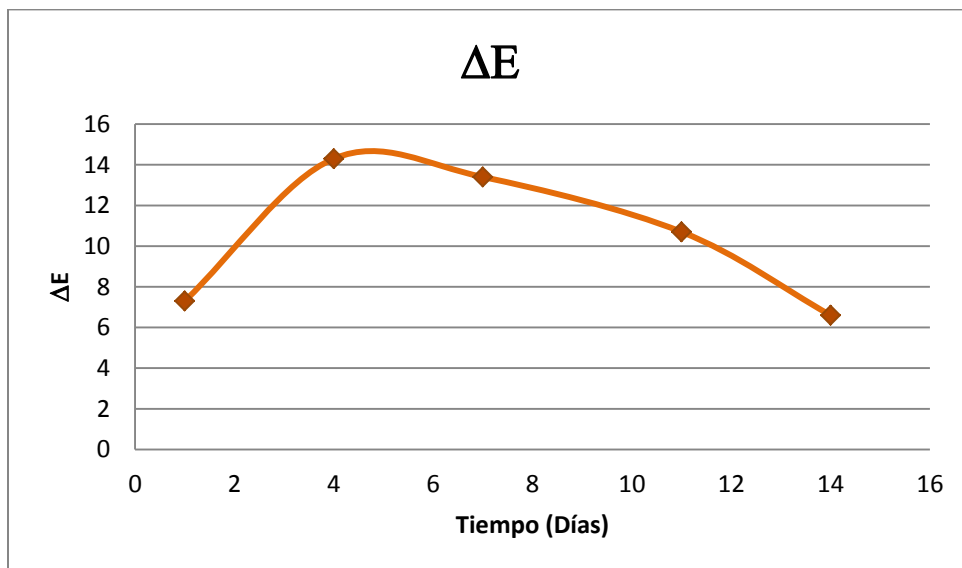


Figura 44. Valores de Delta E en aguacate Hass sin y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.



3.5.2 Químicas

3.5.2.1 Contenido de aceite

El análisis estadístico indica que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre el contenido de aceite de los frutos sin recubrimiento y los frutos con recubrimiento de quitosán mejorado al 1%. Los valores de contenido de aceite fueron aumentando tanto para los frutos sin recubrimiento como para los frutos recubiertos con quitosán modificado durante el período de almacenamiento. Los frutos sin recubrimiento partieron de un contenido inicial de 13% y alcanzó un total de 22.81% de aceite en el día 11 de almacenamiento, mientras que los frutos recubiertos iniciaron con 13% de contenido de aceite y al finalizar la prueba, en el día 14 obtuvo un 17.98%.

De acuerdo con Yahia y Woolf, (2011) el fruto de diferentes cultivares de aguacate varía en contenido de aceite, de menos del 5% al 30%, por lo que los datos coinciden con lo reportado por estos autores ya que se obtuvieron valores de contenido de aceite de 13% a 22% figura 45.

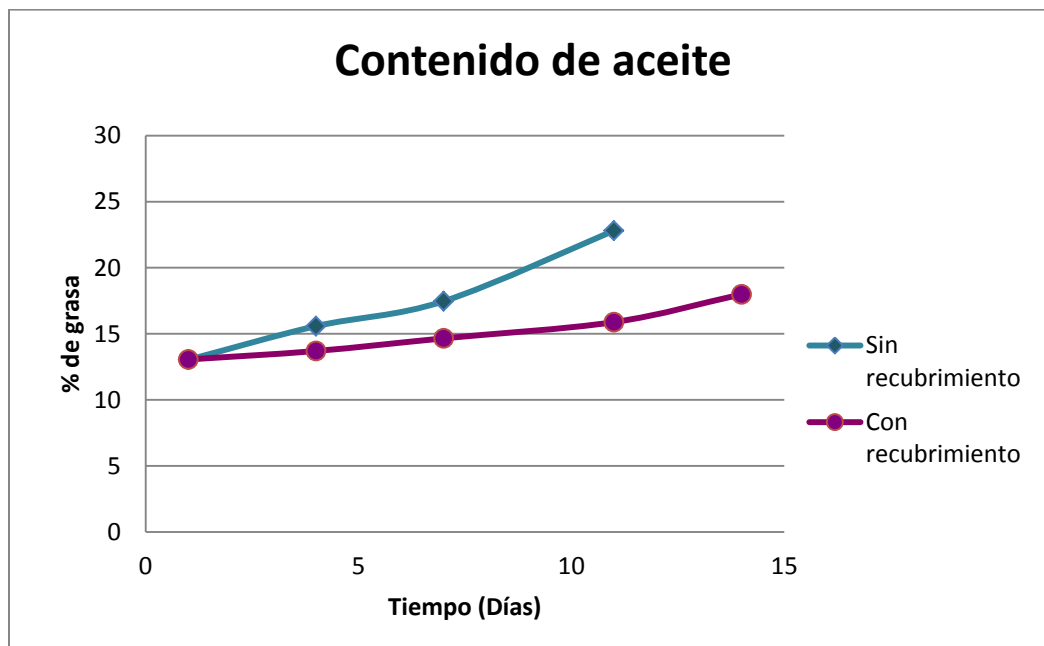


Figura 45. Contenido de aceite de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.



Ceballos P. & Montoya B., (2013) mencionan que el contenido de grasa aumenta durante el crecimiento del fruto y durante el proceso de maduración, utilizándose como indicador para determinar el estado de madurez de la fruta y su calidad en general.

Teniendo en cuenta lo anterior, para ambos tratamientos se presentó un aumento del contenido de aceite conforme al tiempo, pero fue mayor en los frutos sin recubrimiento lo que indica un mayor avance en el proceso de maduración y en menor tiempo en comparación con los frutos recubiertos.

Es importante mencionar que después de la maduración, pueden ocurrir valores superiores al 20% por lo que se puede decir que los frutos no recubiertos a los 11 días ya se encontraban maduros y con presencia del hongo *C. gloesporoides*, mientras que los recubiertos no presentaban dichos defectos.

Por otro lado el contenido de aceite como indicador de calidad, se puede observar que la aplicación del recubrimiento no afectó a este parámetro, y se mantuvieron valores aceptables dando así una buena calidad e índice de madurez comercial del fruto.

3.5.2.2 Contenido de humedad

El análisis estadístico mostró que no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) en los valores de humedad de los frutos sin recubrimiento y los frutos con quitosán mejorado (1%).

Los valores de humedad fueron disminuyendo conforme al tiempo, en el segundo día de almacenamiento se observa un cambio mayor, los frutos recubiertos presentaron una humedad de 63.9% mientras que los frutos sin recubrimientos 55.4% figura 46.

La pérdida de humedad aumentó a 10g/100g en los frutos no recubiertos y a 8.65g/100g en los frutos con recubrimiento a los 14 días de almacenamiento, esta pérdida de humedad se atribuye a la transferencia de vapor de agua del interior de los frutos al exterior.

El recubrimiento formó una barrera semipermeable, la temperatura y humedad relativa fueron factores importantes en la pérdida de humedad ya que las condiciones almacenamiento fueron a 25 °C y 45%



HR, la película. Estos factores fueron importantes en la tasa de transferencia de masa, donde la película permitió el intercambio de gases y la maduración adecuada del fruto.

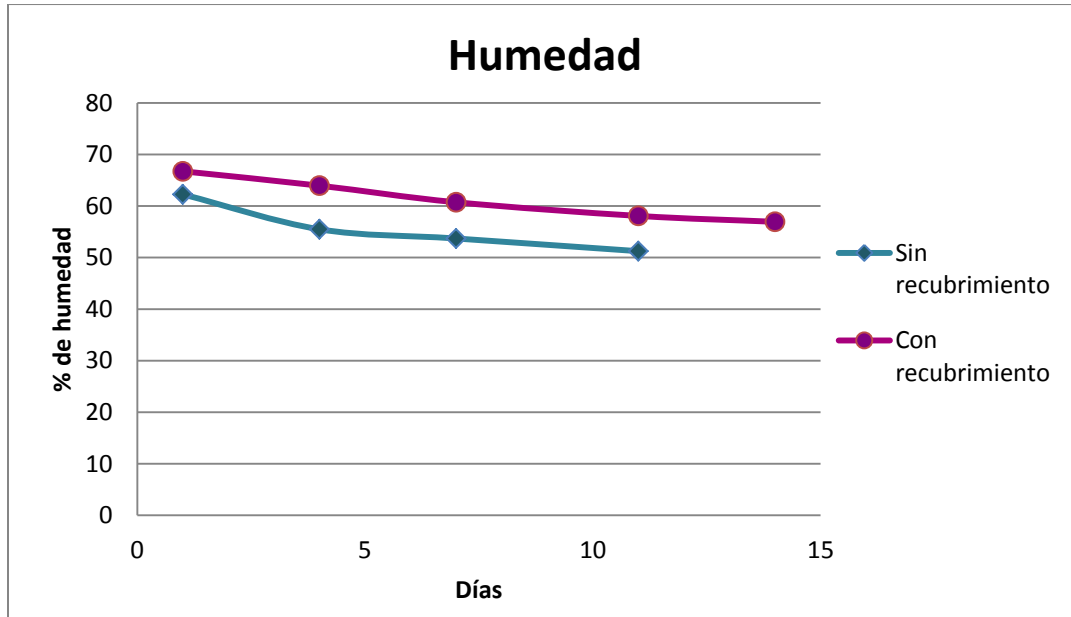


Figura 46. Contenido de humedad de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.

3.5.2.3 Actividad de agua (a_w)

Los resultados análisis estadístico no mostraron diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los valores de a_w obtenidos de los frutos sin recubrimiento y los frutos recubiertos con quitosán mejorado al 1%. Se mantuvieron valores de a_w de 0.99 y 0.98 figura 47.

Los valores de actividad de agua no variaron durante el tiempo evaluado, lo que sugiere que la aplicación del recubrimiento no afecta al metabolismo del fruto y permite que exista agua libre para que se lleven a cabo las reacciones químicas y enzimáticas.



|

Es importante tener en cuenta que la aplicación del recubrimiento no disminuye de manera significativa la actividad de agua, ni restringe indebidamente la migración del agua ya que, los valores reducidos de a_w pueden causar cambios que deterioren la estabilidad y la aceptabilidad del fruto desde la aplicación del recubrimiento.

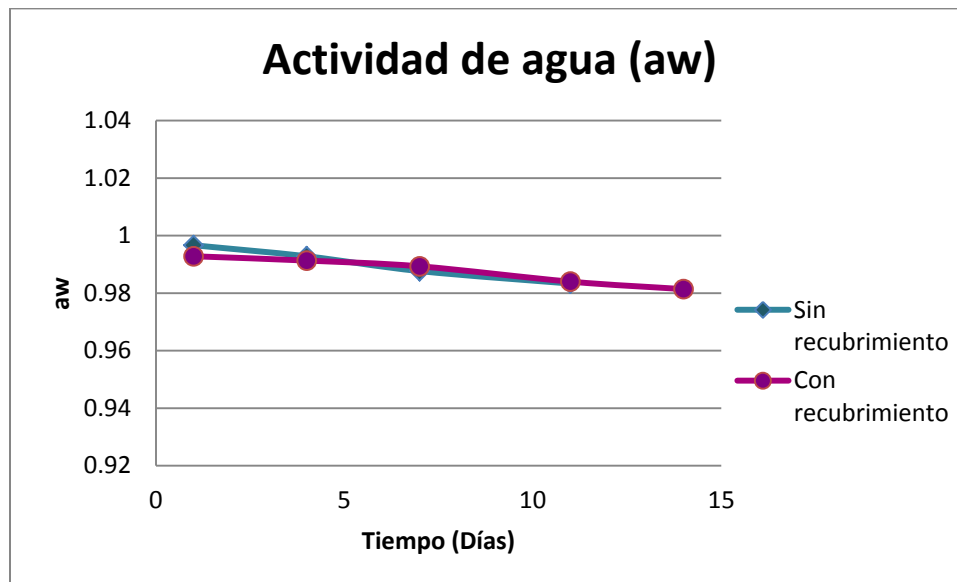


Figura 47. Actividad de agua de los frutos sin recubrimiento y con recubrimiento de quitosán mejorado al 1% durante 14 días de almacenamiento.



|

En otra prueba se colocaron aguacates recubiertos con quitosán modificado al 1% en un refrigerador de una puerta marca AMERICAN donde se mantuvieron a 4°C, donde se observó que la vida útil se extendió por mayor tiempo, estos frutos fueron analizados después de 2 meses de almacenamiento, al abrir el aguacate este no mostró presencia ni daños causados por el hongo. El mesocarpio se encontró con colores verde-amarillo figura 48.

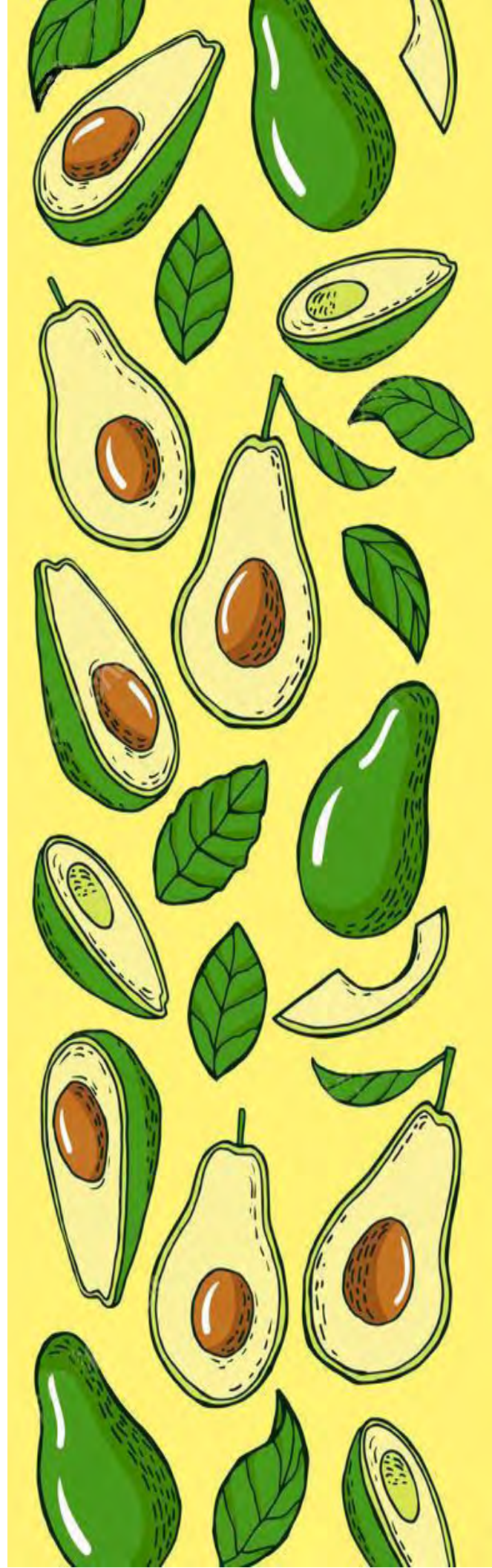


Figura 48. Aguacate recubierto con quitosán modificado 1% después de 60 días de almacenamiento a 4°C.

Salvador Et al., (1999) utilizaron recubrimientos de quitosán en aguacates y mejoraron la vida de almacenamiento del aguacate a 24 días a 3-10 °C. Con el recubrimiento a base de quitosán mejorado al 1% se pudo extender por mayor tiempo la vida útil del fruto hasta por 60 días a 4 °C, por lo que es factible el uso del recubrimiento junto con el empleo de bajas temperaturas y una humedad relativa alta en un posterior proyecto.



CONCLUSIONES



Con base en los resultados obtenidos de la presente investigación se concluye lo siguiente:

En los estudios realizados *In Vitro* el quitosán modificado (1%) así como los tratamientos a base de quitosán modificado 1% y aceites esenciales de canela tomillo y clavo y la mezcla de ellos a concentraciones de 200, 300, 400 y 500 ppm mostraron un efecto fungicida sobre el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*.

En la formulación del recubrimiento se utilizó únicamente el quitosán modificado al 1 % debido a su actividad fungicida.

El recubrimiento a base de quitosán modificado (1%) mostró un efecto positivo al retardar maduración del fruto y el desarrollo y crecimiento del hongo causante de la antracnosis en el aguacate. El recubrimiento duplicó el tiempo de vida útil de los frutos y conservó parámetros de calidad como el contenido de aceite, dureza y color.

La aplicación del recubrimiento de quitosán modificado al 1% disminuyó el porcentaje de pérdida de peso en comparación con los frutos sin recubrimiento.

En el parámetro de dureza, el recubrimiento con quitosán modificado disminuyó el porcentaje de pérdida firmeza, mostrando un pérdida del 4% para los frutos no recubiertos y de 2.30% para los frutos recubiertos.

En los parámetros de color L^* , a^* , b^* croma y tono, el recubrimiento conservó el brillo y el color verde en el exocarpio de los frutos por mayor tiempo retardando la maduración y el cambio de color a tonos púrpura-negro.

En la prueba de actividad de agua (a_w) la aplicación del recubrimiento conservó la presencia de agua libre para que se llevaran a cabo las reacciones químicas y enzimáticas.

El contenido de aceite fue aumentando conforme el tiempo de almacenamiento, el recubrimiento contribuyó en el adecuado proceso de madurez del aguacate, se obtuvieron valores de contenido de aceite de 22.81% para los frutos no recubiertos y de 17.98% para los recubiertos con quitosán.



|

El contenido de humedad no presentó diferencias significativas, los valores fueron disminuyendo conforme al tiempo tanto para los frutos sin recubrimiento como para los frutos recubiertos donde la película permitió el intercambio de gases y la maduración adecuada del fruto.



REFERENCIAS

- Aguilar González, A. E., & López Malo, A. (2013). Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7(2), 35–41.
<http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Aguilar-Gonzalez-et-al-2013.pdf>
- 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.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- Ayala-Zavala, J. F., Silva-Espinoza, B. A., Cruz-Valenzuela, M. R., Leyva, J. M., Ortega-Ramírez, L. A., Carrasco-Lugo, D. K., ... Miranda, M. R. A. (2013). Pectin-cinnamon leaf oil coatings add antioxidant and antibacterial properties to fresh-cut peach. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(1), 39–45. <https://doi.org/10.1002/ffj.3125>
- Barrientos, P., García, V., & Avitia, G. (1996). Anatomía del fruto de aguacate, ¿drupa o baya? *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2(1942), 189–198.
http://www.avocadosource.com/Journals/CHAPINGO/1996_II_2_189.pdf
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop Protection*, 22(9), 1087–1092. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(03\)00117-0](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(03)00117-0)
- Bill, M., Sivakumar, D., Korsten, L., & Thompson, A. K. (2014). The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection*, 64, 159–167. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.015>
- Castro, S. P. M., & Paulín, E. G. L. (2012). Is Chitosan a New Panacea ? Areas of Application. In D. Nedra Karunaratne (Ed.), *The complex world of polysaccharides* (pp. 3–46). Rijeka, Croatia: InTech. <https://doi.org/10.5772/51200>
- Ceballos P., A. M., & Montoya B., S. (2013). Evaluación química de la fibra en semilla, pulpa y



cáscara de tres variedades de aguacate. *Biotecnología En Sector Agropecuario Y Agroindustrial*, 11(1), 103–112. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a13.pdf>

- Chaieb, K., Hajlaoiul, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. Ben, Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. *Phytotherapy Research*, 21, 501–506. <https://doi.org/10.1002/ptr.2124>
- Chiralt, A., & Atar, L. (2016). Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends in Food Science & Technology Journal*, 48, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
- Cindi, M. D., Shittu, T., Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2015). Chitosan boehmite-alumina nanocomposite films and thyme oil vapour control brown rot in peaches (*Prunus persica* L.) during postharvest storage. *Crop Protection*, 72, 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.03.011>
- Cowan, A. K., & Wolstenholme, B. N. (2016). Avocado. *Encyclopedia of Food and Health*, 294–300. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00049-0>
- Cox, K. A., McGhie, T. K., White, A., & Woolf, A. B. (2004). Skin colour and pigment changes during ripening of “Hass” avocado fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 31(3), 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.008>
- De Ancos, B., González Peña, D., Colina-Coca, C., & Sánchez Moreno, C. (2015). Uso de películas/recubrimientos comestibles en los productos de IV y V gama. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(1), 8–17. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Delmoro, J., Muñoz, D., Nadal, V., Clementz, A., & Pranzetti, V. (2010). El color en los alimentos: determinación de color en mieles. *Invenio*, 13(25), 145–152. <http://www.redalyc.org/pdf/877/87715116010.pdf>
- Donetti, M., & Terry, L. A. (2014). Biochemical markers defining growing area and ripening stage of imported avocado fruit cv. Hass. *Journal of Food Composition and Analysis*, 34(1), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.11.011>
- Elsabee, M. Z., & Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings : A review.



|

Materials Science & Engineering C, 33(4), 1819–1841.

<https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>

- Espinosa-Cruz, C., Valle-Guadarrama, S., Ybarra-Moncada, M. C., & Martínez Damian, M. T. (2014). Comportamiento postcosecha de frutos de aguacate “Hass” afectado por temperatura y atmósfera modificada con microperforado. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(3), 235–242. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802014000300009
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2018). FAOSTAT Crops. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Gonçalves, N. D., Pena, F. de L., Sartoratto, A., Derlamelina, C., Duarte, M. C. T., Antunes, A. E. C., & Prata, A. S. (2017). Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. *Food Research International*, 96, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.006>
- Gutiérrez-Contreras, M., Lara-Chávez, M. B. N., Guillén-Andrade, H., & Chávez-Bárceñas, A. T. (2010). Agroecología de la franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*, 35(9), 647–653. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33914212003>
- Hafsa, J., Smach, M. ali, Ben Khedher, M. R., Charfeddine, B., Limem, K., Majdoub, H., & Rouatbi, S. (2016). Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 68, 356–364. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.050>
- Han, J. H. (2014). Edible Films and Coatings: a Review. In J. H. Han (Ed.), *Innovations in Food Packaging* (pp. 213–255). Texas, USA: Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394601-0.00009-6>
- Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J., Ankiti, M., Khedid, K., & El Bachiri, A. (2009). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11(5), 205–208. <https://doi.org/hdl.handle.net/2268/16021>
- Kirk, R. S., Sawyer, R., & Egan, H. (2011). *Composición y Análisis de Alimentos de Pearson* (2nd ed.). CECSA.



- |
- Landahl, S., Meyer, M. D., & Terry, L. A. (2009). Spatial and Temporal Analysis of Textural and Biochemical Changes of Imported Avocado cv. Hass during Fruit Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 7039–7047. <https://doi.org/10.1021/jf803669x>
 - Landero-Valenzuela, N., Marcelo Lara-Viveros, F., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L. A., & Aguado Rodríguez, J. G. (2016). Alternativas para el control de *Colletotrichum* spp . *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(5), 1189–1198.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263146723018>
 - León, K., Mery, D., Pedreschi, F., & León, J. (2006). Color measurement in L * a * b * units from RGB digital images. *Food Research International*, 39, 1084–1091.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>
 - Maftoonazad, N., & Ramaswamy, H. S. (2005). Postharvest shelf-life extension of avocados using methyl cellulose-based coating. *LWT - Food Science and Technology*, 38(6), 617–624.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.08.007>
 - Mathur, S. B., & Kongsdal, O. (2003). *Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi*. Dinamarca: Internation Seed Testing Association.
 - Molina-Bosquez, E., Ronquillo-de Jesús, E., Bautista-Baños, S., Verde-Calvo, J., & Morales-López, J. (2010). Inhibitory effect of essential oils against *Colletotrichum gloeosporioides* and *Rhizopus stolonifer* in stored papaya fruit and their possible application in coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 57, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.008>
 - Montero Tavera, V., Morales García, J. L., González Chavira, M. M., Anaya López, J. L., Corona Torres, T., & Mariscal Gálvez, A. (2010). Diversidad genética, patogénica y morfológica del hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) de Michoacán, México. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 1(2), 159–174.
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342010000200004
 - Nielsen, S. S. (1998). *Food analysis* (2nd ed.). Estados Unidos de America: Springer.
 - Nolllet, L. M. . (1996). *Handbook of food analysis*. Estados Unidos de America: Marcel Dekker.
 - Ochoa-Ascencio, S., Hertog, M. L. A. T. M., & Nicolai, B. M. (2009). Modelling the transient effect of 1-MCP on “Hass” avocado softening: A Mexican comparative study. *Postharvest*



Biology and Technology, 51(1), 62–72. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.06.002>

- Ozdemir, F., & Topuz, A. (2004). Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chemistry*, 86(1), 79–83. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.012>
- PC-001-2004 PLIEGO DE CONDICIONES PARA EL USO DE LA MARCA OFICIAL MEXICO CALIDAD SUPREMA EN AGUACATE (SUSTITUYE A LA VERSIÓN PC-001-2000). (2004).
- Perdonés, Á., Chiralt, A., & Vargas, M. (2016). Properties of film-forming dispersions and films based on chitosan containing basil or thyme essential oil. *Food Hydrocolloids*, 57, 271–279. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.02.006>
- Quintero, C. J., Falguera, V., & Muñoz, H. A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 5, 93–118. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3628239.pdf>
- Raut, J. S., & Karuppaiyil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.05.055>
- Restrepo Duque, A. M., Londoño-Londoño, J., Álvarez, D. G., Paz, Y. B., & Salazar, B. L. C. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: Una perspectiva desde la calidad. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), 151–161. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-44492012000200016&script=sci_abstract&tlng=es
- Rodríguez-López, E. S., Cárdenas-Soriano, E., Hernández-Delgado, S., Gutiérrez-Diez, A., & Mayek-Pérez, N. (2013). Análisis de la infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. de frutos de aguacatero. *Comunicación Científica*, 35(3), 898–905. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452013000300029
- Rodríguez-López, E. S., González-Prieto, J. M., & Mayek-Pérez, N. (2009). La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana* Mill.): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 27(1), 53–63. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100007



- I
- Román Mares, E. A., & Yahia Kazuz, E. (2002). Manejo postcosecha del aguacate. *Vitae*, 9(2), 5–16. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169818107001>
 - Salvador, L., Miranda, S. P., Aragón, N., & Lara, V. (1999). Recubrimiento de quitosán en aguacate. *Revista de La Sociedad Química de México*, 43(1), 18–23. <http://ucsj.redalyc.org/articulo.oa?id=47543204>
 - Sarkhosh, A., Vargas, A. I., Schaffer, B., Palmateer, A. J., Lopez, P., Soleymani, A., & Farzaneh, M. (2017). Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. *Food Packaging and Shelf Life*, 12, 16–22. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.02.001>
 - Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2017). *Atlas Agroalimentario 2017*. Retrieved from http://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2017/Atlas-Agroalimentario-2017.
 - Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D., & Wang, H. (2015). Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2014.07.014>
 - Simas, D. L. R., de Amorim, S. H. B. M., Goulart, F. R. V., Alviano, C. S., Alviano, D. S., & da Silva, A. J. R. (2017). Citrus species essential oils and their components can inhibit or stimulate fungal growth in fruit. *Industrial Crops and Products*, 98, 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.026>
 - Sotelo-Boyás, M., Correa-Pacheco, Z., Bautista-Baños, S., & Gómez y Gómez, Y. (2017). Release study and inhibitory activity of thyme essential oil-loaded chitosan nanoparticles and nanocapsules against foodborne bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 409–414. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.063>
 - Tamayo Molano, J. P. (2007). Enfermedades del Aguacate. *Politecnica*, 4, 51–70. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.8.2007>
 - Tesfay, S. Z., & Magwaza, L. S. (2017). Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, chitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Food Packaging and Shelf Life*, 11, 40–48.



|

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.12.001>

- Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., & Gerschenson, L. N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. *Food Research International*, 42(7), 762–769. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.026>
- von Atzingen, M. C., & Machado Pinto, M. E. (2005). Evaluación de la textura y color de almidones y harinas en preparaciones sin gluten. *Ciencia Y Tecnología de Los Alimentos*, 4(5), 319–323. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1310784>
- Win, N. K. K., Jitareerat, P., Kanlayanarat, S., & Sangchote, S. (2007). Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.020>
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y., & Tang, Y. (2011). Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Food Chemistry*, 124(4), 1443–1450. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.105>
- Yahia, E. M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.). In J. O. Debbie Rees, Graham Farrell (Ed.), *Crop Post-Harvest: Science and Technology: Perishables, 1* (pp. 125–186). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857092762.125>
- Yuan, G., Chen, X., & Li, D. (2016). Chitosan films and coatings containing essential oils : The antioxidant and antimicrobial activity , and application in food systems. *Food Research International Journal*, 89, 117–128. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.004>

