



10

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

RECUBRIMIENTO DE QUITOSAN
EN AGUACATE

A R T I C U L O
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A :
LETICIA SALVADOR RODRIGUEZ

ASESORAS: M.C. SUSANA P. MIRANDA CASTRO
M.C. NIDIA ARAGON SALGADO

COASESORA: M.C. VIRGINIA LARA SAGAHON

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX

278-20
2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

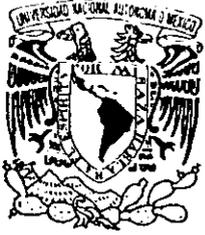


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

UNIVERSIDAD NACIONAL
 AVENIDA DE
 MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de:

artículo "Recubrimiento de quitosán en
aguacate"

que presenta la pasante: Leticia Salvador Rodríguez

con número de cuenta: 3027064 - 2 para obtener el TITULO de:
Ingeniera en Alimentos

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

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 22 de Marzo de 1999.

PRESIDENTE	<u>I.B.C. Norma B Casas Alencaster</u>	<i>[Signature]</i>
VOCAL	<u>C.F.B. Susana P. Miranda Castro</u>	<i>[Signature]</i>
SECRETARIO	<u>I.B.C. Saturnino Maya Ramírez</u>	<i>[Signature]</i>
PRIMER SUPLENTE	<u>I.A.Ma. de los Angeles Cornejo</u>	<i>[Signature]</i>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>M. en C. Ma. de la Luz Zambrano</u>	<i>[Signature]</i>

DEDICATORIAS

A mamá Mari y mamá Elia

Las personas más cercanas en mi vida, y quienes me han apoyado y enseñado en forma, práctica todo lo que sé acerca de la vida.
Este trabajo es dedicado a ellas.

A mi hermano Sergio

Por el amor , comprensión, apoyo y quien además es mi ejemplo fiel de entereza y superación.

AGRADECIMIENTOS

**Al Laboratorio de Inmunología
Y a la Q.F.B. Ma. Eugenia Rosales**
Por compartir su espacio y equipo de laboratorio
En la parte experimental de este trabajo.

A la M.C. Patricia Miranda y A la M.C. Nidia Aragón :
Por su confianza, apoyo y asesoría, para la realización de este trabajo.

A la M.C. Virginia Lara
Por su asesoría en la parte estadística del trabajo.

A mis amigos
Que han vivido momentos imborrables conmigo,
y que ahora comparten una de mis metas.

INDICE

Resumen	18
Introducción	18
Metodología	18
.....	19
Resultados y Discusión	19
.....	20
.....	21
.....	22
Conclusiones	22
Recomendaciones	22
Bibliografía	22
.....	23

Investigación

Recubrimiento de quitosán en aguacate

Leticia Salvador, Susana P. Miranda*, Nidia Aragón y Virginia Lara

Sección de Biotecnología, Coordinación General de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Quetzalcóatl s/n, Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54740. Tel.(01) 56232057

Resumen. El aguacate (*Persea americana* Mills c.v. Hass) es susceptible de perder su calidad al verse alterado por el ataque de microorganismos y por las condiciones postcosecha a las que se ve sujeto. Teniendo como antecedentes las características antifúngicas del quitosán, en el desarrollo del trabajo se probó dicha actividad, para lo cual, se aislaron e identificaron de aguacates enfermos *Colletotrichum sp.* y *Diplodia sp.*, causantes de la antracnosis y pudrición del pedúnculo respectivamente. Al ser usada la refrigeración 3°C-10°C en combinación con la película de quitosán se obtuvieron 24 días de vida útil del fruto y un porcentaje de afección menor que en el testigo. A diferencia de 27°C-29°C 6 días de vida.

Abstract. Avocado fruits (*Persea americana* Mill c.v. Hass) are susceptible to fungal infection during storage, this represents a major problem; reduces marketability and consumer acceptance of avocado fruits after harvest. The antimycotic effects of chitosan have also been documented. The effects of these coatings were followed by measurements *in vitro* and *in vivo* *Colletotrichum sp.* and *Diplodia sp.* isolated from avocado fruit. The specific objective was to coat avocado fruit with several type of chitosan coating and investigate their effects on quality and external appearance and thus improve avocado storage life for 24 days at 3°C-10°C and 6 days at 27°C-29°C.

Introducción

El lugar predominante que México ocupa en la producción mundial de aguacate revela su importancia en el ámbito nacional. Entre las especies frutícolas que se consumieron durante el período de 1990-1994 [1-3], el aguacate ocupó el cuarto lugar en lo que se refiere a superficie cosechada, el sexto en producción y un sitio relevante en exportación [4-6].

El aguacate mexicano var. Hass (*Persea americana*), tiene una calidad reconocida dado su elevado valor nutritivo, contenido de grasa y presentación por estas razones, es una de las variedades que se cultiva con mayor intensidad [4, 5].

Es un fruto de tipo climatérico, es decir, experimenta cambios bioquímicos denotados en apariencia y composición según transcurre su maduración. Es deseable que sea firme y brillante en el momento de ser cosechado, de aspecto sano y libre de microorganismos [6-9]. Estas características pueden mantenerse por períodos prolongados en condiciones específicas vía la tecnología postcosecha de frutos, permitiendo la aplicación de operaciones que garanticen el mantenimiento de los atributos de calidad comercial [9-11].

En este trabajo se usó el biopolímero quitina el cual fue modificado a quitosán [12, 13] para formular una película curable [14-18].

Metodología

Aislamiento e identificación

El aislamiento de los microorganismos se realizó a partir de aguacates de la variedad Hass, obtenidos en la Central de Abasto de Tultitlán, cuyo origen se especificó de Uruapan Mich.; los frutos presentaban signos de enfermedad (antracnosis y pudrición del pedúnculo), la primera se caracteriza externamente por manchas circulares negruzcas llegando a formar pequeñas depresiones y en la segunda los signos son parecidos pero localizados principalmente en el área cercana al pedúnculo [19, 20]. Se tomaron muestras de las lesiones y se sembraron en agar papa dextrosa, agar nutritivo y agar Sabouraud manteniéndolos en incubación a 28°C ± 2°C monitoreados cada 24 h, hasta observar el crecimiento de la colonia. De cada uno de los medios se hicieron resiembras subsecuentes a fin de purificar las cepas.

Con éstas se procedió a la verificación de la patogenicidad, la cual se llevó a cabo en aguacates sanos de la misma variedad y procedentes de Michoacán, a los que se inocularon las cepas obtenidas y fueron mantenidos en cámaras húmedas, hasta la aparición de los signos de enfermedad tales como: cambios de coloración y de textura, hasta llegar a pudriciones.

En la identificación de los microorganismos se emplearon claves micológicas [21].

Investigación

Recubrimiento de quitosán en aguacate

Leticia Salvador, Susana P. Miranda*, Nidia Aragón y Virginia Lara

Sección de Biotecnología, Coordinación General de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Quetzalcóatl s/n, Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54740, Tel. (01) 56232057

Resumen. El aguacate (*Persea americana* Mills c.v. Hass) es susceptible de perder su calidad al verse alterado por el ataque de microorganismos y por las condiciones postcosecha a las que se ve sujeto. Teniendo como antecedentes las características antifúngicas del quitosán, en el desarrollo del trabajo se probó dicha actividad, para lo cual, se aislaron e identificaron de aguacates enfermos *Colletotrichum sp.* y *Diplodia sp.*, causantes de la antracnosis y pudrición del pedúnculo respectivamente. Al ser usada la refrigeración 3°C-10°C en combinación con la película de quitosán se obtuvieron 24 días de vida útil del fruto y un porcentaje de afección menor que en el testigo. A diferencia de 27°C-29°C 6 días de vida.

Abstract. Avocado fruits (*Persea americana* Mill c.v. Hass) are susceptible to fungal infection during storage, this represents a major problem; reduces marketability and consumer acceptance of avocado fruits after harvest. The antimycotic effects of chitosan have also been documented. The effects of these coatings were followed by measurements *in vitro* and *in vivo* *Colletotrichum sp.* and *Diplodia sp.* isolated from avocado fruit. The specific objective was to coat avocado fruit with several type of chitosan coating and investigate their effects on quality and external appearance and thus improve avocado storage life for 24 days at 3°C-10°C and 6 days at 27°C-29°C.

Introducción

El lugar predominante que México ocupa en la producción mundial de aguacate revela su importancia en el ámbito nacional. Entre las especies frutícolas que se consumieron durante el período de 1990-1994 [1-3], el aguacate ocupó el cuarto lugar en lo que se refiere a superficie cosechada, el sexto en producción y un sitio relevante en exportación [4-6].

El aguacate mexicano var. Hass (*Persea americana*), tiene una calidad reconocida dado su elevado valor nutritivo, contenido de grasa y presentación por estas razones, es una de las variedades que se cultiva con mayor intensidad [4, 5].

Es un fruto de tipo climatérico, es decir, experimenta cambios bioquímicos denotados en apariencia y composición según transcurre su maduración. Es deseable que sea firme y brillante en el momento de ser cosechado, de aspecto sano y libre de microorganismos [6-9]. Estas características pueden mantenerse por períodos prolongados en condiciones específicas vía la tecnología postcosecha de frutos, permitiendo la aplicación de operaciones que garanticen el mantenimiento de los atributos de calidad comercial [9-11].

En este trabajo se usó el biopolímero quitina el cual fue modificado a quitosán [12, 13] para formular una película curriente [14-18].

Metodología

Aislamiento e identificación

El aislamiento de los microorganismos se realizó a partir de aguacates de la variedad Hass, obtenidos en la Central de Abasto de Tultitlán, cuyo origen se especificó de Uruapan Mich.; los frutos presentaban signos de enfermedad (antracnosis y pudrición del pedúnculo), la primera se caracteriza externamente por manchas circulares negruzcas llegando a formar pequeñas depresiones y en la segunda los signos son parecidos pero localizados principalmente en el área cercana al pedúnculo [19, 20]. Se tomaron muestras de las lesiones y se sembraron en agar papa dextrosa, agar nutritivo y agar Sabouraud manteniéndolos en incubación a 28°C ± 2°C monitoreados cada 24 h, hasta observar el crecimiento de la colonia. De cada uno de los medios se hicieron resiembras subsecuentes a fin de purificar las cepas.

Con éstas se procedió a la verificación de la patogenicidad, la cual se llevó a cabo en aguacates sanos de la misma variedad y procedentes de Michoacán, a los que se inocularon las cepas obtenidas y fueron mantenidos en cámaras húmedas, hasta la aparición de los signos de enfermedad tales como cambios de coloración y de textura, hasta llegar a pudriciones.

En la identificación de los microorganismos se emplearon claves micológicas [21].

Investigación

Recubrimiento de quitosán en aguacate

Leticia Salvador, Susana P. Miranda*, Nidia Aragón y Virginia Lara

Sección de Biotecnología, Coordinación General de Estudios de Posgrado, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Quetzalcóatl s/n, Campo 1, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C.P. 54740, Tel. (01) 56232057

Resumen. El aguacate (*Persea americana* Mills c.v. Hass) es susceptible de perder su calidad al verse alterado por el ataque de microorganismos y por las condiciones postcosecha a las que se ve sujeto. Teniendo como antecedentes las características antifúngicas del quitosán, en el desarrollo del trabajo se probó dicha actividad, para lo cual, se aislaron e identificaron de aguacates enfermos *Colletotrichum sp.* y *Diplodia sp.*, causantes de la antracnosis y pudrición del pedúnculo respectivamente. Al ser usada la refrigeración 3°C-10°C en combinación con la película de quitosán se obtuvieron 24 días de vida útil del fruto y un porcentaje de afección menor que en el testigo. A diferencia de 27°C-29°C 6 días de vida.

Abstract. Avocado fruits (*Persea americana* Mill c.v. Hass) are susceptible to fungal infection during storage, this represents a major problem; reduces marketability and consumer acceptance of avocado fruits after harvest. The antimycotic effects of chitosan have also been documented. The effects of these coatings were followed by measurements *in vitro* and *in vivo* *Colletotrichum sp.* and *Diplodia sp.* isolated from avocado fruit. The specific objective was to coat avocado fruit with several type of chitosan coating and investigate their effects on quality and external appearance and thus improve avocado storage life for 24 days at 3°C-10°C and 6 days at 27°C-29°C.

Introducción

El lugar predominante que México ocupa en la producción mundial de aguacate revela su importancia en el ámbito nacional. Entre las especies frutícolas que se consumieron durante el período de 1990-1994 [1-3], el aguacate ocupó el cuarto lugar en lo que se refiere a superficie cosechada, el sexto en producción y un sitio relevante en exportación [4-6].

El aguacate mexicano var. Hass (*Persea americana*), tiene una calidad reconocida dado su elevado valor nutritivo, contenido de grasa y presentación por estas razones, es una de las variedades que se cultiva con mayor intensidad [4, 5].

Es un fruto de tipo climatérico, es decir, experimenta cambios bioquímicos denotados en apariencia y composición según transcurre su maduración. Es deseable que sea firme y brillante en el momento de ser cosechado, de aspecto sano y libre de microorganismos [6-9]. Estas características pueden mantenerse por períodos prolongados en condiciones específicas vía la tecnología postcosecha de frutos, permitiendo la aplicación de operaciones que garantizan el mantenimiento de los atributos de calidad comercial [9-11].

En este trabajo se usó el biopolímero quitina el cual fue modificado a quitosán [12, 13] para formular una película cubriente [14-18].

Metodología

Aislamiento e identificación

El aislamiento de los microorganismos se realizó a partir de aguacates de la variedad Hass, obtenidos en la Central de Abasto de Tultitlán, cuyo origen se especificó de Uruapan Mich.; los frutos presentaban signos de enfermedad (antracnosis y pudrición del pedúnculo), la primera se caracteriza externamente por manchas circulares negruzcas llegando a formar pequeñas depresiones y en la segunda los signos son parecidos pero localizados principalmente en el área cercana al pedúnculo [19, 20]. Se tomaron muestras de las lesiones y se sembraron en agar papa dextrosa, agar nutritivo y agar Sabouraud manteniéndolos en incubación a 28°C ± 2°C monitoreados cada 24 h, hasta observar el crecimiento de la colonia. De cada uno de los medios se hicieron resiembras subsecuentes a fin de purificar las cepas.

Con éstas se procedió a la verificación de la patogenicidad, la cual se llevó a cabo en aguacates sanos de la misma variedad y procedentes de Michoacán, a los que se inocularon las cepas obtenidas y fueron mantenidos en cámaras húmedas, hasta la aparición de los signos de enfermedad tales como: cambios de coloración y de textura, hasta llegar a pudriciones.

En la identificación de los microorganismos se emplearon claves micológicas [21].

Preparación de la película cubriente

Se obtuvo el quitosán a partir de quitina comercial grado práctico, proveniente de caparazones de cangrejo (Sigma Chemical Co. St Louis Mo. U.S.A.) usando una solución de hidróxido de sodio al 50 %, en una relación 1:10 (quitina: reactante), a temperatura de ebullición, por 30 min seguido de un lavado con agua destilada hasta pH 7.

Posteriormente se prepararon dos bloques de películas; en el primero se formularon lo que se denominaron películas sencillas usando como disolvente ácido acético, ascórbico, láctico y cítrico (cuadro 1). En el cuadro 2, se pueden ver las formulaciones de quitosán un ácido orgánico, con un ácido graso, tween 80 y llevadas a pH 5.6; así mismo se centrifugaron a 10,000 g por 15 min a 24°C [14-18]. Se experimentó con la película comercial "Brillabekam" [22] como testigo, ya que se especifica que tiene incorporado un antifúngico y dado que la actividad del quitosán a probar es también de esta naturaleza.

En ambos bloques se consideró una valoración cualitativa de solubilidad del quitosán.

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vitro*

La valoración antifúngica del quitosán se llevó a cabo a las concentraciones 0,5, 0,2 y 0,1 % p/v previamente disuelto en agua acidulada y posteriormente mezclado con el agar papa dextrosa, en cajas petri, donde se sembró cada una de las cepas puras e identificadas, manteniéndolas en incubación a 26°C ± 2°C valorando su crecimiento cada 24 h [23, 24].

Valoración *in vivo* de las películas de quitosán

La valoración *in vivo* de las películas se efectuó mediante cinco experimentos considerando como variables independientes: película, temperatura y estado de madurez (sazón, ½). Y como variables dependientes: vida de almacenamiento, pérdida fisiológica de peso, afección por microorganismos y apariencia definida como aceptable o no aceptable.

Las películas fueron aplicadas manualmente con brocha procurando uniformidad.

Se valoró en cinco experimentos la acción antifúngica de las películas a temperatura de 27 ± 2°C; en el cuarto y quinto experimento se utilizaron temperaturas de refrigeración 3-10°C. La humedad relativa se mantuvo por abajo del 50% a temperatura ambiente (cuadro 3).

Cuadro 1. Películas sencillas.

Película	Concentración de quitosán % P/V	Disolvente 1% V/V
1	0,25 y 0,50	ácido acético-agua
2	0,25 y 0,50	ácido ascórbico-agua
3	0,25 y 0,50	ácido láctico-agua
4	0,25 y 0,50	ácido cítrico-agua

Cuadro 2. Películas reformuladas.

Película	Formulación % P/V	PH
1	quitosán 0.25, ác. acético 1,	5.6
2	quitosán 1, ác. fórmico 1	5.6
3	quitosán 2, HCl 0.25N	5.6
4	quitosán 1, ác. fórmico 1, ác. láurico 1, tween 80	5.6
5	quitosán 2, HCl 0.25N, ác. láurico 1, tween 80 0.1	5.6
6*	Acetato de vinilo - ester acrílico más fungicida Grado alimenticio	5.6

* Es un recubrimiento comercial BRILLABEKAM (Alimentaria Mexicana Bekacem, S.A. de C.V.) recomendado su uso en la industria Cárnica y Alimentaria. No se especifica el fungicida.

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación de patógenos del aguacate

Los microorganismos aislados y purificados fueron identificados como *Colletotrichum sp.* y *Diplodia sp.* En aguacates sanos 1/2 sazón fueron inoculados subcutáneamente con estos hongos evidenciándose los primeros signos de enfermedad a

Cuadro 3. Condiciones en las que se llevó a cabo la valoración *in vivo* de las películas de quitosán.

Variables	Experimento				
	A	B	C	D	E
Estado de madurez	Sazón	Sazón	½ sazón	½ sazón	½ sazón
HR	-50%	-50%	-50%	75-80 %	75-80 %
Temperatura	27 ± 2°C	27 ± 2°C	27 ± 2°C	27 ± 2°C 3 a 7°C	27 ± 2°C 10°C
Película aplicada	1 cuadro 1	1 a la 6 cuadro 2	1 a la 6 cuadro 2	4 y 5 cuadro 2	4 y 5 cuadro 2
Duración del experimento	6 días	6 días	6 días	6 días ambiente 19 días en refrigeración	6 días 15 días en refrigeración
Unidad experimental	3 lotes de 61 frutos c/u	7 lotes de 3 frutos c/u	7 lotes de 3 frutos c/u	4 lotes de 27 frutos c/u 2 lotes de 10 frutos c/u como testigos	6 lotes de 4 frutos c/u

los 2 días, confirmando de esta manera la patogenicidad de los microorganismos.

Colletrotrichum sp. causante de la antracnosis; el aspecto colonial es de anillos concéntricos, de micelios blancos al principio tornándose color naranja o salmón, con espículas oscuras entre los conidióforos; conidias ovoides ligeramente curvadas [9, 21].

Diplodia sp. produce la pudrición de pedúnculo, son cepas planas de textura algodonosa gris oscuro con formación de picnidios inmersos, elipsoidales y conidias oscuras o casi negras. Su incidencia y signos coinciden con lo establecido en la bibliografía [9, 21].

En el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), las cepas de *Colletrotrichum sp.* crecieron de 6-8 cm. en 72 h; en agar Sabouraud se desarrollaron colonias de 3-5 cm. En el mismo tiempo, en agar nutritivo el crecimiento fue lento y limitado. Con respecto a las cepas de *Diplodia sp.* el diámetro en 72 h, fue de 5-7 cm. en agar Sabouraud; y nutritivo; se puede establecer que de los tres medios utilizados como sustrato, el agar papa dextrosa es el adecuado para estos hongos.

Preparación de las películas

Para la preparación de las películas sencillas (cuadro 1), se utilizaron varios ácidos resultando en orden descendente la solubilidad del quitosán como sigue: acético, ascórbico, láctico y cítrico. En este último, la solubilidad se vió restringida; esto fue realizado experimentalmente con el objeto de obtener una solución de quitosán cristalina con alta solubilidad y un pH cercano al del fruto.

En las películas reformuladas también se utilizaron diferentes ácidos (cuadro 2) con estos ácidos la solubilidad del quitosán fue buena, pero con características diferentes. Con ácido fórmico la solución fue más viscosa en comparación con el acético y clorhídrico. Por lo tanto existe una diferencia entre ambos bloques de películas, las llamadas sencillas, las cuales son exclusivamente de quitosán, y el segundo bloque designadas películas reformuladas, a las cuales se les incorporó el ácido graso (láurico) y tween con el fin de modificar tanto las características de hidrofobicidad y surfactación [15, 17, 18].

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vitro*

Las pruebas para demostrar la actividad antifúngica del quitosán mostraron inhibición de 100% para ambas cepas aisladas, en las concentraciones 0,50, 0,25, y 0,10% p/v, en agar papa dextrosa y mantenidas a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. De acuerdo a lo anterior, el quitosán tiene un efecto antifúngico como lo reportado por El Graouth 1992 [14-16].

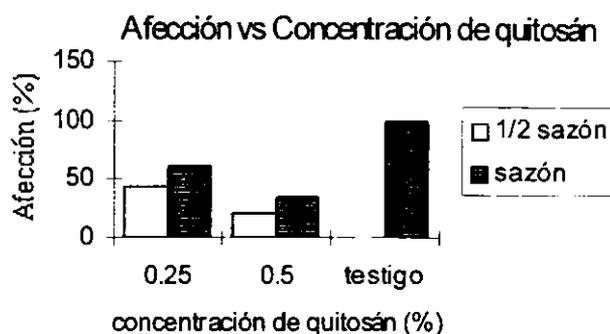
La comparación de estos resultados con los reportados en la literatura es difícil, ya que existen diferencias en la concentración utilizada de quitosán así como en los géneros de hongos manejados y en las especies frutícolas utilizadas; conse-

cientemente son de esperarse respuestas diferentes en el grado de susceptibilidad al quitosán [16].

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vivo*

En las pruebas hechas para valorar los dos bloques de películas, se consideró en orden de importancia, la aparición de signos de ataque por microorganismos, pérdida fisiológica de peso (P.F.P.) y como consecuencia, la calidad final del fruto tratado con las diferentes películas de quitosán. Debido a que las lesiones por hongos catalogadas como latentes representan el mayor problema postcosecha en aguacate [9, 19], la aplicación de una película con actividad antifúngica en el fruto fresco, como técnica de conservación, tendrá efecto durante el proceso de maduración del fruto y por lo tanto se considera que la pérdida fisiológica de peso es importante, así como la apariencia. En investigaciones realizadas con los hongos *B. cinerea* y *R. stolonifer*, que afectan a fresa, el quitosán se ha utilizado con el fin de inhibirlos, además de evaluar su efecto en los atributos de calidad del fruto [14-16].

Los resultados por afección de microorganismos se valoraron a través del porcentaje de aguacates dañados de acuerdo a los signos que se presentaron en el fruto. A temperatura ambiente son evidentes los efectos de las películas sencillas, ya que al compararse los frutos tratados con el testigo, éstos presentaron un 100% de afección comparado con un 60% de los tratados a la concentración 0,25% de quitosán y 34% a la concentración 0,5% de quitosán en estado sazón (gráfica 1).



Gráfica 1.

Al aplicar las películas reformuladas (gráfica 2) a temperatura ambiente en estado sazón, también resulta relevante la acción antifúngica, ya que las películas 5 y 6 manifiestan 0% de afección por microorganismos comparado con un 66% que se obtiene con las películas 2, 3 y testigo; sin embargo, se presentaron alteraciones fisiológicas como maduración anormal, lo cual repercute considerablemente en los atributos de calidad; situación similar se presentó en el experimento D y E, por lo que no se pudo evaluar el porcentaje de afección como en los demás experimentos. En el experimento C en el que se emplea aguacate 1/2 sazón, la afección mas alta en las películas aplicadas es de 33% en la película 6, en contraste al 0% en la película 5 y 20% en el testigo.

Preparación de la película cubriente

Se obtuvo el quitosán a partir de quitina comercial grado práctico, proveniente de caparzones de cangrejo (Sigma Chemical Co. St Louis Mo. U.S.A.) usando una solución de hidróxido de sodio al 50 %, en una relación 1:10 (quitina: reactante), a temperatura de ebullición, por 30 min seguido de un lavado con agua destilada hasta pH 7.

Posteriormente se prepararon dos bloques de películas; en el primero se formularon lo que se denominaron películas sencillas usando como disolvente ácido acético, ascórbico, láctico y cítrico (cuadro 1). En el cuadro 2, se pueden ver las formulaciones de quitosán un ácido orgánico, con un ácido graso, tween 80 y llevadas a pH 5.6; así mismo se centrifugaron a 10,000 g por 15 min a 24°C [14-18]. Se experimentó con la película comercial "Brillabekam" [22] como testigo, ya que se especifica que tiene incorporado un antifúngico y dado que la actividad del quitosán a probar es también de esta naturaleza.

En ambos bloques se consideró una valoración cualitativa de solubilidad del quitosán.

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vitro*

La valoración antifúngica del quitosán se llevó a cabo a las concentraciones 0,5, 0,2 y 0,1 % p/v previamente disuelto en agua acidulada y posteriormente mezclado con el agar papa dextrosa, en cajas petri, donde se sembró cada una de las cepas puras e identificadas, manteniéndolas en incubación a 26°C ± 2°C valorando su crecimiento cada 24 h [23, 24].

Valoración *in vivo* de las películas de quitosán

La valoración *in vivo* de las películas se efectuó mediante cinco experimentos considerando como variables independientes: película, temperatura y estado de madurez (sazón, ½). Y como variables dependientes: vida de almacenamiento, pérdida fisiológica de peso, afección por microorganismos y apariencia definida como aceptable o no aceptable.

Las películas fueron aplicadas manualmente con brocha procurando uniformidad.

Se valoró en cinco experimentos la acción antifúngica de las películas a temperatura de 27 ± 2°C; en el cuarto y quinto experimento se utilizaron temperaturas de refrigeración 3-10°C. La humedad relativa se mantuvo por abajo del 50% a temperatura ambiente (cuadro 3).

Cuadro 1. Películas sencillas.

Película	Concentración de quitosán % P/V	Disolvente 1% V/V
1	0,25 y 0,50	ácido acético-agua
2	0,25 y 0,50	ácido ascórbico-agua
3	0,25 y 0,50	ácido láctico-agua
4	0,25 y 0,50	ácido cítrico-agua

Cuadro 2. Películas reformuladas.

Película	Formulación % P/V	PH
1	quitosán 0.25, ác. acético 1,	5.6
2	quitosán 1, ác. fórmico 1	5.6
3	quitosán 2, HCl 0.25N	5.6
4	quitosán 1, ác. fórmico 1, ác. láurico 1, tween 80	5.6
5	quitosán 2, HCl 0.25N, ác. láurico 1, tween 80 0.1	5.6
6*	Acetato de vinilo - ester acrílico más fungicida Grado alimenticio	5.6

* Es un recubrimiento comercial BRILLABEKAM (Alimentaria Mexicana Bekarem, S.A. de C.V.) recomendado su uso en la industria Cárnica y Alimentaria. No se especifica el fungicida.

Resultados y Discusión

Aislamiento e identificación de patógenos del aguacate

Los microorganismos aislados y purificados fueron identificados como *Colletotrichum sp.* y *Diplodia sp.* En aguacates sanos 1/2 sazón fueron inoculados subcutáneamente con estos hongos evidenciándose los primeros signos de enfermedad a

Cuadro 3. Condiciones en las que se llevó a cabo la valoración *in vivo* de las películas de quitosán.

Variables	Experimento				
	A	B	C	D	E
Estado de madurez	Sazón	Sazón	½ sazón	½ sazón	½ sazón
HR	-50%	-50%	-50%	75-80 %	75-80 %
Temperatura	27 ± 2°C	27 ± 2°C	27 ± 2°C	27 ± 2°C 3 a 7°C	27 ± 2°C 10°C
Película aplicada	1 cuadro 1	1 a la 6 cuadro 2	1 a la 6 cuadro 2	4 y 5 cuadro 2	4 y 5 cuadro 2
Duración del experimento	6 días	6 días	6 días	6 días ambiente 19 días en refrigeración	6 días 15 días en refrigeración
Unidad experimental	3 lotes de 61 frutos c/u	7 lotes de 3 frutos c/u	7 lotes de 3 frutos c/u	4 lotes de 27 frutos c/u 2 lotes de 10 frutos c/u como testigos	6 lotes de 4 frutos c/u

los 2 días, confirmando de esta manera la patogenicidad de los microorganismos.

Colletotrichum sp. causante de la antracnosis; el aspecto colonial es de anillos concéntricos, de micelios blancos al principio tornándose color naranja o salmón, con espículas oscuras entre los conidióforos; conidias ovoides ligeramente curvadas [9, 21].

Diplodia sp. produce la pudrición de pedúnculo, son cepas planas de textura algodonosa gris oscuro con formación de picnidios inmersos, elipsoidales y conidias oscuras o casi negras. Su incidencia y signos coinciden con lo establecido en la bibliografía [9, 21].

En el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA), las cepas de *Colletotrichum sp.* crecieron de 6-8 cm. en 72 h; en agar Sabouraud se desarrollaron colonias de 3-5 cm. En el mismo tiempo, en agar nutritivo el crecimiento fue lento y limitado. Con respecto a las cepas de *Diplodia sp.* el diámetro en 72 h, fue de 5-7 cm. en agar Sabouraud; y nutritivo; se puede establecer que de los tres medios utilizados como sustrato, el agar papa dextrosa es el adecuado para estos hongos.

Preparación de las películas

Para la preparación de las películas sencillas (cuadro 1), se utilizaron varios ácidos resultando en orden descendente la solubilidad del quitosán como sigue: acético, ascórbico, láctico y cítrico. En este último, la solubilidad se vió restringida; esto fue realizado experimentalmente con el objeto de obtener una solución de quitosán cristalina con alta solubilidad y un pH cercano al del fruto.

En las películas reformuladas también se utilizaron diferentes ácidos (cuadro 2) con estos ácidos la solubilidad del quitosán fue buena, pero con características diferentes. Con ácido fórmico la solución fue más viscosa en comparación con el acético y clorhídrico. Por lo tanto existe una diferencia entre ambos bloques de películas, las llamadas sencillas, las cuales son exclusivamente de quitosán, y el segundo bloque designadas películas reformuladas, a las cuales se les incorporó el ácido graso (láurico) y tween con el fin de modificar tanto las características de hidrofobicidad y surfactación [15, 17, 18].

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vitro*

Las pruebas para demostrar la actividad antifúngica del quitosán mostraron inhibición de 100% para ambas cepas aisladas, en las concentraciones 0,50, 0,25, y 0,10% p/v, en agar papa dextrosa y mantenidas a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. De acuerdo a lo anterior, el quitosán tiene un efecto antifúngico como lo reportado por El Graouth 1992 [14-16].

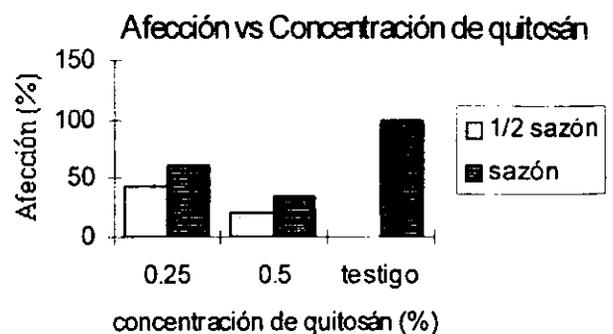
La comparación de estos resultados con los reportados en la literatura es difícil, ya que existen diferencias en la concentración utilizada de quitosán así como en los géneros de hongos manejados y en las especies frutícolas utilizadas; conse-

cuentemente son de esperarse respuestas diferentes en el grado de susceptibilidad al quitosán [16].

Valoración de la actividad antifúngica del quitosán *in vivo*

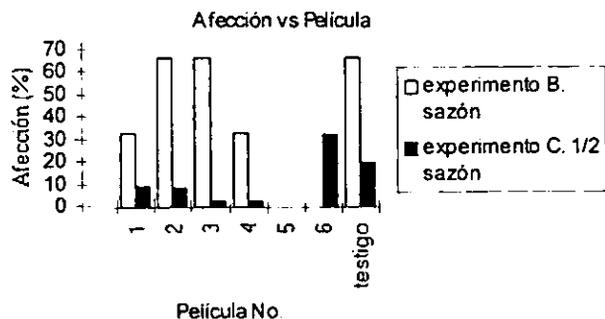
En las pruebas hechas para valorar los dos bloques de películas, se consideró en orden de importancia, la aparición de signos de ataque por microorganismos, pérdida fisiológica de peso (P.F.P.) y como consecuencia, la calidad final del fruto tratado con las diferentes películas de quitosán. Debido a que las lesiones por hongos catalogadas como latentes representan el mayor problema postcosecha en aguacate [9, 19], la aplicación de una película con actividad antifúngica en el fruto fresco, como técnica de conservación, tendrá efecto durante el proceso de maduración del fruto y por lo tanto se considera que la pérdida fisiológica de peso es importante, así como la apariencia. En investigaciones realizadas con los hongos *B. cinerea* y *R. stolonifer*, que afectan a fresa, el quitosán se ha utilizado con el fin de inhibirlos, además de evaluar su efecto en los atributos de calidad del fruto [14-16].

Los resultados por afección de microorganismos se valoraron a través del porcentaje de aguacates dañados de acuerdo a los signos que se presentaron en el fruto. A temperatura ambiente son evidentes los efectos de las películas sencillas, ya que al compararse los frutos tratados con el testigo, éstos presentaron un 100% de afección comparado con un 60% de los tratados a la concentración 0,25% de quitosán y 34% a la concentración 0,5% de quitosán en estado sazón (gráfica 1).



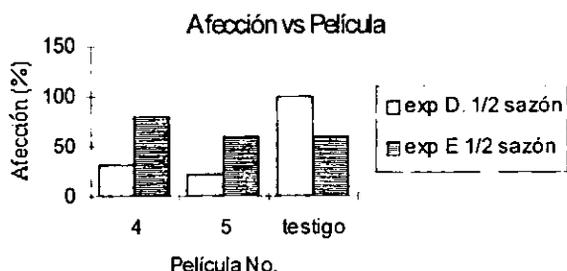
Gráfica 1.

Al aplicar las películas reformuladas (gráfica 2) a temperatura ambiente en estado sazón, también resulta relevante la acción antifúngica, ya que las películas 5 y 6 manifiestan 0% de afección por microorganismos comparado con un 66% que se obtiene con las películas 2, 3 y testigo; sin embargo, se presentaron alteraciones fisiológicas como maduración anormal, lo cual repercute considerablemente en los atributos de calidad; situación similar se presentó en el experimento D y E, por lo que no se pudo evaluar el porcentaje de afección como en los demás experimentos. En el experimento C en el que se emplea aguacate 1/2 sazón, la afección mas alta en las películas aplicadas es de 33% en la película 6, en contraste al 0% en la película 5 y 20% en el testigo.



Gráfica 2.

Cuando la temperatura de almacenamiento es de 3-7°C la afección por microorganismos en el experimento D (gráfica 3), fue de 32,43%, 22,22% y 100% para la película 4, 5 y testigo, respectivamente. En el experimento E a temperatura de 10°C se tienen porcentajes de afección del 80% en la película 4; mientras que 60% en la 5 y en el testigo.



Gráfica 3.

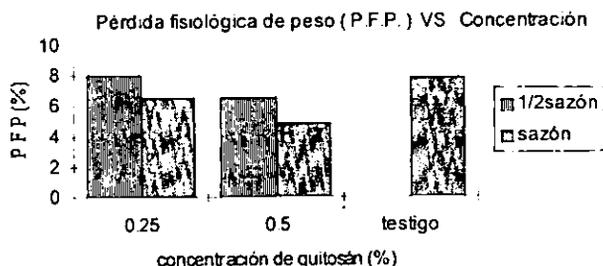
Esto indica que a temperatura de refrigeración (3-7°C) el porcentaje de afección es menor en las dos películas aplicadas y se puede decir, que el estado de madurez es determinante para evaluar el efecto de la película, debido a que los microorganismos que se inhiben son del tipo latente. Sin embargo, algunos autores establecen el uso de técnicas de atmósferas modificadas combinadas con refrigeración con el objeto de controlar el proceso de maduración y consecuentemente el desarrollo de estos patógenos [9-11].

Todos los resultados fueron tratados con la técnica estadística de ji cuadrada basándose en el número de frutos sanos y dañados en cada uno de los experimentos. Resultando diferencias significativas en el experimento D, en donde se evidencian diferencias entre las películas.

Efecto de las películas en la pérdida fisiológica de peso (P.F.P.)

A temperatura ambiente la vida de almacenamiento es de 6 días, independientemente del estado de madurez. La pérdida fisiológica de peso (P.F.P.) fue valorada en cinco experimen-

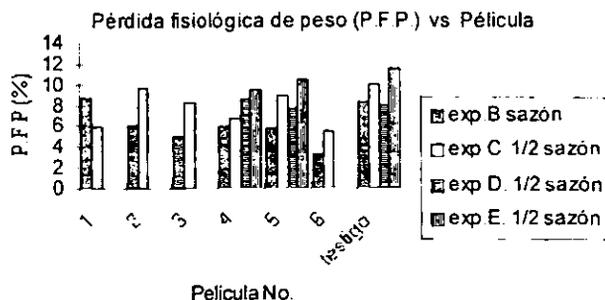
tos considerando como variables independientes: película, temperatura y estado de madurez. En primer lugar, se aplicaron las películas sencillas a temperatura ambiente en frutos 1/2 sazón y sazón, resultando 6,55% y 4,82%, respectivamente, de P.F.P. a la concentración 0,5% de quitosán, con el primer estado de madurez, a la concentración 0,25% de quitosán, 8,04% y 6,49% en sazón, y finalmente 7,85% en el testigo en estado sazón (gráfica 4). Con esto se establece que el porcentaje de P.F.P. a la concentración 0,5% de quitosán es relativamente menor con respecto a la concentración 0,25% para ambos estados de madurez, con relación al testigo.



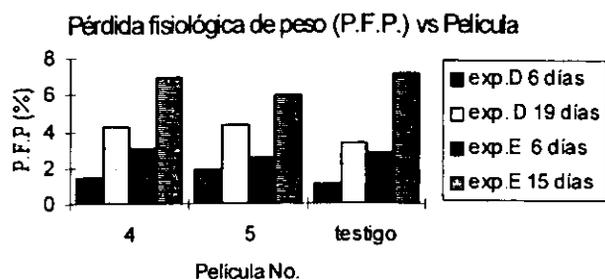
Gráfica 4.

Los resultados de la P.F.P. con las películas reformuladas a temperatura ambiente, se pueden ver en la gráfica 5 en el experimento B utilizando aguacates en estado sazón el porcentaje más alto de P.F.P. es de 8,64% cuando se aplicó la película 1 y de 3,25% en la película 6 y 8,22% en el testigo. En estado 1/2 sazón (experimentos C, D y E), en el primero (C) la P.F.P. se tiene el menor valor en la película 6 ó comercial de 5,48% y en las reformuladas con quitosán 5,95% para la película 1 y 6,65% para la 4, siendo el valor de P.F.P. de 9,71% en la película 2 y 10% para el testigo.

En los dos últimos experimentos (D y E) donde se aplicaron las películas 4 y 5 los porcentajes extremos son de 7,58% y de 10,42% para frutos tratados, comparado con 7,97% y 11,44% para los testigos.



Gráfica 5.



Gráfica 6.

Con respecto al porcentaje de P.F.P. a temperatura ambiente fue menor al 10% en la mayoría de las películas, excepto en el experimento E, donde la P.F.P. para la película 5 fue de 10,42%, mientras que en los experimentos C y E los testigos son de 10% y 11,44% respectivamente.

Los resultados de P.F.P. en el experimento D, (gráfica 6) cuando la variable independiente temperatura es de 3 a 7°C, a los seis días se tienen P.F.P. similares tanto en frutos tratados como en el testigo; al finalizar el experimento a los 19 días se tienen P.F.P. menores al 5%. En el experimento E, a 10°C en seis días la P.F.P. está entre 2 a 3% y a los 15 días la P.F.P. está por debajo del 7%, excepto para el testigo con 7,12%.

Sin embargo, al comparar el comportamiento de los frutos en temperaturas de refrigeración a los seis días y a un mismo estado de madurez esta variable (P.F.P.) a temperatura de 3 a 7°C fue menor que a 10°C siendo la diferencia menor al 2%.

Se aplicó el tratamiento estadístico de anova para experimentos con observaciones repetidas [25] vía el paquete STATISTICA de los experimentos B al E, para determinar las diferencias entre los valores medios de P.F.P. con un nivel de significancia de 0,05 (tabla 1), resultando que la variable tiempo es significativa a temperatura ambiente y de refrigeración en todos los experimentos y no así la interacción de las variables película y tiempo pero, significativa para el experimento D tanto a temperatura ambiente como de refrigeración, siendo la tendencia de las curvas de P.F.P. descendente conforme al tiempo.

Tabla 1. Resultados de anova.

Experimento	Temperatura	Significativo Tiempo	Significativo Película/Tiempo
B	Ambiente	Sí	no
C	Ambiente	Sí	no
D	Ambiente	Sí	Sí
	Refrigeración	Sí	Sí
E	Ambiente	Sí	no
	Refrigeración	Sí	no

Con lo anterior se establece que la P.F.P. y el tiempo de almacenamiento varían dependiendo del estado de madurez, de la película y la temperatura.

Conclusiones

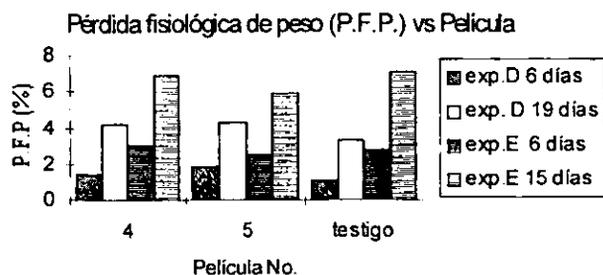
- Los microorganismos que afectan la calidad del aguacate variedad Hass corresponden a los géneros *Colletotrichum sp* y *Diplodia sp*.
- El quitosán como inhibidor del crecimiento de los microorganismos que causan la antracnosis y la pudrición del pedúnculo, se manifiesta desde la concentración de 0,25% hasta 2%.
- Las películas simples a base de quitosán aplicadas a los frutos y almacenados a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$, se alcanza una vida útil de 6 días; con pérdidas fisiológicas de peso de menos del 10 %, y de una calidad aceptable.
- El quitosán como molécula básica al 1 y 2 % p/v y combinada con ácidos grasos, con surfactantes y ajustando el pH a 5,6, se constituye una película cubriente que responde inhibiendo el crecimiento de los microorganismos, manteniéndose a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6 días.
- Cuando la temperatura de almacenamiento es de 3-7°C con las mismas consideraciones que la conclusión anterior, la calidad del producto es superior, en términos del grado de afección, vida útil en promedio 24 días y con pérdidas fisiológicas de peso alrededor del 10%.

Recomendaciones

- El recubrimiento de quitosán se le debe dar al fruto en un estado de madurez $\frac{1}{2}$ sazón (verde-duro) para obtener una inhibición adecuada.
- Las concentraciones base para formular las películas debe ser mínimo del 1% de quitosán y usando como disolvente el ácido acético.
- Considerar en las formulaciones subsecuentes el uso de ácidos grasos y de otros componentes que permitan modificar las características físicas y de permeabilidad.

Bibliografía

1. Importaciones y Exportaciones, S.A.R.H., 1990-1994, Reportadas por el Banco Mexicano, Dirección General de Estadísticas.
2. Mercados del exterior frutas. S.N.I.M.. volumen V, No. 21, Boletín Informativo semanal 25 de mayo de 1995. Servicio Nacional de Información de Mercados, Aragón No. 195. Col. Alamos C.P. 03400, México D.F.
3. El sector alimentario en México, 1988-93, INEGI, pp. 254.
4. Subsecretaría de Agricultura, Dirección General de Política Agrícola, S.A.R.H. Boletín informativo datos básicos del aguacate. octubre de 1994, México D.F.
5. Hernández, M.; Chávez, A.; Bourges, H., Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Publicaciones de la División de Nutrición-L-2, 10ª Edición, Instituto Nacional de la Nutrición, 1987, pp. 9.



Gráfica 6.

Con respecto al porcentaje de P.F.P. a temperatura ambiente fue menor al 10% en la mayoría de las películas, excepto en el experimento E, donde la P.F.P. para la película 5 fue de 10,42%, mientras que en los experimentos C y E los testigos son de 10% y 11,44% respectivamente.

Los resultados de P.F.P. en el experimento D, (gráfica 6) cuando la variable independiente temperatura es de 3 a 7°C, a los seis días se tienen P.F.P. similares tanto en frutos tratados como en el testigo; al finalizar el experimento a los 19 días se tienen P.F.P. menores al 5%. En el experimento E, a 10°C en seis días la P.F.P. está entre 2 a 3% y a los 15 días la P.F.P. está por debajo del 7%, excepto para el testigo con 7,12%.

Sin embargo, al comparar el comportamiento de los frutos en temperaturas de refrigeración a los seis días y a un mismo estado de madurez esta variable (P.F.P.) a temperatura de 3 a 7°C fue menor que a 10°C siendo la diferencia menor al 2%.

Se aplicó el tratamiento estadístico de anova para experimentos con observaciones repetidas [25] vía el paquete STATISTICA de los experimentos B al E, para determinar las diferencias entre los valores medios de P.F.P. con un nivel de significancia de 0,05 (tabla 1), resultando que la variable tiempo es significativa a temperatura ambiente y de refrigeración en todos los experimentos y no así la interacción de las variables película y tiempo pero, significativa para el experimento D tanto a temperatura ambiente como de refrigeración, siendo la tendencia de las curvas de P.F.P. descendente conforme al tiempo.

Tabla 1. Resultados de anova.

Experimento	Temperatura	Significativo Tiempo	Significativo Película/Tiempo
B	Ambiente	Sí	no
C	Ambiente	Sí	no
D	Ambiente	Sí	Sí
	Refrigeración	Sí	Sí
E	Ambiente	Sí	no
	Refrigeración	Sí	no

Con lo anterior se establece que la P.F.P. y el tiempo de almacenamiento varían dependiendo del estado de madurez, de la película y la temperatura.

Conclusiones

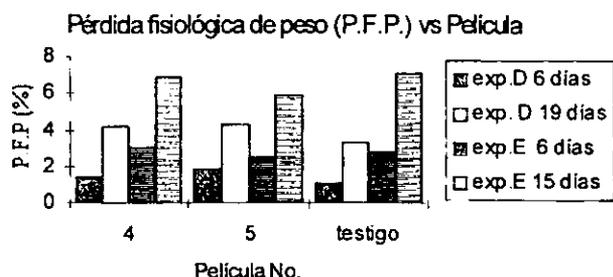
- Los microorganismos que afectan la calidad del aguacate variedad Hass corresponden a los géneros *Colletotrichum sp* y *Diplodia sp*.
- El quitosán como inhibidor del crecimiento de los microorganismos que causan la antracnosis y la pudrición del pedúnculo, se manifiesta desde la concentración de 0,25% hasta 2%.
- Las películas simples a base de quitosán aplicadas a los frutos y almacenados a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$, se alcanza una vida útil de 6 días; con pérdidas fisiológicas de peso de menos del 10 %, y de una calidad aceptable.
- El quitosán como molécula básica al 1 y 2 % p/v y combinada con ácidos grasos, con surfactantes y ajustando el pH a 5,6, se constituye una película cubriente que responde inhibiendo el crecimiento de los microorganismos, manteniéndose a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6 días.
- Cuando la temperatura de almacenamiento es de 3-7°C con las mismas consideraciones que la conclusión anterior, la calidad del producto es superior, en términos del grado de afección, vida útil en promedio 24 días y con pérdidas fisiológicas de peso alrededor del 10%.

Recomendaciones

- El recubrimiento de quitosán se le debe dar al fruto en un estado de madurez $\frac{1}{2}$ sazón (verde-duro) para obtener una inhibición adecuada.
- Las concentraciones base para formular las películas debe ser mínimo del 1% de quitosán y usando como disolvente el ácido acético.
- Considerar en las formulaciones subsecuentes el uso de ácidos grasos y de otros componentes que permitan modificar las características físicas y de permeabilidad.

Bibliografía

1. Importaciones y Exportaciones, S.A.R.H., 1990-1994, Reportadas por el Banco Mexicano, Dirección General de Estadísticas.
2. Mercados del exterior frutas, S.N.I.M., volumen V, No. 21, Boletín Informativo semanal 25 de mayo de 1995. Servicio Nacional de Información de Mercados, Aragón No. 195, Col. Alamos C P. 03400, México D.F.
3. El sector alimentario en México, 1988-93, INEGI, pp. 254.
4. Subsecretaría de Agricultura, Dirección General de Política Agrícola, S.A.R.H. Boletín informativo datos básicos del aguacate, octubre de 1994, México D.F.
5. Hernández, M.; Chávez, A.; Bourges, H., Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Publicaciones de la División de Nutrición-L-2, 10ª Edición, Instituto Nacional de la Nutrición, 1987, pp. 9.



Gráfica 6.

Con respecto al porcentaje de P.F.P. a temperatura ambiente fue menor al 10% en la mayoría de las películas, excepto en el experimento E, donde la P.F.P. para la película 5 fue de 10,42%, mientras que en los experimentos C y E los testigos son de 10% y 11,44% respectivamente.

Los resultados de P.F.P. en el experimento D, (gráfica 6) cuando la variable independiente temperatura es de 3 a 7°C, a los seis días se tienen P.F.P. similares tanto en frutos tratados como en el testigo; al finalizar el experimento a los 19 días se tienen P.F.P. menores al 5%. En el experimento E, a 10°C en seis días la P.F.P. está entre 2 a 3% y a los 15 días la P.F.P. está por debajo del 7%, excepto para el testigo con 7,12%.

Sin embargo, al comparar el comportamiento de los frutos en temperaturas de refrigeración a los seis días y a un mismo estado de madurez esta variable (P.F.P.) a temperatura de 3 a 7°C fue menor que a 10°C siendo la diferencia menor al 2%.

Se aplicó el tratamiento estadístico de anova para experimentos con observaciones repetidas [25] vía el paquete STATISTICA de los experimentos B al E, para determinar las diferencias entre los valores medios de P.F.P. con un nivel de significancia de 0,05 (tabla 1), resultando que la variable tiempo es significativa a temperatura ambiente y de refrigeración en todos los experimentos y no así la interacción de las variables película y tiempo pero, significativa para el experimento D tanto a temperatura ambiente como de refrigeración, siendo la tendencia de las curvas de P.F.P. descendente conforme al tiempo.

Tabla 1. Resultados de anova.

Experimento	Temperatura	Significativo Tiempo	Significativo Película/Tiempo
B	Ambiente	Sí	no
C	Ambiente	Sí	no
D	Ambiente	Sí	Sí
	Refrigeración	Sí	Sí
E	Ambiente	Sí	no
	Refrigeración	Sí	no

Con lo anterior se establece que la P.F.P. y el tiempo de almacenamiento varían dependiendo del estado de madurez de la película y la temperatura.

Conclusiones

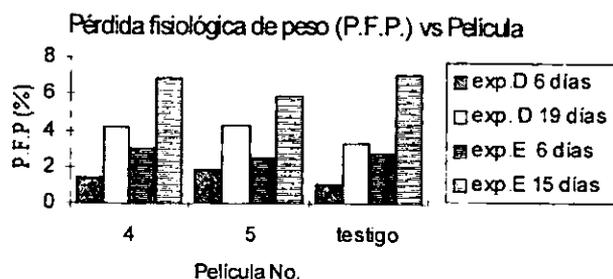
- Los microorganismos que afectan la calidad del aguacate variedad Hass corresponden a los géneros *Colletotrichum sp* y *Diplodia sp*.
- El quitosán como inhibidor del crecimiento de los microorganismos que causan la antracnosis y la pudrición del pedúnculo, se manifiesta desde la concentración de 0,25% hasta 2%.
- Las películas simples a base de quitosán aplicadas a los frutos y almacenados a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$, se alcanza una vida útil de 6 días; con pérdidas fisiológicas de peso de menos del 10 %, y de una calidad aceptable.
- El quitosán como molécula básica al 1 y 2 % p/v y combinada con ácidos grasos, con surfactantes y ajustando el pH a 5,6, se constituye una película cubriente que responde inhibiendo el crecimiento de los microorganismos, manteniéndose a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6 días.
- Cuando la temperatura de almacenamiento es de 3-7°C con las mismas consideraciones que la conclusión anterior, la calidad del producto es superior, en términos del grado de afección, vida útil en promedio 24 días y con pérdidas fisiológicas de peso alrededor del 10%.

Recomendaciones

- El recubrimiento de quitosán se le debe dar al fruto en un estado de madurez $\frac{1}{2}$ sazón (verde-duro) para obtener una inhibición adecuada.
- Las concentraciones base para formular las películas debe ser mínimo del 1% de quitosán y usando como disolvente el ácido acético.
- Considerar en las formulaciones subsecuentes el uso de ácidos grasos y de otros componentes que permitan modificar las características físicas y de permeabilidad.

Bibliografía

1. Importaciones y Exportaciones, S.A.R.H., 1990-1994, Reportadas por el Banco Mexicano, Dirección General de Estadísticas.
2. Mercados del exterior frutas, S.N.I.M., volumen V, No. 21, Boletín Informativo semanal 25 de mayo de 1995. Servicio Nacional de Información de Mercados, Aragón No. 195, Col. Alamos C.P. 03400, México D.F.
3. El sector alimentario en México, 1988-93, INEGI, pp. 254.
4. Subsecretaría de Agricultura, Dirección General de Política Agrícola, S.A.R.H. Boletín informativo datos básicos del aguacate, octubre de 1994, México D.F.
5. Hernández, M.; Chávez, A.; Bourges, H., Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Publicaciones de la División de Nutrición-L-2, 10ª Edición, Instituto Nacional de la Nutrición, 1987, pp. 9.



Gráfica 6.

Con respecto al porcentaje de P.F.P. a temperatura ambiente fue menor al 10% en la mayoría de las películas, excepto en el experimento E, donde la P.F.P. para la película 5 fue de 10,42%, mientras que en los experimentos C y E los testigos son de 10% y 11,44% respectivamente.

Los resultados de P.F.P. en el experimento D, (gráfica 6) cuando la variable independiente temperatura es de 3 a 7°C, a los seis días se tienen P.F.P. similares tanto en frutos tratados como en el testigo; al finalizar el experimento a los 19 días se tienen P.F.P. menores al 5%. En el experimento E, a 10°C en seis días la P.F.P. está entre 2 a 3% y a los 15 días la P.F.P. está por debajo del 7%, excepto para el testigo con 7,12%.

Sin embargo, al comparar el comportamiento de los frutos en temperaturas de refrigeración a los seis días y a un mismo estado de madurez esta variable (P.F.P.) a temperatura de 3 a 7°C fue menor que a 10°C siendo la diferencia menor al 2%.

Se aplicó el tratamiento estadístico de anova para experimentos con observaciones repetidas [25] vía el paquete STATISTICA de los experimentos B al E, para determinar las diferencias entre los valores medios de P.F.P. con un nivel de significancia de 0,05 (tabla 1), resultando que la variable tiempo es significativa a temperatura ambiente y de refrigeración en todos los experimentos y no así la interacción de las variables película y tiempo pero, significativa para el experimento D tanto a temperatura ambiente como de refrigeración, siendo la tendencia de las curvas de P.F.P. descendente conforme al tiempo.

Tabla 1. Resultados de anova.

Experimento	Temperatura	Significativo Tiempo	Significativo Película/Tiempo
B	Ambiente	Sí	no
C	Ambiente	Sí	no
D	Ambiente	Sí	Sí
	Refrigeración	Sí	Sí
E	Ambiente	Sí	no
	Refrigeración	Sí	no

Con lo anterior se establece que la P.F.P. y el tiempo de almacenamiento varían dependiendo del estado de madurez, de la película y la temperatura.

Conclusiones

- Los microorganismos que afectan la calidad del aguacate variedad Hass corresponden a los géneros *Colletotrichum sp* y *Diplodia sp*.
- El quitosán como inhibidor del crecimiento de los microorganismos que causan la antracnosis y la pudrición del pedúnculo, se manifiesta desde la concentración de 0,25% hasta 2%.
- Las películas simples a base de quitosán aplicadas a los frutos y almacenados a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$, se alcanza una vida útil de 6 días; con pérdidas fisiológicas de peso de menos del 10 %, y de una calidad aceptable.
- El quitosán como molécula básica al 1 y 2 % p/v y combinada con ácidos grasos, con surfactantes y ajustando el pH a 5.6, se constituye una película cubriente que responde inhibiendo el crecimiento de los microorganismos, manteniéndose a temperatura ambiente $27 \pm 2^\circ\text{C}$ por 6 días.
- Cuando la temperatura de almacenamiento es de 3-7°C con las mismas consideraciones que la conclusión anterior, la calidad del producto es superior, en términos del grado de afección, vida útil en promedio 24 días y con pérdidas fisiológicas de peso alrededor del 10%.

Recomendaciones

- El recubrimiento de quitosán se le debe dar al fruto en un estado de madurez $\frac{1}{2}$ sazón (verde-duro) para obtener una inhibición adecuada.
- Las concentraciones base para formular las películas debe ser mínimo del 1% de quitosán y usando como disolvente el ácido acético.
- Considerar en las formulaciones subsecuentes el uso de ácidos grasos y de otros componentes que permitan modificar las características físicas y de permeabilidad.

Bibliografía

1. Importaciones y Exportaciones, S.A.R.H., 1990-1994, Reportadas por el Banco Mexicano, Dirección General de Estadísticas.
2. Mercados del exterior frutas, S.N.I.M., volumen V, No. 21, Boletín Informativo semanal 25 de mayo de 1995. Servicio Nacional de Información de Mercados, Aragón No. 195, Col. Alamos C.P. 03400, México D.F.
3. El sector alimentario en México, 1988-93, INEGI, pp. 254.
4. Subsecretaría de Agricultura, Dirección General de Política Agrícola, S.A.R.H. Boletín informativo datos básicos del aguacate, octubre de 1994, México D.F.
5. Hernández, M.; Chávez, A.; Bourges, H., Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos. Publicaciones de la División de Nutrición-L-2, 10ª Edición, Instituto Nacional de la Nutrición, 1987, pp. 9.

6. Bialc, J.B.; Young, R.E., The avocado pear. En: Hulme A.C. (Ed.). *The biochemistry of fruits and their products*. (1971) Vol. 2 London Academic Press., pp. 2-63.
7. Rodríguez Suppo, F., El aguacate. De AG editor S.A. México. 1982, pp. 16-21, 45-53, 141.
8. Wills, R.H.H.; Lee, T.H.; Mc Glasson, W.B.; Hall, E.G.; Graham D. *Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post-Recolección*. Edit. Acribia, pp. 18-27, 37-41, 58-67.
9. Yahia, E.M.; Higuera, C.I. *Fisiología y Tecnología de productos hortícolas*, Ed. Limusa 1992, pp. 21-23, 201-205.
10. Yahia, E.M. *Horticultura Internacional* 1995, 7 y 8, pp 37-39, 20-25.
11. Yahia, E.M. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Apartado Postal 1735, Hermosillo, Sonora, 83000, México.
12. Knorr, D. *Food Technol.* 1991, 114-121.
13. Muzzarelli, R.A.A., *Chitin, Japan Seminary on Advances in chitin, chitosan and Related Enzymes*, Pergamon Press, 1977, Fifth edition, pp. 30-44.
14. El Graouth, A.; Arul, J.; Ponnampalom, R.; Boulet, M., *J. Food Sci.*, 1991, 56, 1618-1631.
15. El Graouth, A.; Ponnampalom, R.; Castarge, F.; Arul, J. *Hort. Sci.*, 1992, 27, 1016-1017.
16. El Graouth, A.; Arul, J.; Grenier, J.; Asselin, A. *Phytopathology*, 1992, 82, 398-402.
17. Wong, D.W.S.; Gastineau, F.A.; Gregorski, K.S.; Tillin, Sandra J.; Pavlath, Attila E. *J. Agric. Food Chem.* 1992, 40, 540-544.
18. Vojdani F.; Torres J.A. *J. Food Sci.* 1990, 55, 841-846.
19. Lazaro B.V., "Incidencia de Antracnosis en Aguacate Variedad Hass" Tesis, 1985 FES-C, UNAM, pp. 26-29.
20. Queralt, G.E. *El cultivo moderno del aguacate*. 1987. Ed. De Vecchi, S.A. Barcelona, pp. 114.
21. Streets, R. B. *The diagnosis of plant diseases*. 1975. A field and laboratory manual emphasizing the most practical methods for rapid identification. The University of Arizona Press. fourth printing, pp. 7.13, 7.14.
22. Alimentaria Mexicana Bekarem, S.A. DE C.V. Carrion y Rubio No. 21 Sta. Martha Acatitla, C.P. 09510, México D.F.
23. García-Tinajero, R.; Córdoba-Ponce, R. *Manual Ilustrado de técnicas de laboratorio utilizadas en bacteriología y micología veterinarias de SARH*, 1988, pp. 257-262.
24. *Introducción a la Micología Industrial* George Smith Zaragoza España Ed. Acribia, pp. 332-337.
25. Méndez Posadas A.; Mundo E.; Marín S. T. *Monografías UNAM. Análisis de experimentos con observaciones repetidas*. Instituto de Investigaciones Aplicadas y en Sistemas. Vol. 4, No. 3, 1994, pp. 1-21

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA