



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

“ESTIMACION DEL EFECTO ANTIFUNGICO DE UNA PELICULA DE QITOSAN SOBRE LOS PARAMETROS DE CALIDAD Y GRADO DE MADUREZ DE LA FRESA FRAGARIA VESCA VARIEDAD SOLANA DURANTE SU VIDA UTIL”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A N :

**MORALES ZAVALA JESUS
SALAZAR RANGEL A. NORMA**

ASESORES: Q.F.B. S. PATRICIA MIRANDA CASTRO
I.B.Q. LETICIA FIGUEROA VILLARREAL

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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 CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

AT'N: 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 la TESIS:

Estimación del efecto antifúngico de una película de Quitosán sobre
los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa Fragaria
vesca variedad solana durante su vida útil.

que presenta el pasante: Jesús Morales Zavala
con número de cuenta: 8937205-4 para obtener el TITULO de:
Ingeniero en Alimentos

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

AT E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 08 de Mayo del 2001

- PRESIDENTE M. en C. Clara Ines Alvarez Manrique *Clara Ines Alvarez M.*
- VOCAL Q.F.B. Susana Patricia Miranda Castro
- SECRETARIO Dra. Sara E. Valdés Martínez *Sara E. Valdés M.*
- PRIMER SUPLENTE I.Q.I. Oscar Germán Ibarra *Oscar Ibarra*
- SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza *Ma. de la Luz Zambrano*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
P R E S E N T E

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 la TESIS:

Estimación del efecto antifúngico de una película de Quitosán sobre
los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa Fragaria
vesca variedad solana durante su vida útil.

que presenta la pasante: Alejandra Norma Salazar Rengel
con número de cuenta: 8909806-B para obtener el TÍTULO de:
Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicha tesis 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 08 de Mayo del 2001

PRESIDENTE M. en C. Clara Ines Alvarez Manrique *Clara Ines Alvarez*

VOCAL Q.F.B. Susana Patricia Miranda Castro *Susana Patricia Miranda Castro*

SECRETARIO Dra. Sara E. Valdés Martínez *Sara E. Valdés Martínez*

PRIMER SUPLENTE I.Q.I. Oscar Germán Ibarra *Oscar Germán Ibarra*

SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza *Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza*

AGRADECIMIENTOS.

A la FES Cuautitlan.

Por habernos permitido nuestro desarrollo tanto académico como moral.

A nuestros asesores Patricia S. Miranda Castro y Leticia Figueroa Villarreal.

Por brindarnos su amistad y apoyo incondicional en la asesoría y elaboración de este trabajo, muchas gracias.

Al jurado.

Por haber participado en la evaluación, mejoramiento y depuración de este proyecto. Mil gracias.

A todos nuestros amigos y compañeros de la carrera.

Por todos los momentos y experiencias que compartimos juntos y que significaron algo especial en nuestras vidas. En especial a: Elizabeth, Eva, José Luis, y Toño.

DEDICATORIAS.

A Dios.

Por darme el acierto al empezar
dirección al progresar,
y perfección al acabar. Por estar
siempre presente en mi vida
y darme la fuerza necesaria
para continuar con mis metas.

A mis padres.

Madre.

A ti en especial porque has sabido ser una brújula en mi sendero por la vida; a ti que has dado todo de ti para que este momento sea posible. Eres la persona que más quiero y admiró en la vida. Tu fuerza y carácter te han llevado a ser lo que eres una super marmota. Gracias le doy a Dios y a la vida por tenerte.

En esta tesis plasmó todos tus esfuerzos en la vida para que yo pudiera alcanzar este objetivo.

Padre.

A mi padre que se nos adelantó en el camino
y que tarde o temprano lo alcanzaremos,
te dedicó este trabajo sabiendo que donde te encuentres
estarás orgulloso de mi y yo de ti.

Mi alma y mi corazón son una extensión de tu ser.

Al Celaya.

A ti que a pesar de ser algo intangible, lo eres tangible en mi alma y en mi corazón, estoy impregnado de tu ser.

¡Que dulces pasan junto a ti las horas!
¡Ay! ¡si supieras lo que tu me inspiras!
¡Si vieras cómo sufro cuando pierdes,
y como tiemblo cuando ganas!

A mis hermanos.

Santiago, Graciela, Sonia.

Por su apoyo incondicional en cada momento de mi vida. Gracias por su comprensión y cariño.

Santiago, gracias por tu compañía y amistad, ya que eres mi mejor amigo; somos en verdad uno solo. Para que quiero amigos si te tengo a ti. Somos hermanos de sangre y de equipo. También te doy gracias a ti Norma por querer como quieres a mi hermano

Memo.

Te conozco desde que era un niño, y a lo largo de todo este tiempo te he llegado, aunque no lo creas, a querer como si fueras un hermano mayor. Te has portado excelente conmigo y con mi hermano. Gracias.

Graciela, gracias por todo tu apoyo. Te quiero y admiro mucho, yo se que nunca te lo digo, pero siempre lo pienso. Se que la vida te ha pagado muy mal, pero ten presente que tienes a tu lado a una familia que te quiere mucho, y sobre todo tienes a un hijo que será tu recompensa en un futuro no muy lejano.

Sonia, gracias por ser mi confidente, tu mas que nadie sabes por lo que he pasado, por lo que te digo ¡Muchas gracias por escucharme a cada momento!. Te quiero mucho.

A mis sobrinos.

Cristian, Lizbeth y Bethzua. Para que este trabajo sirva de ejemplo e inspiración para su vida. Los quiero mucho.

A mis abuelitos y tíos.

Por su apoyo, consejos y cariño he podido lograr esta meta.

A Norma.

A ti porque sin tu ayuda me hubiera sido imposible llegar hasta aquí. Fuiste una fuente de inspiración y de ayuda durante el largo camino que seguimos juntos; compartimos muy gratos y amargos momentos que junto a ti eran insignificantes. Me hiciste muy feliz, y a pesar de que ya no somos una pareja, recuerda que en mi corazón guardas uno de los lugares más especiales.

Muchas gracias por todo, descáñdote que en la vida encuentres todo lo que has anhelado, porque sabes, te lo mereces.

A mi Madre.

Por brindarme todo su cariño y amor. Por su esfuerzo y comprensión para la culminación de mi carrera. Nunca te defraudare. Te quiero mucho.

A mis hermanos.

Marta, Jaime, Gabriel, Fabiola y Hugo. Que siempre me apoyaron y estuvieron junto a mí en los momentos más difíciles. Gracias y los quiero muchísimo.

A Jesús.

En especial para ti, por todo tu apoyo y cariño a lo largo de la carrera. Por ser la persona más buena que he conocido. Gracias por haberte cruzado en mi camino.

A Eva.

Por todos los momentos y experiencias que compartimos juntas, y que hicieron de la carrera algo inolvidable.

Familia Morales.

Por su apoyo incondicional a largo de todo el tiempo en que nos hemos conocido. Mil gracias.

NORMA.

INDICE.

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1. ANTECEDENTES	3
1. Generalidades de la fresa.	
1.1. Historia	4
1.2. Clasificación Botánica	4
1.3. Variedades	7
1.4. Aspectos Socioeconómicos	8
1.4.1. Producción	
1.4.2. Exportación	
1.4.3. Consumo aparente	
1.5. Composición Química	10
1.6. Cosecha y manejo postcosecha	11
1.7. Pérdidas postcosecha	12
1.7.1. Climatológicas	
1.7.2. Mecánicas	
1.7.3. Plagas	
1.7.4. Enfermedades	
2. Aspectos fisiológicos y bioquímicos durante la maduración de un fruto.	21
2.1. Aspectos fisiológicos	21
2.2. Cambios bioquímicos durante la maduración	23
2.2.1. Cambios en respiración	
2.2.2. Producción de etileno	
2.2.3. Carbohidratos	
2.2.4. Pigmentos	
2.2.5. Ácidos orgánicos	
2.2.6. Componentes menores	
3. Parámetros de calidad en frutos.	26
3.1. Métodos de Medición y Evaluación del color y textura	28
3.1.1. Color	
3.1.2. Textura	
4. Películas protectoras.	37
4.1. Tipos de películas	39
4.1.1. Películas hidrofóbicas	
4.1.2. Películas hidrofílicas	

4.1.3. Bicapas	
4.1.4. Sistemas multicomponentes	43
4.2. Métodos de aplicación de películas cubrientes	44
4.3. Propiedades de interacción entre película – fruto	
5. Generalidades sobre el quitosán.	45
5.1. Origen	45
5.2. Estructura	46
5.3. Propiedades del quitosán	46
5.4. Aplicaciones	47
5.4.1. Aplicaciones Químicas	
5.4.2. Aplicaciones Médicas y farmacéuticas	
5.4.3. Aplicaciones en Alimentos	
5.5. Métodos de obtención	50
II. OBJETIVOS	52
2.1 Objetivo General.	53
2.2 Objetivos Particulares.	53
2.3 Cuadro Metodológico.	54
III. MATERIALES Y MÉTODOS.	55
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	66
CONCLUSIONES GENERALES	99
BIBLIOGRAFÍA	101
ANEXOS	105

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla No.1. Principales variedades de fresa en México.	7
Tabla No.2. Exportación de fresas frescas.	9
Tabla No.3. Consumo aparente de fresa en nuestro país.	10
Tabla No.4. Composición química de la fresa.	10
Tabla No.5. Composición de azúcares en la fresa.	10
Tabla No.6. Parámetros de calidad en frutos.	27
Tabla No.7. Películas comestibles: Ventajas y Condiciones.	38
Tabla No.8. Tipos de películas.	38
Tabla No.9. Propiedades mecánicas de películas a base de quitosán.	40
Tabla No.10. Propiedades de barrera de diferentes películas a base de quitosán.	41
Tabla No.11. Propiedades mecánicas y de barrera de una película de quitosán y glicerina.	41
Tabla No.12. Propiedades de barrera de diferentes películas a base de quitosán-ácidos grasos.	42
Tabla No.13. Porcentaje de quitina en crustáceos, insectos, hongos y partes de moluscos.	45
Tabla No.14. Reducción bacteriana a exposición de quitosán.	48
Tabla No.15. Clasificación por grado de madurez en base al color.	56
Tabla No.16. Especificaciones sensoriales.	57
Tabla No.17. Clasificación por tamaño.	58
Tabla No.18. Especificaciones de tamaño.	58
Tabla No.19. Características coloniales de <u>Botrytis cinerea</u> y <u>Rhizopus stolonifer</u> .	61
Tabla No.20. Características microscópicas de <u>Botrytis cinerea</u>	62
Tabla No.21. Características microscópicas de <u>Rhizopus stolonifer</u> .	62
Tabla No.22. Por ciento de hongos.	64
Tabla No.23. Pérdida de peso.	65
Tabla No.24. Clasificación de las fresas por grupos de madurez.	67
Tabla No.25. Pruebas sensoriales en la fresa clasificada en distintos tipos de madurez.	68
Tabla No.26. Diámetros de las fresas según su estado de madurez.	69
Tabla No.27. Calidad de las fresas según su tamaño.	69
Tabla No.28. Pesos de las fresas en base a su estado de madurez.	69
Tabla No.29. Parámetros de color en fresas con distinto estado de madurez.	70
Tabla No.30. Textura de las fresas en los distintos grupos de madurez.	72
Tabla No.31. Por ciento de humedad en fresa con distinto grado de madurez.	73
Tabla No.32. Por ciento de sólidos solubles para la fresa.	74
Tabla No.33. Por ciento de azúcares reductores en la fresa en base a su estado de madurez.	75
Tabla No.34. Por ciento de acidez medida como ácido cítrico en la fresa.	76
Tabla No.35. Determinación del pH en las fresas clasificadas en diferentes estados de madurez.	77
Tabla No.36. Índice de palatabilidad en la fresa en sus distintos estados de madurez.	78
Tabla No.37. Diámetros de crecimiento de <u>Rhizopus stolonifer</u> en diferentes medios.	80
Tabla No.38. Diámetros de crecimiento de <u>Botrytis cinerea</u> en diferentes medios.	80
Tabla No.39. Características macroscópicas de las colonias en agar de papa natural.	81
Tabla No.40. Característica microscópicas de las colonias.	81
Tabla No.41. Efecto in vitro del quitosán sobre el desarrollo de <u>Rhizopus stolonifer</u> a diferentes concentraciones.	86
Tabla No.42. Efecto in vitro del quitosán sobre el desarrollo de <u>Botrytis cinerea</u> a diferentes concentraciones.	88

Tabla No.43. Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1% de quitosán.	90
Tabla No.44. Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1.2% de quitosán.	91
Tabla No.45. Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1.5% de quitosán.	92
Tabla No.46. Diferencia significativa entre los tratamientos.	92
Tabla No.47. Comparación del porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1% y 1.2% de quitosán.	93
Tabla No.48. Comparación del porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1.2% y 1.5% de quitosán.	93
Tabla No.49. Comparación del porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1% y 1.5% de quitosán.	93

INDICE DE FIGURAS.

Figura No.1. Estructura de la fresa.	5
Figura No.2. Diferentes formas de la fresa.	6
Figura No.3. Ciclo de la enfermedad de <u>Botrytis cinerea</u> .	18
Figura No.4. Ciclo de la enfermedad de <u>Rhizopus stolonifer</u> .	21
Figura No.5. Comparación de algunos cambios que sufre el fruto en su estado verde y maduro.	23
Figura No.6. Comportamiento respiratorio de un fruto climatérico y uno no climatérico.	24
Figura No.7. Grupo Flavilo.	29
Figura No.8. Estructura de la Pelargonidina.	29
Figura No.9. Sistema de coordenadas de color del sistema Ostwald, basado en el contenido de blanco y negro.	32
Figura No.10. Diagrama de color L, a* y b*.	33
Figura No.11. Esquema de algunos métodos disponibles para someter a los alimentos a una fuerza.	35
Figura No.12. Intercambio gaseoso de un fruto con una película.	44
Figura No.13. Estructura del quitosán.	46
Figura No.14. Efecto de las concentraciones de quitosán sobre las membranas microbianas.	49
Figura No.15. Influencia del quitosán para inhibir una infección fungal.	50
Figura No.16. Ejemplo de un método químico para obtener quitosán.	51
Figura No.17. Medición del diámetro ecuatorial y longitudinal de la fresa.	58
Figura No.18. Demostración de la penetración del cono de la superficie de la fresa.	59
Figura No.19. Forma predominante de la fresa.	68
Figura No.20. Esquemas a diferentes aumentos de <u>Rhizopus stolonifer</u> .	82
Figura No.21. Esquemas a diferentes aumentos de <u>Botrytis cinerea</u> .	82
Figura No.22. Características microscópicas de <u>Rhizopus stolonifer</u> .	83
Figura No.23. Características microscópicas de <u>Botrytis cinerea</u> .	83

RESUMEN.

Dada la importancia que desde hace varios años ha alcanzado la producción y consumo de fresa en México, el estudio de los métodos de conservación reviste de enorme importancia en la industria alimentaria, pues dependiendo de la manera en que se lleve a cabo, se obtendrá un producto de alta calidad y larga vida de anaquel.

El objetivo de este trabajo ha sido la estimación de efecto de la película de quitosán, como agente antifúngico, en fresas de la variedad Solana almacenadas a temperatura de refrigeración (5°C), sobre sus parámetros de calidad y grado de madurez.

Para esto, se ha hecho una determinación de los distintos parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos relacionados con la calidad y grado de madurez del fruto: pH, humedad, azúcares, color, textura, etc., para su selección; se aislaron, purificaron e identificaron a los principales hongos que atacan a la fresa siendo estos el Rhizopus stolonifer y Botrytis cinerea; se determinó el MIC de quitosán sobre fresas infectadas, siendo el 0.4% p/v para el Botrytis cinerea y de 1.0% p/v para el Rhizopus stolonifer; se evaluó el efecto que tuvo la película de quitosán en la pérdida de peso e inhibición de los hongos en las fresas, encontrándose que la película de quitosán ofrece cierta permeabilidad a los gases (CO₂ y O₂) pero no ofrece barrera para el vapor de agua proveniente del fruto, mientras que para el caso de los hongos se observó que la película influye en la inhibición de los hongos únicamente a temperatura de refrigeración y no así en condiciones ambientales. Finalmente, se evaluaron los parámetros de calidad y de madurez en las fresas cubiertas con quitosán a temperatura de refrigeración, obteniéndose que la película no afecta a los parámetros de calidad y no altera el proceso de maduración del fruto.

INTRODUCCION.

En el presente trabajo, el objeto de estudio fue la fresa Fragaria vesca variedad Solana cuya importancia radica en que dicho fruto representa una importante y creciente industria en México no sólo en estado fresco sino también procesada, y es por tales razones que actualmente hay un incremento en su área de cultivo, producción total y consumo. Además de contar con un mercado aceptable en Estados Unidos debido a su apariencia, olor y sabor, dando por lo tanto beneficios económicos a nuestro país.

Sin embargo, es muy conocido que en México diversos frutos se pierden por diferentes razones durante el tiempo que transcurre entre la cosecha y el consumo, tal es el caso de la fresa, la cual en estado fresco debe comercializarse lo más pronto posible por ser muy perecedera y al no contar con una cáscara que la proteja, hace que su piel sea muy susceptible a daños mecánicos y enfermedades microbianas debido al contacto directo con la tierra, además, de presentar una tasa de respiración elevada ($20-40\text{mg CO}_2/\text{Kg.h}$. a 20°C) haciendo necesaria su refrigeración. Dichos factores contribuyen a pérdidas económicas de importancia en el mercado a pesar de ser un fruto no climatérico y producir muy poco etileno (aproximadamente 0.1ml/Kg.h).

Cabe destacar que de las pérdidas antes mencionadas $2/3$ partes son debidas a pudriciones fúngicas causadas principalmente por Botrytis cinerea, Rhizopus stolonifer y el resto por daños mecánicos; demostrándose así que la vida útil de la fresa mexicana está determinada por una enfermedad fúngal. (Elhaidy, 1992).

Una alternativa a este problema se puede encontrar en sustancias que inhiban el desarrollo de los hongos y preserven su vida útil sin ser tóxicas. Es por tal razón, que el objetivo principal de este estudio fue evaluar el efecto que tiene una película de quitosán sobre el desarrollo fúngico y vida útil de la fresa a un estado de madurez caracterizado por un color rojo naranja en un 70% de su epidermis, textura firme y con características organolépticas propias del fruto.

Para el recubrimiento de la fresa se utilizó el quitosán, biopolímero que se obtiene de la desacetilación de la quitina, es no tóxico, digerible, biodegradable, presenta propiedades antimicrobianas y además la película de quitosán presenta un cierto grado de permeabilidad a los gases haciendo por lo tanto que dichas propiedades puedan ser aprovechadas en la conservación de la fresa para poder alargar su vida útil.

I. ANTECEDENTES

I. GENERALIDADES DE LA FRESA.

1.1 HISTORIA.

La fresa se cultiva desde los tiempos de los romanos y quizá desde los griegos, en ese entonces este fruto no se consideraba como un cultivo importante.

Las fresas silvestres se han podido desarrollar por todas partes del mundo, en diferentes climas y condiciones. Aproximadamente en el año 1300 se practicó el cultivo de las fresas en Europa y en Francia se sembraron como plantas de ornato en diferentes jardines.

En cuanto a América, el cultivo de la fresa se inicia en el año 1454 en la provincia Concepción de Penco, Chile, Sudamérica, siendo la especie Fragaria chilensis la especie que se cultivó en aquel entonces. En nuestro país el cultivo se inició aproximadamente en el año 1885 en San Angel, D.F. y de ahí fue llevado a la ciudad de Irapuato, Guanajuato en 1892 y más tarde se intentó cultivar en Sinaloa y Guanajuato. De estas plantaciones se derivan en parte los cultivos actuales, además de haberse introducido nuevas variedades de acuerdo a las necesidades de cada lugar.

La variedad de fresa cultivada en Irapuato fue la "Dr. Morere" procedente de Francia, posteriormente después se importó la variedad "Cuatro Estaciones" procedente de Estados Unidos de la cual se derivó la que actualmente se llama "Criolla. (Cruz Rojas, 1976).

En 1940, la superficie total cultivada en México era de 300 y en los años 1965-69 las áreas plantadas eran de las siguientes variedades: Solana, Florida 90, Aliso, Fresno y Tioga (Childers, 1981)

En 1948 se incrementó el área de cultivo y apareció la primera planta congeladora, iniciándose así el proceso industrializador del fruto (Cruz Rojas, 1976)

En la actualidad hay buena aceptación de las diferentes variedades de fresa y son los frutos más conocidos y consumidos en todo el mundo.

1.2 DESCRIPCIÓN BOTANICA.

La planta tiene un sistema radicular fasciculado, constituido por un gran número de raíces, la mayor parte de las cuales (90%) se encuentran localizadas superficialmente (2.5cm). El tallo está constituido por un eje corto de forma cónica llamado "corona", en el que se observan numerosas escamas foliares. De esta corona pueden partir, a través de yemas axilares, unas ramificaciones laterales denominadas estolones, que se caracterizan porque poseen entrenudos muy distanciados entre sí, en los que aparecen rosetas de hojas y raicillas adventicias. Estos estolones pueden a su vez ramificarse produciendo nuevos estolones. La corona puede asimismo dividirse, dando varias coronas "hijas"(Alsina, 1989).

Las hojas aparecen en roseta y se insertan en la corona. Son largamente pecioladas y provistas de dos estípulas rojizas. Su limbo está dividido en tres folíolos pediculados, de bordes aserrados, y con el envés recubierto de pelos. De las axilas de las hojas parten las inflorescencias, de pedúnculo más o menos largo, en forma de racimos, cimas bíparas o unifloras.

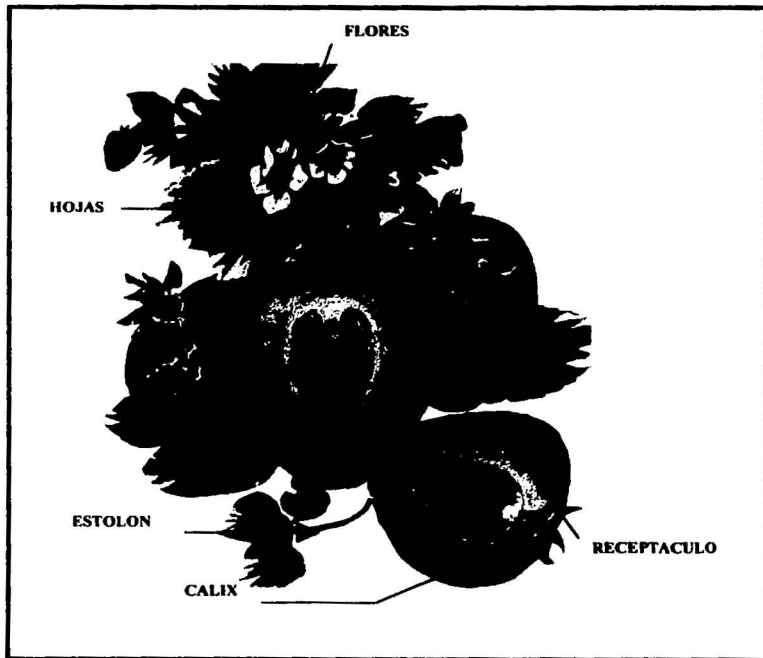
El fruto es un poliaquenio conocido botánicamente como "eterio", en que la parte comestible, que es el receptáculo hipertrofiado, aloja numerosos aquenios.

Fresa es el nombre vulgar del género Fragaria. También se da el nombre de fresa al receptáculo impropriamente denominado fruto en cuya superficie están implantados numerosos carpelos que, después de maduros, pasan a aquenios, o sea los verdaderos frutos, llamados erróneamente semillas, los cuales son secos, indehiscentes, monopermos y de pericarpio no adherido a la semilla.

El fruto o fresa es, como hemos dicho, el receptáculo de la flor, carnoso, azucarado y perfumado (Dale, 1991)

La forma de la fresa es variable y puede ser cónica, globulosa, esférica, etc. (Figura No.2). Su color en la madurez varía desde rojo anaranjado hasta rojo brillante y su peso puede oscilar entre 10 y 45 gramos.

Figura No. 1 Estructura de la fresa.



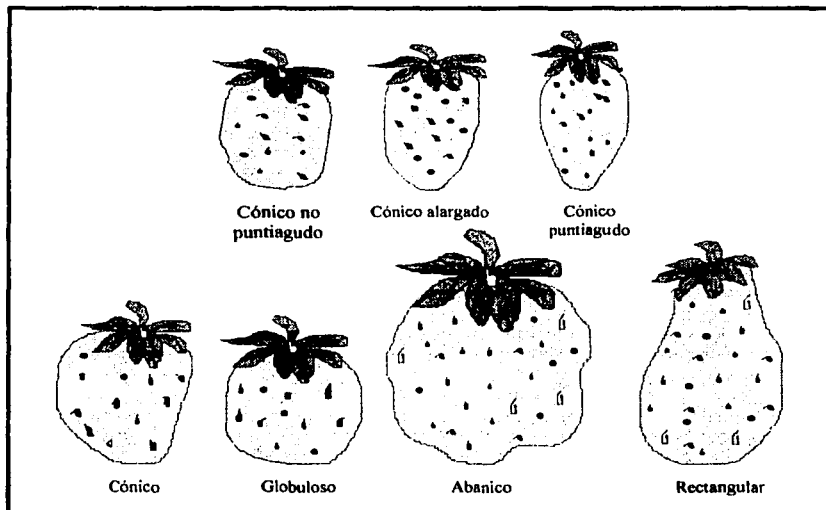
Fuente: Tecnología de los Alimentos, Vol. 31, No. 2, 1996, pág. 7

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Uno de los caracteres de diferenciación más fácil de observar entre las distintas variedades es la forma del fruto, la cual es muy variable y prácticamente ilimitada debido a que existen numerosas formas. Entre las principales se encuentran:

1. Troncocónico.
2. Cónico puntiagudo
3. Cónico no puntiagudo
4. Cónico con cima en cresta
5. Cónico alargado
6. Cordiforme
7. Globuloso con o sin punta
8. Globuloso con y sin punta
9. Rectangular de sección con cima puntiaguda
10. Abanico
11. Diforme
12. Ovoide

Figura No. 2 Diferentes formas de la fresa.



Fuente: Alsina Grau, Cultivo de fresas y fresas, Síntesis, España, 1989, páginas 60-63.

1.3 VARIEDADES.

Desde 1950 México depende de las variedades mejoradas de Estados Unidos procedentes del Estado de California. Las variedades existentes en nuestro país se muestran en la siguiente tabla

Tabla No. 1 Principales variedades de fresa en México.

ESTADO	REGION	VARIEDAD
Guanajuato	Irapuato	Tioga Solana Fresno Aliso Parker Pico de pájaro Chandler
Michoacán	Zamora	Tioga Fresno

Fuente: SARIH, 1992, Folleto No. 1, Celaya - Guanajuato, pág. 43

1. Solana.- Es una planta de extraordinario vigor, se adapta a suelos salinos, sus frutos son grandes y pueden alcanzar de 4.0 a 20 gramos de peso, de forma cónica y de color rojo brillante, su carne es perfumada y compacta, por su firmeza la hace resistente al transporte.
2. Fresno.- Es de fruto firme, grande, excelente para transportarla, ya que es muy resistente. Es algo tolerante a la salinidad de los suelos y muy susceptible al marchitamiento letal. Requiere de cuidados especiales al ser cosechada, en virtud de que el tallo del fruto se rompe muy fácilmente. Es de sabor dulce acidulado, de color rojo brillante y carne compacta.
3. Aliso.- Es una variedad relativamente nueva, planta vigorosa, fruto de color rojo, de menor tamaño que las otras, de forma semicónica, buen sabor y muy productiva. (Alsina, 1989)
4. Pico de pájaro.- Su rendimiento es intermedio ya que se producen aproximadamente 25 toneladas por hectárea en el ciclo de cosecha. Es una variedad inestable porque no se produce bien en suelos "freseros" y el fruto es bastante susceptible a pudriciones en época de lluvias. En esta variedad el fruto es de forma cónica puntiaguda, buena firmeza y apariencia. Presenta cierta resistencia al transporte de largas distancias y ambientes cálidos. Es de color rojo brillante, su peso es de 10-11grs y es más dulce que las variedades anteriores pero no es muy olorosa. Se utiliza exclusivamente para comercializarse en canasta. (Calderón, 1986)
5. Chandler.- Es una variedad de alto rendimiento y de mayor capacidad de producción que pico de pájaro. Es estable ya que tiene buenos rendimientos bajo condiciones ambientales diferentes como son las fechas de transplante. Es una variedad tardía para producir y por ellos sus rendimientos de octubre a febrero son regulares. El fruto es de buena calidad, pero no igual que Pico de pájaro. Es de forma cónica no puntiaguda, su tamaño es mayor o

igual que Pico de pájaro, presenta buena apariencia y firmeza. Se usa para comercializar en canasta y para procesarla en la industria. (Alsina, 1989)

6. Parker.- Sus rendimientos son parecidos a Chandler y Pico de pájaro. Es una variedad estable, con buena adaptación a diferentes suelos y fechas de trasplante, aún en épocas de lluvias. El fruto es de buena calidad, su forma es de cuña alargada y tiene mediana firmeza. Su tamaño es mayor a las especies antes citadas. Se usa para venderla en canasta aunque también sirve para procesarla. (Calderón, 1986)
7. Tioga.- Las plantas de esta variedad son vigorosas, proporcionando un fruto más grande que Fresno, de forma cónico-longitudinal dando casi una forma de cuña, color rojo brillante, su aroma y sabor son de buena calidad. Es un fruto de los más firmes por lo tanto resistente a la manipulación, almacenaje y transporte. Soporta cierto grado de salinidad del suelo y no es exigente en cuanto a la fertilización. (López, 1988)

1.4 ASPECTO SOCIOECONOMICO

1.4.1 PRODUCCIÓN.

Tomando en cuenta las principales entidades productoras de fresa en el país, se pueden señalar dos regiones bien definidas, la región de Irapuato en el estado de Guanajuato y la zona de Zamora, Michoacán, aunque en la actualidad en la costa de Ensenada, B.C. se está empleando tecnología avanzada y nuevas variedades en la producción de fresa. Se consideran productores marginales a Jalisco, Puebla, Querétaro y el Estado de México que abastecen sólo una porción de la demanda interna.

Regionalmente tanto Zamora, Irapuato y la Costa de Baja California, son importantes generadores de divisas, fomentando la creación de múltiples industrias que se dedican a la congelación y comercialización del producto y a la producción de derivados como mermelada, colorantes, conservas, etc.

La cosecha se realiza en dos periodos: en los primeros meses del año, durante el ciclo otoño-invierno, se obtiene el 60% de la producción anual y el estado con mayor producción es Michoacán; durante el ciclo primavera-verano el principal productor es el estado de Guanajuato.

La demanda de fresa mexicana por parte de EUA, está en función de su propia producción que depende en buena medida, de un ciclo más corto que no alcanza a cubrir su demanda interna durante todo el año. De ahí que los derechos de importación en EUA varíen en relación directa con las épocas del año en que se disponen o no de producción doméstica. (SARH, 1992)

1.4.2 EXPORTACIONES.

A pesar de que la Unión Americana obtiene una producción alta de fresa, una de las mayores a nivel mundial, este país complementa su disponibilidad en el mercado externo, ya que su consumo doméstico es superior. Sin embargo, las importaciones estadounidenses de fresa son relativamente bajas.

El principal proveedor de fresas frescas y congeladas de los E.U.A. es nuestro país, con una participación del 77.8 % de las compras totales de 1997. En el año de 1998, México exportó a su vecino del norte el 83 % de sus compras. Para 1999, se registro un decremento del 60% con respecto al período anterior, pero se espera que para el 2000 se vuelva a incrementar. Cabe mencionar que cerca del 90% de la producción exportada proviene de los estados de Michoacán, Guanajuato y Baja California.

Tabla No. 2 Exportación de fresas.

PAÍS	ENE.-DIC. 96 volumen	ENE.-DIC. 97 volumen	ENE.-DIC. 98 volumen	ENE.-DIC. 99 volumen
ALEMANIA	10,400	0	128,972	11,169
BELICE	0	0	0	44
BRASIL	0	0	5	0
CANADA	0	2,532	24,549	76
ESPAÑA	0	0	0	27
E.U.A.	5,215,596	8,661,663	9,230,129	3,603,218
FINLANDIA	0	0	5	0
FRANCIA	47,699	2,750	37,487	22,442
GRECIA	6,170	0	0	0
HOLANDA	1,536	0	1,560	0
JAPÓN	0	0	1,165	15
POTUGAL	0	0	5	0
REINO UNIDO	22,586	0	2,988	2,940
SUECIA	0	0	5	0
TOTAL	5,3039,957	5,066,945	9,426,870	3,339,931

*El volumen está dado en kg.
Fuente: SARI, Programa Nacional Agrícola, 1999

1.4. 3 CONSUMO APARENTE.

En México se puede considerar que casi en su totalidad el consumo de fresa es en estado fresco, aunque también es notable el consumo de fresa industrializada, sobre todo en forma de mermelada y en los últimos años tiende a generalizarse el consumo de fresa congelada sin azúcar.

En términos generales, en los últimos años se ha incrementado el consumo nacional de fresa fresca por un aumento en los saldos de comercio derivados de incrementos en la producción. Sin embargo durante los periodos 96 y 99 se observa un declive en el consumo En el cuadro siguiente se muestra el consumo aparente en nuestro país para el período de 1995-1999.

Tabla No. 3 Consumo Nacional Aparente de Fresa.

AÑO	1995	1996	1997	1998	1999
CONSUMO APARENTE (Toneladas)	106947	83613	98398	108360	95783

Fuente: SARH, Programa Nacional Agrícola, 1999.

1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA.

La composición química de la fresa se muestra en la siguiente tabla:

Tabla No. 4 Composición Química de la fresa (gr/100 gr).

CONSTITUYENTES	RANGO
Sólidos Totales	7.0 - 12.7
Sólidos Solubles Totales	4.6 - 11.9
Azúcares Totales	4.1 - 6.6
Azúcares Reductores	3.7 - 5.2
Sacarosa	0.2 - 2.5
Fructosa	1.7 - 3.5
Glucosa	1.4 - 3.1
Pectinas Totales	0.2 - 0.9
pH	3.18 - 4.10
Acidez Titulable	0.50 - 1.87
Acido cítrico	0.42 - 1.24
Acido málico	0.09 - 0.68
Acido ascórbico Total	0.026 - 0.120
Fenólicos Totales	0.058 - 0.210
Antocianinas Totales	0.055 - 0.145

Fuente: Dale A., The strawberry in the quality, Timber press, USA 1991, pág. 148.

Tabla No. 5 Composición de Azúcares en la fresa.

AZUCARES	% (g/100g)
glucosa	2.6
fructosa	3.0
sacarosa	0.3

Fuente: Wills Lec, Postharvest, South China Printing Co., Australia 1981, pág.3.

1.6 COSECHA Y MANEJO POSTCOSECHA.

Generalmente en México, las fresas se cosechan a mano, seleccionan y empaacan en el campo. El tamaño y el color de la baya son los principales índices de cosechas empleados. Los cosechadores utilizan los siguientes medios para distribuir los frutos:

1.- Cajas de madera : Se utilizan para contener los frutos que son destinados para el mercado local y cuando se concentra mas la producción (Febrero y marzo), cada caja tiene una capacidad de 6 a 7 Kg.

2.- Canastas de carrizo: Son utilizadas para el abastecimiento y venta al medio mayoreo y su capacidad oscila entre 7 y 8 Kg, hay que destacar que en cada canasta puede encontrarse hasta un 50% de frutos de pequeño tamaño y magullada.

3.- Cajas de cartón corrugado: Se utilizan cuando el fruto es para exportación. Cada caja puede contener de 8 a 12 canastillas de plástico (aproximadamente ½ litro cada una) en donde las fresas son empacadas directamente en las canastillas,. Posteriormente, los frutos se transportan a una empacadora cuando hay posibilidad de preenfriamiento. Es indispensable llevar acabo un rápido enfriamiento para disminuir el nivel de deterioro. Un retraso de una hora entre cosecha y enfriamiento puede causar un deterioro acelerado, y un retraso de cuatro horas a una temperatura de 30°C es suficiente para reducir hasta un 40% la comercialización de la fruta.

El enfriamiento con aire forzado es el método ideal de enfriamiento para la fresa debido al periodo tan corto que se requiere para enfriar el fruto.

La temperatura es el factor más importante durante el manejo de la fresa, pues los frutos preenfriados inmediatamente después de la cosecha pueden permanecer hasta una semana a una temperatura de -1°C a 0°C y una humedad relativa de 90-95%. Sin embargo, el mantener esta temperatura durante el transporte es muy difícil y en promedio, la temperatura usada en los trailers es de 5°C o más. En los aviones normalmente la temperatura es de alrededor de 13°C (también se transportan animales u otro tipo de productos perecederos), manejándose en el mismo volumen de aire del avión, además, las temperaturas en los aeropuertos son altas.

En un estudio, las fresas preenfriadas y enviadas de California a Europa tuvieron una temperatura de tránsito de 10°C en comparación con aquellas fresas no preenfriadas, que tuvieron una de 19°C. La baja temperatura ocasionada por el preenfriamiento puede mantenerse por un determinado periodo (durante el transito de las fresas) cuando éstas se transportan en estibas cubiertas con lonas. Esto no sucede cuando no se utiliza protección. Así mismo, la baja temperatura también se reduce cuando se introduce material plástico entre la estiba y la lona que lo cubre. Del mismo modo, los contenedores cerrados dentro del avión ayuda a disminuir el calentamiento del fruto. (SARH, 1999)

El hielo seco también puede ser utilizado para reducir las temperaturas de tránsito, especialmente en las capas superiores de las estibas donde las temperaturas normalmente son mas altas. En algunos de los casos debe colocarse un aislamiento adecuado para prevenir el congelamiento del fruto. Para el transporte aéreo, el uso de hielo seco y contenedores cerrados proporcionan una mayor protección.

El hielo seco puede usarse para proporcionar una atmósfera modificada con alto CO₂, dichas atmósferas con altos niveles de CO₂ (15% o más) se han usado en envíos comerciales para suprimir las incidencias de pudriciones y conservar la calidad de las fresas. Sin embargo, los altos niveles de CO₂ (30% o más) causan pérdidas de sabor. (SARH, 1992)

Por otro lado, el almacenamiento comercial se realiza a una temperatura de 0 a 5°C y a una humedad relativa del 90- 95%, a dichas condiciones las fresas se encuentran en buen estado en un periodo de cinco a siete días.

1.7 PÉRDIDAS POSTCOSECHA.

Como ya se mencionó anteriormente, la mayor parte de los frutos tan pronto son recolectados experimentan cambios fisiológicos, algunos de los cuales determinan pérdidas de calidad debido a que la actividad respiratoria continúa así como la degradación de carbohidratos por las enzimas vegetativas. Tal es el caso de la fresa la cual es un fruto de alta tasa respiratoria que se encuentra en contacto directo con la tierra y al no tener una cáscara que la proteja está expuesta a un sin fin de factores que puedan dañarla entre las cuales se encuentran los climatológicos, mecánicos, plagas y enfermedades que se ven presentes en cualquier etapa de su desarrollo, durante su recolección, almacenamiento o transporte.

1.7.1 Climatológicas

♦ **Bajas temperaturas.** Las heladas destruyen a las flores por lo tanto, pueden producir frutos deformados.

♦ **Exceso de calor (quemaduras por sol).** Un aumento en la temperatura fuera de lo normal acelera la maduración y la descomposición de los frutos. Una insolación excesiva puede provocar un color más intenso en el área afectada y además es notable una ligera resequedad en dicha zona.

♦ **Granizo.**

♦ **Exceso de lluvias.** Si el suelo esta bien drenado, puede repercutir en la aparición de síntomas de clorosis férrica, la cual es muy frecuente en el litoral mediterráneo español que debe soslayarse aplicando en el transcurso del cultivo quelatos de fierro al suelo.

♦ **Tipburn de la fresa.** Resulta relativamente frecuente observar en épocas de verano plantas que muestran grupos de hojas nuevas, con deformaciones en los limbos, que a su vez presentan desecaciones y necrosis marginales. Aunque dicha anomalía anteriormente se atribuía a la deficiencia o mala traslocación del calcio, pero después, se encontró que era causada por una mala relación entre el binomio temperatura-humedad relativa debido a su incidencia sobre los fenómenos transpirativos lo cual puede tener una cierta importancia en el desencadenamiento de esta anomalía. (Gallegos, 1997)

1.7.2 Mecánicas

♦ **Magulladuras y raspaduras.** Son ocasionadas cuando el fruto es mal manejado (golpeado) antes y después de ser cosechada o bien, durante su comercialización en estado fresco. Otra causa es por las condiciones no apropiadas de embalaje, almacenamiento y transporte.

♦ **Rotura del fruto.** Se da cuando el fruto está sobre maduro y con el peso de los demás ocasiona que los frutos se presionen unos contra otros hasta colapsarse, esto ocasiona contaminaciones microbianas y por lo tanto, decaimiento de la calidad del fruto al comercializarse. (Elhaid, 1992)

1.7.3 Plagas

◆ **Rosquilla negra.** En estado larvario es un comedor de hojas y su incidencia se escalona desde el mismo momento de la plantación hasta el mes de Noviembre. Las pulverizaciones con clorpirofos, tetraclorvinfos, permetrina, etc., resultan altamente eficaces para el control de esta plaga.

◆ **Pulgilla azul.** Plaga que se ha observado durante los meses de julio, agosto y septiembre. Las aplicaciones de metiorcab, clorpirofos, azinfos resultan eficaces frente a la misma.

◆ **Antonomo de la fresa.** Es un coleóptero que realiza la puesta sobre los botones florales, provocando la desecación y marchitamiento de los mismos. Pero su control no presenta problemas, mediante la aplicación de los insecticidas fosforados adecuados.

◆ **Gorgojos.** Son coleópteros y cuyas larvas pueden inferir un grave daño de las coronas y sistema radicular de las plantas, marchitándolas como consecuencia de las galerías que originan. Son plagas de control complicado que deben combatirse antes de que penetren las larvas, mediante aplicaciones de insecticidas al vuelo.

◆ **Pulgones.** Es una plaga chupadora relativamente frecuente en la planta de la fresa, aunque sin tener una incidencia tan aparatosa como las anteriores provoca un amarillamiento en las hojas. En la lucha contra este tipo de plagas hay que tener en cuenta que los pulgones juegan un papel de vectores en la transmisión de determinadas virosis en el cultivo.

◆ **Araña roja.** Es un ácaro chupador cuyo control hace imprescindible en un cultivo normal de fresa, por la importancia y la asiduidad de sus ataques. Quizás la decoloración amarillenta que muestran las hojas atacadas es la sintomatología más importante. Los tratamientos alternados con tetradifón-dicofol, propargita, naled, cicloprano, proporcionan un buen control. La aplicación de dichos tratamientos que a veces coinciden con la época de recolección, debe hacerse respetando minuciosamente los plazos de seguridad que la normatividad vigente exige.

◆ **Otras plagas.** En épocas de lluvia o mucha humedad se han detectado ataques por moluscos a frutos y hojas y en ocasiones algún ataque de hormigas. (Gallegos, 1997)

1.7.4 Enfermedades.

◆ **Virales:**

- a) **Virus jaspeado o moteado del frenal:** Es transmitido principalmente por pulgones y se manifiesta con clorosis nervial o internervial, enanismo y presencia de jaspeado en las hojas.
- b) **Virus de los márgenes amarillos:** Transmitido principalmente por pulgones y provoca el amarilleamiento en los bordes de las hojas. A veces se manifiesta asociado con el virus anterior, provocando peciolo cortos y enanismo.
- c) **Virus del mosaico rizado:** Provoca la aparición de manchas amarillas en hojas, así como deformaciones en las mismas. Frecuentemente se presenta asociado a los dos virus anteriores, ocasionando una fuerte degeneración de las plantas como consecuencia del alto grado de agresividad que presenta este complejo virus.
- d) **Virus del enrollamiento:** Ocasiona rizado y enrollamiento de las hojas. Es asimismo transmitido por pulgones. Existen análogamente otros virus y micoplasmas de menor incidencia económica, como un mosaico no específico del frenal transmitido por

nemátodos, "la enfermedad de los pétalos verdes del fresa", transmitida por una cicádula. (Mendoza, 1987)

◆ **Nemátodos:**

- a) Ataque a las raíces por Meloidagyne pratylenchus
- b) Ataque al sistema aéreo por Ditylenchus y Aphelenchoides.

◆ **Bacterias y hongos.**

Cuando se habla de microorganismos patógenos postcosecha y de las implicaciones en su control, en forma inmediata se relaciona con su participación en las pérdidas postcosecha, las cuales están estimadas entre un 25 y 60% aproximadamente. El deterioro de los frutos por los agentes microbianos puede ser grave y rápido, en especial en las áreas tropicales, en las que el desarrollo microbiano se ve favorecido por las temperaturas y humedades relativas elevadas.

El deterioro de las fresas después de la recolección puede ser causada por numerosos hongos y bacterias, pero son más dañinas las enfermedades fungales ya que las bacterias y virus atacan por lo regular a la planta.

De acuerdo a la forma en que dañan los hongos a los frutos, estos pueden ser patógenos o saprófitos. Los hongos patógenos son aquellos que atacan al fruto antes de su recolección y los saprófitos son aquellos que lo realizan después.

Una característica importante de la mayoría de los microorganismos alterantes, tanto fúngicos como bacterianos, es su capacidad de secreción de enzimas pectolíticas que ablandan y desintegran los tejidos vegetales. Por lo tanto, el crecimiento de hongos en frutas y verduras generalmente causan una grave desintegración tisular originando zonas blandas mohosas. (Maas, 1984)

En el caso específico de la fresa las principales enfermedades causadas por bacterias y hongos son las siguientes.

◆ **Enfermedades Bacterianas:**

- a) Mancha de la hoja por Xanthomonas fragarias

◆ **Enfermedades fungosas:**

1. En la planta:

- a) Mancha "ojo de pájaro" causada por Mycosphaerella fragariae.
- b) Marchitez de la planta por Verticillium alboatrum.
- c) Pudrición de la raíz por Rhizotonia solani.

2. En el fruto:

- Antracnosis por Colletotrichum fragariae.
- Cenicilla causada por Sphaeritheca macularis.
- Podredumbre marrón debida a Phytophthora fragariae.
- Podredumbre blanda por Mucor spp.
- Podredumbre gris por Botrytis cinerea
- Podredumbre blanda por Rhizopus stolonifer

ANTRACNOSIS.

Organismo causante: Colletotrichum fragariae

Sintomatología: Es una pudrición firme que ataca por lo regular a frutos en vías de maduración. Las lesiones son circulares de café obscuras a negras, hundidas en cualquier parte del fruto y en el centro se observan las esporas de color rosado, naranja o salmón; estas lesiones pueden coalescer y cubrir todo el fruto incluso, llega a cubrir todo el estolón ahorcándolo. Cabe destacar que dicho hongo deshidrata al fruto hasta momificarlo. En México las variedades susceptibles a tal enfermedad son Tioga, Pájaro y Aiko.

Características coloniales y morfológicas: En APD algunas colonias son grises, negras o rosadas. En ocasiones pueden ser ligeramente oscuras con márgenes blancos y con numerosas gotitas color salmón, amarillas, rosa-anaranjadas. Los conidios son clipsoideales con ápices redondeados, ligeramente ahusados, cónicos o adelgazados en la punta (puntiagudos), unicelulares. En masa los conidios dan una coloración salmón o amarillo anaranjado, los conidióforos son cilíndricos. (Mendoza, 1983)

CENICILLA.

Organismo causante: Sphaerotheca macularis

Sintomatología: El hongo es un parásito obligado y puede atacar al fruto en cualquier etapa de desarrollo, pero las incidencias son mayores en frutos verdes, los cuales normalmente ya no crecen o crecen poco y así maduran; en ocasiones llegan a deshidratarse y a momificarse. El fruto atacado presenta manchas blanquecinas y polvorientas. Esta enfermedad por lo regular se presenta durante los meses más secos (Diciembre-Marzo) y en nuestro país ataca principalmente a la variedad Tioga.

Características coloniales y morfológicas: Presente conidios hialinos que producen conidios en cadenas basipétalas, los conidiosa son hialinos en forma de barril.

PODREDUMBRE MARRÓN.

Organismo causante: Phytophthora fragariae.

Sintomatología: Es una enfermedad que se ve favorecida en épocas de lluvias. En frutos verdes hay presencia de manchas ovales o circulares, café o verde natural rodeados de un margen café o castaño y al avanzar la lesión el fruto queda totalmente café o castaño, manteniendo una textura firme, rugosa, correosa o ligeramente blanda y en ocasiones descolorido y amargo. La enfermedad también se presenta en frutos a punto de madurar, los cuales muestran una decoloración o amarillamiento en el área dañada que es de color lila claro, púrpura o rojiza; los tejidos del fruto son firmes y muestran un bronceamiento marcado. Dicho hongo deshidrata al fruto hasta momificarlo. La variedad susceptible en nuestro país de ser atacada por dicho hongo es la Tioga (frutos verdes). (Mendoza, 1987)

Características coloniales y morfológicas: En APD se forman oogonios, anteridios, oosporas y esporangios con las siguientes características: oogonios globosos, anteridios, paráginos, monoclinos y globosos. El más común es el monoclino ya sea sésil o pedicelado con la rama anteridial corta, los oogonios tienen base cónica

o en forma de embudo, pero en muchos casos no es notable, ni muy común. Las oosporas son esféricas, pleróticas, lisas y con pared gruesa. Los esporangiosforos presentan ramificación larga y a veces irregular y sólo en algunos casos se observa el típico simpodio simple. Los

esporangios son ovoides con un o dos papilas las cuales son aplanadas, tuncas o redondeadas. En los esporangios se nota en su interior una especie de prolongación al cual se le denomina "tapón basal". El micelio presenta hinchamientos. (Maas, 1984)

PODREDUMBRE BLANDA

Organismo causante: Mucor spp.

Sintomatología: Al igual que Rhizopus este hongo Phycomyceto, segrega enzimas pectolíticas para dañar la pared del fruto para penetrar. Es un hongo que no solo ataca al fruto sino también a la planta y se desarrolla a temperaturas moderadas (alrededor de 18°C) y altas humedades relativas. A temperaturas de 27°C se inhibe la germinación de la angiospora.

Características coloniales y morfológicas: El micelio vegetativo es blanco y las angiosporas son altas, erectas de aspecto duro y crespo. Las esporas son largas, blancas-grisáceas y parte negras. El esporangio es globoso, presenta corumbela, estolones y rizoides. Las zigosporas van de un color oscuro a negro.

PODREDUMBRE GRIS

Organismo Causante:

Hongo superior.

Clase: Hongos imperfectos Deuteromicetos.

Orden: Moniliales

Género: Botrytis cinerea.

Botrytis cinerea proviene del latín "cinereus", que significa gris ceniza. Este hongo es el estado conidial de la Sclerotinia fuckelina. Es un parásito y saprófito, que sobrevive a las condiciones climáticas adversas en forma de esclerocios y como micelio inactivo o latente en tejidos de plantas muertas.

Síntomas:

Por lo regular esta enfermedad es conocida como pudrición seca o gris del fruto. Este hongo ataca al fruto en cualquiera etapa de su desarrollo, incluyendo las flores, sépalos, estolones y hojas; aunque es más frecuente en la parte superior o lado lateral.

El tejido del fruto, cuando empieza a ser atacado, es ligeramente de color rosáceo o café claro, blando e inclusive suave, después que el hongo ha entrado en contacto con el fruto, éste comienza a secarse poco a poco sin que haya escurrimiento, se vuelve dura, firme y se cubre de una capa uniforme de micelio blanco que cambia a grisáceo al pasar los días dando la sensación visual de estar cubierta de terciopelo. (Mendoza, 1984)

Se ha comprobado que este hongo ataca a las variedades Tioga, Pico de pájaro, Aiko y Solana; invadiendo las flores de la fresa y permanecer latentes hasta que se inicie la maduración del fruto, o bien puede penetrar a través de heridas de la piel provocadas durante el manejo. La lesión causada es de color café claro, en forma oval o redondeada que a condiciones de alta humedad y temperatura de 18 a 23 °C el hongo se desarrolla rápidamente,

inclusive puede estar aún activo a 0°C, pero a un nivel muy bajo, pudiendo causar serias pérdidas a temperaturas altas. (Mendoza, 1987)

También hay que considerar que este hongo ocasiona las pudriciones blandas secundarias de los frutos cuando se almacenan, transportan y venden en el mercado. (Mendoza, 1984)

Características coloniales y morfológicas.

El hongo se puede aislar en APD (agar de papa dextrosa), Jugo V -8 y Jugo de tomate. En APD, produce un micelio que en un principio es blanco y después gris. Los conidióforos son erectos, septados, largos (5mm), gruesos (aproximadamente 10µ de ancho), de color oscuro (café o gris), ramificados irregularmente en su parte distal y con el ápice de cada una de las ramas hinchadas de las cuales emergen pequeños esterigmas productoras de conidios. Estos conidios miden de 11 x 11-15µm, son usualmente lisos, uniloculares, pigmentados o sin color y secos; que pueden ser de forma elipsoidal, obooidal u obovoides que asemejan en conjunto un racimo de uvas en cada ápice de las ramificaciones. (Maas, 1984; Mendoza, 1983)

Ciclo de la enfermedad:

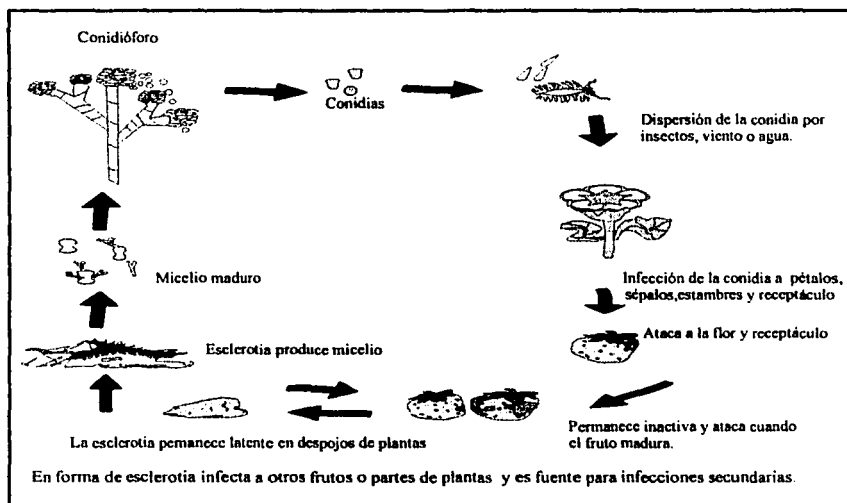
El hongo puede ser saprófito y puede vivir en las partes muertas de muchas plantas, incluyendo a la fresa.

En los plantíos de fresa a latitudes septentrionales, el hongo puede invernar en forma de esclerotia, producir micelio y estar latente en los despojos de las plantas. Al parecer el hongo no infecta a las semillas, pero puede propagarse con las semillas contaminadas mediante esclerosios del tamaño de esas semillas o sobre restos de plantas a los que ha infectado. Bajo condiciones favorables (clima húmedo, temperaturas de 18 -23°C y pH : 2.5-7.4), el hongo produce una larga cosecha de conidias; en donde las conidias son dispersadas por corrientes de aire, insectos y agua salpicada debido a la irrigación.

Cuando la planta florece, los tubos germinales formados por la conidia germinada puede penetrar directamente en la epidermis de su huésped, sobre los pétalos, sépalos, estambres y receptáculo. Una vez establecido en las partes de la flor, el hongo usualmente invade al fruto en desarrollo, poco a poco lo deshidrata hasta convertirlo en momia y a la vez, inactivando su madurez. (Maas, 1984).

Por lo tanto, este hongo se puede encontrar intra y extracelularmente en el fruto.

Figura No. 3 Ciclo de la enfermedad de Botrytis cinerea,



Fuente: Maas, Compendium of strawberry, American Phytopatology, USA, 1984, pág. 58.

PODREDUMBRE BLANDA

Organismo causante:

Hongo inferior

Clase: Phycomycetes

Subclase: Zygomycetes

Orden: Mucorales

Género: Rhizopus stolonifer.

Síntomas:

Se le conoce también como pudrición húmeda, gotera o bigotes de gato. Esta pudredumbre se da principalmente en la postcosecha o bien, durante el transporte, almacenamiento y venta en el mercado de los frutos (Agrios, 1995).

Este hongo se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, es cosmopólito y ataca cualquier parte de frutos y vegetales cosechados. Por lo común vive como un organismo saprófito y en ocasiones como parásito débil de órganos almacenados de plantas.

Esta podredumbre es muy frecuente y ocurre mundialmente, pero es muy importante minimizarla por medio del almacenamiento moderno y métodos de transporte adecuados.

Cuando las condiciones son favorables (Humedad relativa del 70–80%, temperatura de 15 a 30°C y pH de 4.5 a 6.0) la enfermedad avanza con gran rapidez, de ahí que las pérdidas sean considerables en tan solo un corto periodo de tiempo.

La infección y desarrollo de la enfermedad es controlado por la temperatura; en donde la mínima para la generación y crecimiento de la espora es alrededor de 6°C y la producción del esporangio es inhibida a temperaturas debajo de 8–10°C (Childers, 1981).

A una humedad relativa del 70–80% se favorece la generación de esporangiosporas y al rededor del 90% hay formación de zigosporas.

Este hongo crece bien en medios que contengan sales de amonio o compuestos aminados pero, no puede utilizar el nitrógeno presente en los nitratos, y le favorece más la luz difusa que la oscuridad.

Las partes de los frutos infectados (fresas), se manifiestan ligeramente decolorados variando gradualmente a un tono café claro. La consistencia del fruto se comienza ablandar y después el fruto se colapsa, habiendo pérdida de sus jugos.

Bajo condiciones húmedas, los frutos son rápidamente cubiertos por un micelio blanco, vellosos, denso, en donde los esporangióforos son filamentosos, de color gris, duros, y portan esporangios café o negros en sus puntas.

Los tejidos infectados, al principio desprenden un aroma ligeramente desagradable, pero en poco tiempo las levaduras y bacterias que se depositan en ellos hacen que desprendan un aroma rancio.

Cuando la humedad disminuye con gran rapidez, los órganos infectados finalmente se secan y momifican, o bien se degradan, desintegran hasta formar una masa putrefacta y aguanosa. (Agris, 1984, Mendoza, 1987)

Características coloniales y morfológicas.

Las colonias de éste hongo, sobre APD (agar papa dextrosa) son principalmente blancas y algodonosas, vellosas. El micelio carece de septos y produce largos esporangióforos aéreos que en sus puntas producen esporangios esféricos pequeños.

Las hifas son ásperas, de 10–20µm de ancho y típicamente cenocíticos, los esporangióforos son producidos en los estolones móviles que atacan al sustrato por medio de rizoides.

Los esporangióforos son generalmente de 1–2mm de largo pero, pueden alcanzar de 1–2cm de largo; su largo está influenciado por la humedad relativa.

Los esporangióforos son producidos a menudo de manera opuesta a los rizoides en racimos de 3–5 o más y con terminación esférica, el esporangio erguido es de 85–200µm de diámetro, es de color blanco brillante al principio y se vuelve oscuro cuando maduran las esporas. La pared celular está formada de quitina–quitosán.

(Alexopulus, 1962 y Maas, 1984.)

La columbella es ancha, hemisférica y mide generalmente de 70–90µm de altura. La columbella es una proyección del esporangióforo dentro de la base del esporangio y persiste después de que éste se rompe para liberar las esporangiosporas.

Las esporangiosporas (10–20 x 7.5–8µm), son irregularmente esféricas, redondas u ovales, estriadas, oscuras, parduscas y firmes. Las zigosporas resultan de una fusión sexual, son redondas u ovales, de 160–220µm de diámetro, oscuras y de textura áspera; representa la

etapa invernante o latente del hongo, que cuando germina produce un esporangióforo erecto con su respectivo esporangio. (Maas, 1984; Mendoza, 1987; Agrios, 1995)

Ciclo de la enfermedad:

Durante todo el año las esporangiosporas se encuentran suspendidas en el aire o transportadas por insectos y germinan cuando son depositados sobre heridas de los frutos.

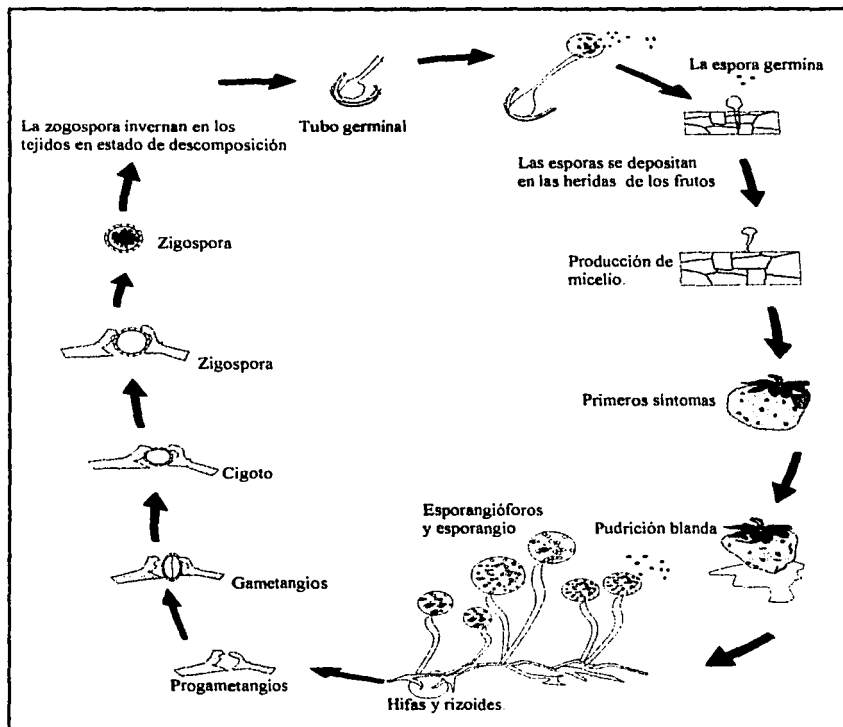
Una vez que las infección se establece, las hifas producidas secretan una enzima pectolítica (endopoligalacturonasa) que degrada las laminillas medias de las células de la pulpa. Esto da como resultado la pérdida de cohesión entre las células, dado que ahora se rodean de una sustancia líquida que cuando se le aplica una presión pueden moverse libremente, dando como resultado una pudrición blanda. Por lo tanto, la permeabilidad de la membrana celular se pierde. La esporulación es rápida y abundante bajo condiciones favorables.

Hay que tener en cuenta, que las enzimas secretadas por el hongo avanzan por delante del micelio y separan a las células antes de que el micelio se fije en ellas. Las células de los tejidos macerados son entonces atacados por las enzimas celulolíticas del hongo, las cuales degradan la celulosa de la pared celular y debido a ello; las células se desintegran.

Sin embargo, la epidermis se ablanda considerablemente y se desgarra con facilidad con la mas leve presión durante la manipulación de esos frutos o bien, debido al peso de los demás que se depositan encima de ellos. El hongo emerge a través de las heridas preexistentes en el fruto o bien, a través de desgarras posteriores de la epidermis y produce esporangióforos aéreos, esporangio, estolones y rizoides, siendo éstos últimos los que perforan la epidermis ablandada del fruto. (Mendoza, 1983)

El esporangióforo que se forman sobre los tejidos infectados al cabo de unos cuantos días producen sus esporangios y las esporas liberadas producen nuevas infecciones inmediatamente que han sido liberadas. Sin embargo, las zigosporas termorresistentes se forman más tarde, cuando el suministro alimenticio de los tejidos infectados comienza a disminuir. Debido a que las zigosporas germinan después de un periodo de reposo, la mayoría de las infecciones que se producen durante el almacenamiento de los frutos se deben a las esporangiosporas asexuales y durante su empacamiento, a las hifas del hongo que crecen sobre la superficie de frutos previamente podridos, más que a las esporas (Maas, 1984; Agrios, 1995).

Figura No. 4 Ciclo de la Enfermedad del Rhizopus stolonifer.



Fuente: Agravos George, Fitopatología, Limusa, México, 1995, pág. 267.

2. ASPECTOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE LA MADURACIÓN DEL FRUTO.

2.1 ASPECTOS FISIOLÓGICOS.

Una vez cosechadas, las frutas siguen viviendo, es decir, continúan respirando y efectuando reacciones como parte de su metabolismo que dan lugar a una serie de cambios físicos y químicos durante su vida postcosecha.

Las frutas, (que son el ovario maduro de una flor), durante su desarrollo pasan por las siguientes etapas:



En la etapa de maduración es cuando la gran mayoría de las frutas son cosechadas, almacenadas, transportadas y consumidas o industrializadas.

Es por ello, que la comprensión del proceso de maduración es de suma importancia para determinar el manejo que debe dárseles a las frutas con objeto de prevenir en el mayor grado posible las pérdidas, y controlar su vida útil después de que hayan sido cosechadas.

La maduración puede definirse como una etapa dentro del desarrollo de una fruta caracterizada por una serie de cambios bioquímicos que determinan las características finales del color, sabor, aroma y textura de la fruta. Además, los sistemas metabólicos, pueden ser nuevos o bien activarse o inactivarse, agrupándose en dos grandes tipos Anabólicos o Catabólicos a manera de ejemplo, para el primero se puede considerar la producción o síntesis de nuevos pigmentos así como de aromas volátiles, para el segundo grupo la degradación de clorofila, la de los componentes de pared, entre otros. Ambos son independientes, pero estrechamente relacionados bioquímicamente, siendo los catabólicos los dominantes en la etapa de desarrollo en estudio.

Por lo tanto, en el lenguaje común la palabra maduro es sinónimo de madurez, pero en la fisiología postcosecha se consideran distintos para diferentes estados de madurez de la fruta. Los productos maduros son aquellos que han terminado su crecimiento y desarrollo natural y alcanzado todas sus cualidades organolépticas y gustativas, para el caso de las frutas, cuando han alcanzado el estado que asegure la terminación adecuada del proceso de maduración fisiológica. (Kader, 1992)

MADUREZ FISIOLÓGICA.

Se refiere a la etapa del desarrollo de la fruta en la que se ha producido el máximo crecimiento y maduración. Generalmente está asociada con la completa madurez de la fruta. La etapa de madurez fisiológica es seguida por el envejecimiento. No siempre es posible distinguir claramente las tres fases del desarrollo del órgano de una planta (crecimiento, madurez y envejecimiento) por que las transiciones entre las etapas son a menudo muy lentas y poco diferenciadas.

MADUREZ COMERCIAL.

Son las condiciones de una fruta u órgano de la planta requerido por el mercado. Comúnmente guarda escasa relación con la madurez fisiológica y puede ocurrir en cualquier fase del desarrollo o envejecimiento. Los términos inmadurez, madurez óptima y sobremadurez se relacionan con las necesidades del mercado. Sin embargo debe haber comprensión de cada uno de estos términos fisiológicos, particularmente lo relacionado con la vida de almacenamiento y calidad cuando maduran.

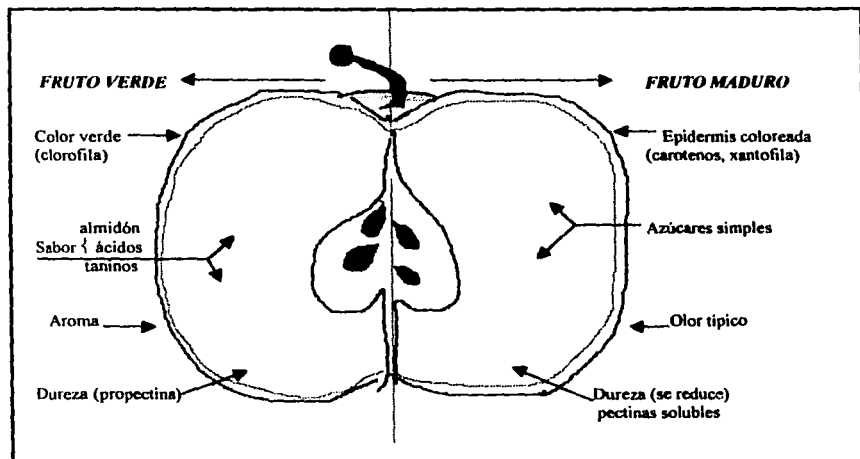
Una definición más completa sobre madurez hortícola sería la fase en la cual un producto ha alcanzado un estado suficiente de desarrollo como para ser cosechado y que después del manejo postcosecha dichos productos tengan mínimamente una calidad aceptable. (Gallegos,1997)

2.2 CAMBIOS BIOQUIMICOS DURANTE LA MADURACION.

Los cambios aparentes asociados con la maduración de la mayoría de las frutas, incluyendo cambios de color, sabor y textura; así como la abscisión de la fruta del árbol y en algunos casos, desarrollo de cera en la piel, que le da el brillo característico de algunas frutas.

Detrás de estos cambios, percibidos por los sentidos, existen otra serie de cambios en la composición y metabolismo de la fruta así como cambios en los niveles hormonales, respiración y organización celular.

Figura No. 5 Comparación de algunos cambios que sufre un fruto entre su estado verde y maduro.



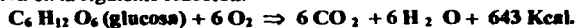
Fuente: Duran, Frigoconservación de la fruta, Acribia, España, 1993, pág. 20.

2.2.1 Cambios en Respiración.

Es importante conocer la actividad respiratoria de una fruta, ya que se asocia con la velocidad con que se está llevando a cabo el proceso de maduración y por lo tanto, se considera un índice de la vida potencial del producto.

Los cambios bioquímicos asociados con el proceso de maduración, requieren de la energía proporcionada por la respiración, sobre todo cuando ocurren después de que la fruta ha sido cosechada.

Como se observa en la siguiente reacción:



La respiración en las frutas se lleva a cabo de manera similar que en el cuerpo humano: en presencia de oxígeno, los carbohidratos son oxidados a CO_2 y agua, con la producción de

ATP, la forma en que la célula utiliza y almacena energía. En ausencia, o muy baja concentración de O_2 , se presenta la respiración anaeróbica, resultando en la utilización parcial de los carbohidratos y una menor cantidad de ATP producida por unidad de azúcar.

Esta energía o ATP es utilizada en su mayoría para los procesos metabólicos de la fruta y la energía que no se consume es liberada en forma de calor (calor de campo).

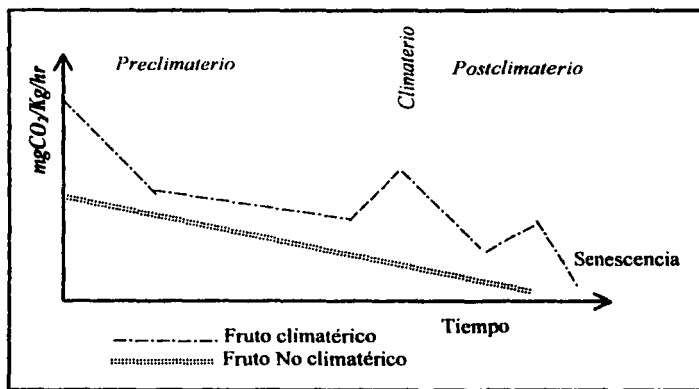
La actividad respiratoria se determina midiendo la cantidad de O_2 consumido, o bien, la cantidad de CO_2 producido por unidad de peso y tiempo ($mg\ CO_2 / kg\cdot h$). La respiración no siempre se realiza a la misma intensidad, siendo su ritmo bastante irregular en el transcurso de la vida del fruto.

Se ha observado que en algunas frutas como el mango, plátano y manzanas al inicio de la maduración, se presenta un aumento progresivo en la actividad respiratoria hasta llegar a un punto máximo (pico climatérico) y a partir del cual nuevamente desciende. A este tipo de comportamiento respiratorio se le denomina "respiración climatérica" y está asociada con el grado de madurez con que se encuentra el fruto. Cabe señalar que el climatérico señala el inicio de la senescencia del fruto y el tiempo en el disparo de la respiración corresponde con los primeros signos visibles de maduración; pero el pico se presenta justo antes de que el fruto adquiera sus características adecuadas de comestibilidad.

Otras frutas como el limón, fresa, naranja y uva entre otros, presentan un patrón respiratorio que se mantiene casi constante durante el periodo de maduración y a éste tipo de comportamiento se le denomina "respiración no climatérica" y en este caso no existe una relación directa entre los cambios que se manifiestan en la maduración y la respiración de la fruta.

No se han demostrado claras diferencias metabólicas entre frutas climatéricas y no climatéricas, si bien la maduración de las frutas catalogadas no climatéricas suele realizarse más lentamente. (Kader, 1992)

Figura No. 6 Comportamiento respiratorio de un fruto climatérico y uno no climatérico.



Fuente: Calderón Alcaraz, Fruticultura General, LIMUSA, México, 1986.

A excepción del aguacate, las frutas climatéricas normalmente maduran en el árbol, pero por lo general son cosechadas antes del pico climatérico y almacenadas en condiciones apropiadas para retardar el proceso de maduración. Las frutas no climatéricas normalmente se dejan madurar en la planta antes de ser cosechada.

Se ha observado que algunas frutas climatéricas cuando se les deja madurar en el árbol, también presenta lo que se denomina "climaterio en el árbol". El aumento en la respiración en este caso es más lento, pero alcanza valores de hasta un 50% más altos que en el pico climatérico de las frutas desprendidas del árbol.

En la mayoría de las frutas tropicales y subtropicales, el aumento en la respiración ocurre rápidamente después de su cosecha y la madurez comestible corresponde a un estado cercano del pico climatérico, ejemplos de dicho fenómeno están: el aguacate, plátano, mango, a diferencia de aquellos de clima templado: manzana, durazno, donde la maduración comestible es posterior al pico climatérico y los cambios son más lentos. (Calderón, 1986)

2.2.2 Producción de etileno.

El etileno es considerado como la "hormona de la maduración de los frutos" ya que esta molécula es biológicamente activa a bajas concentraciones, siendo sus efectos espectaculares y de importancia comercial.

La producción de etileno aumenta marcadamente con el aumento climatérico de la tasa respiratoria y su biosíntesis es a través de la metionina y quizás del ácido linoleico.

Se ha observado que cuando una fruta ha sufrido algún daño, la producción de etileno se eleva notablemente.

Este daño puede ser debido a diversos factores como pueden ser: presencia de insectos o microorganismos, daños mecánicos (golpes y magulladuras producidas durante la cosecha, transporte y/o almacenamiento) y pérdida de agua o deshidratación de la fruta. (Cheftel, 1983) Este aumento en la producción de etileno debido a un daño en la fruta, se le a denominado "stress de etileno", y provoca una aceleración en la maduración de la fruta.

Normalmente, la aplicación de mínimas cantidades de etileno (del orden de ppm) a frutas climatéricas inmaduras, estimula la respiración, adelanta la aparición del climatérico e induce la maduración. La efectividad de la aplicación del etileno depende de la temperatura y estado de madurez de la fruta, ya que la inducción o aceleración de la maduración sólo será efectiva si el etileno es aplicado en frutas preclimatéricas.

En frutas no climatéricas, la aplicación de etileno no induce a la maduración, pero puede tener efectos tanto en la actividad respiratoria, como la pérdida de clorofila en la fruta. (Kader, 1992)

2.2.3 Carbohidratos.

Por ser el grupo de compuestos que se encuentran en mayor proporción en las frutas, las modificaciones que sufren los carbohidratos durante la maduración son muy evidentes.

Uno de los cambios más notables es la hidrólisis del almidón, dando lugar a la formación de mono y oligosacáridos (principalmente glucosa, fructuosa y sacarosa), lo cual se manifiesta principalmente en el sabor de la fruta: aumenta su dulzor. En general, el momento óptimo para la recolección coincide con la desaparición del almidón en el fruto.

Así mismo, las sustancias pécticas que constituyen la estructura celular, sufren hidrólisis en donde la protopectina insoluble se transforma a pectina soluble y ésta posteriormente se demetoxila y depolimeriza parcialmente debido en parte, a una síntesis acelerada de pectinasas. Estos cambios afectan a las paredes celulares provocando un ablandamiento en la fruta. (Fennema, 1985)

2.2.4 Cambios en Pigmentos.

Otro de los cambios mas evidentes es la desaparición del color verde y la aparición del color característico de cada fruta. Estos cambios de color se deben a que la clorofila, pigmento responsable del color verde en los vegetales desaparece y propicia el desenmascaramiento y/o biosíntesis de carotenoides (pigmentos amarillos, anaranjados y rojos) existentes en los tejidos de las frutas.

La síntesis de carotenoides puede proseguir durante el almacenamiento pero esos mismos pigmentos son, al mismo tiempo, destruidos progresivamente por oxidación, especialmente de la luz.

En algunas frutas existen además, formación o síntesis de nuevos carotenoides y de antocianinas (pigmentos rojos), que dan lugar a los pigmentos característicos de los frutos maduros. Cheftel, 1983)

2.2.5 Cambios en Ácidos Orgánicos.

En los ácidos orgánicos se presentan también un cambio en el contenido y cantidad de los mismo ya que en el paso de la maduración tienden a disminuir al llegar a la senescencia del fruto (esta pérdida cabe atribuirla a su oxidación en el metabolismo respiratorio).

Tal disminución, da como consecuencia una disminución de la acidez, que repercute en el sabor de la fruta y un aumento en el pH.

También la relación azúcares/ácidos varía, al madurar el fruto, la acidez disminuye y los azúcares aumentan. (Fennema, 1985)

2.2.6 Cambios en componentes menores.

En la maduración de un fruto hay cambios en otros componentes que aunque se encuentran en menor proporción no dejan de ser importantes, tales como:

Síntesis de compuestos volátiles (alcoholes, aldehídos, derivados del isopreno, etc.), que contribuyen al aroma de la fruta madura.

Síntesis de cutina, que proporciona el brillo en la superficie de la fruta.

Degradación y polimerización de compuestos fenólicos, que ocasionan por una disminución en la susceptibilidad al obscurecimiento enzimático y por otra, disminución en la astringencia. (Durán, 1993).

3. PARAMETROS DE CALIDAD EN FRUTOS FRESCOS.

El término calidad involucra una serie de factores de gran importancia para la aceptación y valorización del producto en el mercado y de ella depende en gran medida la rentabilidad de un cultivo. Por lo tanto, para cada especie de fruta y hortaliza, existe una reglamentación

normalizada y una estandarización de las características de calidad, llamada "Norma de Calidad".

Así los productos agrícolas se pueden clasificar en las siguientes clases:

Clase 1. Primera, extra o tipo de exportación.

Clase 2. Segunda, nacional o industrial.

Clase 3. Tercera o mínima.

Para el mercado interno se deben considerar las Normas Oficiales Mexicanas, pero en el caso de un producto para exportación se deberá de tomar en consideración las Normas establecidas en el país hacia donde se va a comercializar el producto.

En el siguiente cuadro se establecen los componentes que deben tomarse en cuenta para realizar una clasificación en función a los parámetros de calidad.

Tabla No. 6 Parámetros de calidad en frutos.

<i>PARAMETROS</i>	<i>COMPONENTES</i>
A. Apariencia visual	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tamaño: dimensiones, peso, volumen. 2. Forma y geometría: relación diámetro/ profundidad, suavidad, solidez. 3. Color uniformidad, intensidad. 4. Brillantez. 5. Defectos externos, internos. <ol style="list-style-type: none"> a) fisiológicos mecánicos (resequedad daños). b) Fisiológicos (pudriciones). c) Patológicos (causados por hongos, bacterias o virus). d) Entomológicos (causadas por insectos).
B. Textura (tacto)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Firmeza, dureza, suavidad. 2. Suculencia, jugosidad. 3. Arenosidad, chiclosidad. 4. Dureza, fibrosidad.
C. Flavor (sabor y olor)	<ol style="list-style-type: none"> 1. Acidez 2. Astringencia 3. Amargura. 4. Aroma (compuestos volátiles) 5. Malos sabores y olores.
D. Valor nutritivo.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Carbohidratos (incluyendo fibra dietética). 2. Proteínas. 3. Lípidos. 4. Vitaminas. 5. Minerales.
E. Seguridad.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tóxicos naturalmente presentes 2. Contaminantes (residuos químicos, metales pesados, etc.) 3. Contaminación microbiana.

Fuente: Kader Adel A, "Índice de madurez, factores de calidad, normalización e inspección de cultivos hortícolas". Memorias sobre Fisiología y Tecnología Postcosecha, Hermosillo Sonora, 1992.

Aunque los mejores niveles para cada uno de estos factores resultan de difícil determinación, debido a que pueden ser muy relativos según las apreciaciones subjetivas, desde una perspectiva general puede afirmarse que es conveniente que la fresa presente una buena firmeza para que les proporcione buenas condiciones para el transporte, una menor susceptibilidad a los ataques de hongos y por lo tanto una mayor capacidad de conservación. En el caso de la fresa, la Norma de Calidad Mexicana solo establece la definición del producto, una clasificación por tamaños, especificaciones sensoriales y defectos. (Ver Anexo 10)

3.1 METODOS DE MEDICION Y EVALUACION PARA EL COLOR Y LA TEXTURA.

3.1.1 COLOR.

El color de un objeto no es una propiedad del mismo, ni una luz; es el efecto de un estímulo sobre la retina, que el nervio óptico transmite al cerebro donde este último lo integra. Esto es, la retina del ojo humano tiene tres tipos de moléculas receptoras del color que contienen los conos de las células. Cada pigmento corresponde a un tono primario rojo, azul y verde. Un determinado estímulo de color puede dar respuesta en los tres receptores y el modelo de éste corresponde a una determinada calidad de la sensación, por lo que se puede decir que el color está asociado con las ondas luminosas. Generalmente, el estímulo consiste en una luz reflejada (o transmitida) por el objeto, a partir de una iluminación incidente. El color es un factor importante para valorar la calidad de un alimento. En efecto, frecuentemente está ligado a la maduración, presencia de impurezas, realización apropiada o defectuosa de un tratamiento tecnológico, malas condiciones de almacenamiento, comienzo de una alteración por microorganismos, etc. Por eso se basan en el color varios métodos oficiales para valorar la calidad de los alimentos. (Cheftel, 1983)

COLOR DE LAS FRUTAS.

La amplia gama en colores de frutas y legumbres se debe a los pigmentos localizados en los plastos, vacuolas y el líquido citoplasmático de las células, muchas veces limitado sólo a las células epidérmicas (por ejemplo algunas variedades de uvas). Los pigmentos más característicos pertenecen a tres grandes grupos:

- Las clorofilas, verdes y liposolubles.
- Los carotenoides, amarillos y naranja, también liposolubles.
- Las antocianinas son rojas o azules e hidrosolubles (flavonoides).

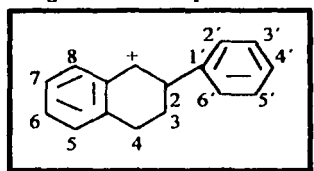
Para este estudio nos enfocamos solamente a las antocianinas que son las responsables de dar el color rojo a las fresas. (Hawthorn, 1988)

ANTOCIANINAS

Las antocianinas son compuestos hidrosolubles con características de glucósidos; están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglucona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agluconas es el ión flavilo que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B). Los hidratos de carbono que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa,

seguidos de la galactosa, la xilosa y la arabinosa y, ocasionalmente, la gentiobiosa, la rutinosa y la soforosa; todos ellos se unen a la antocianidina por medio del hidroxilo de la posición 3, y en segundo término, de la 5 y 7. Cuando en una misma molécula se encuentran dos azúcares, éstos se localizan en los hidroxilos 3 y 5, produciendo una estructura que generalmente es más estable que cuando sólo contienen un solo monosacárido. (Badui, 1981)

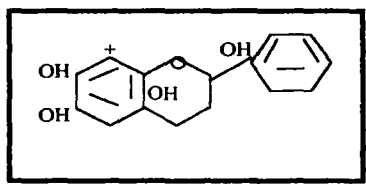
Figura No. 7 Grupo Flavilo.



Fuente: López Galarza, Producción de fresas y fresasas, 1988.

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez. Es muy común que una misma antocianidina interacciones con más de un hidrato de carbono para formar diferentes antocianinas. Son responsables de los colores rojo, anaranjado, azul y púrpura de las uvas, manzanas, rosas, fresas y muchos otros productos de origen vegetal, principalmente frutas y flores. Generalmente se encuentran en la cáscara o piel, como en el caso de las peras y manzanas, pero también se pueden localizar en la parte carnosa, como en las fresas y las ciruelas. (Badui, 1981)

Figura No. 8 Estructura de la Pelargonidina



Fuente: López Galarza, Producción de fresas y fresasas, 1988.

Debido a que las antocianidinas no se encuentran en estado libre en los alimentos, su presencia es indicio de una posible hidrólisis química o enzimática del enlace glucosídico del pigmento; esta reacción no necesariamente causa la pérdida del color, pero la aglucona se vuelve más sensible a muchos factores externos, e incluso puede precipitar; en ambos casos el color se ve fuertemente afectado después de algún tiempo. (Badui, 1981)

La antocianidina responsable de darle el color a las fresas es la pelargoidina, la cuál es muy termolábil degradándose a productos de color pardusco; cuya estructura es pelargonidin-3-monoglucósido, donde el azúcar unido es la glucosa (Hawthorn, 1988)

ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS.

El color de las antocianinas depende de varios factores:

- **pH.** Debido a una deficiencia del núcleo de flavilio, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH. Su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema por lo que a pH ácidos adquiere una estructura estable de catión flavilio rojo y cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul; la hidratación del flavilio produce la base carbinol incolora. Los cambios fisiológicos en la maduración de la frutos lleva consigo alteraciones en el pH y, por tanto, modificaciones en el color del tejido vegetal.
- **Temperatura.** Los tratamientos térmicos también influyen; se ha visto que en las fresas se presenta una relación logarítmica entre la pérdida del color y la temperatura.
- **Acido ascórbico.** Cuando ocurre la oxidación de este ácido las antocianinas se tornan de un color café rojizo.
- **Actividad de Microorganismos.** Glucosidasas, fenolasas, causan variación o pérdida de color.
- **Aire y luz.** Provocan pérdida de color. (Hawthorn, 1988)

MEDICION DEL COLOR.

La importancia del color es decisiva en la evaluación sensorial de los alimentos. Si pretendemos describir el color con palabras, nos encontramos con que el lenguaje es pobre en vocablos, poco nos dicen para que nos hagamos una idea de la variada gama de colores que pueden apreciarse bajo estas palabras. Puesto que el color se capta con el sentido de la vista, la mejor forma de imaginárselo es visualizándolo.

La visualización del color se realiza por comparación de estándares de color, atlas, cartas, abanicos o comparadores especiales de color, en donde la muestra es comparada. Todos estos desarrollados para estudiar las propiedades básicas del color. Entre los más sobresalientes se encuentran los realizados por Munsell (1929), Oswald (1931), CIE (1931) y Hunter (1942).

Sistema Munsell.

Se encuentra basado en el principio de la percepción visual de pequeñas diferencias de color, el sistema Munsell a la vez muestra una colección de pinturas que representan intervalos iguales en la percepción del color para diferenciar entre muestras adyacentes, y el sistema describe todos los posibles colores en términos de tres coordenadas Tono Munsell (H), Valor Munsell (intensidad luminosa) y Cromo Munsell. Estas coordenadas corresponden a tres variables comúnmente usadas para describir el color: Tono, Cromo y Luminosidad. Las muestras del libro de color de Munsell están usualmente dispuestas o arregladas en planos o bien páginas de tono (mattiz) constante. En cada página, las muestras están arregladas por Valor Munsell en dirección vertical y por Cromo Munsell en la dirección horizontal. Una escala de grises, con el blanco en la cima y el negro en el fondo. El espacio Munsell se representa por un árbol con ramas de diferente longitud. El espacio se construye según coordenadas cilíndricas. Cada muestra porta una *Notación Munsell* que denota su posición;

está notación consiste de tres símbolos que representan el Tono, Valor y Cromía Munsell en este orden. El Tono Munsell es expresado por la combinación de un número y una letra 5Y ó 2GY donde las letras son tomadas de los diez nombres del tono (Rojo, Amarillo, Verde, Azul, Púrpura, y de las cinco parejas adyacentes a estos, ejemplo Verde-Amarillo) y los números corren del 1 al 10. El Valor y Cromía Munsell son escritos después de la designación del tono y están separados por una línea diagonal (/). Un típico Munsell completo designado es 5 Y 5/6.

Dos características sobresalientes del sistema Munsell contribuyen a su provecho y amplia aceptación. La primera es que iguala la percepción visual dentro de los límites de cromía, las muestras se encuentran tabuladas en el Libro Munsell de Color. No hay otro sistema tan bueno en este aspecto, el sistema Munsell es el estándar de todos los demás sistemas. El segundo mayor avance es la notación, ya que cualquier color existente puede ser ajustado dentro del sistema y de esta forma ser reproducido con colorantes.

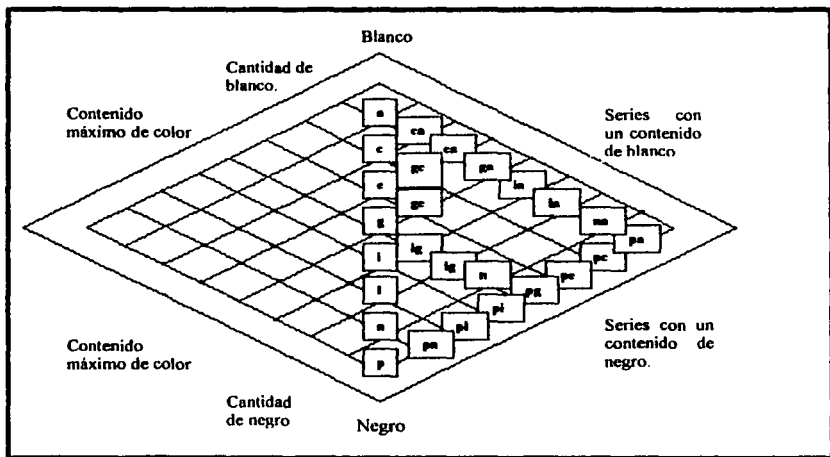
En un principio la denominación Munsell estuvo determinada por una maraña, por lo que el sistema requirió de ajustes para evitar errores al reproducir el color. La nueva denominación es conocido como el sistema rotacional Munsell. El sistema Munsell es usado como la base del sistema ISCC-NBS para designarle nombre a los colores, el cual se desarrolló para estandarizar la descripción verbal del color por nombres. (LAPRYFAL, 1993)

Sistema Ostwald.

En este sistema los colores son descritos como "saturación del color", "contenido de blanco" y "contenido de negro", basados en términos de idealización de curvas espectrométricas que se obtienen a partir del estudio de los colores. La organización del sistema Ostwald enfatiza en las escalas de color, teniendo un contenido constante el tono, contenido constante de negro y contenido constante de blanco, éste sistema es particularmente importante para pintores, artistas, fabricantes de tinta y todos los que trabajan con mezclas de pigmentos coloreados con negro y blanco, en la gráfica se muestra como son tabulados los colores, la gráfica está determinada por la longitud de onda de las partes verticales de la curva espectral de reflectancia.

Una colección de muestras arregladas con los principios del sistema Ostwald es conocida como *Manual de Armonía del color*, en donde se encuentran más de 900 muestras con tonos brillantes y tonos moteados, se arreglan en grupos por tono de Ostwald. Cada grupo contiene un pigmento aproximado a un "semicroma" Ostwald (color que no contiene blanco o negro) y mezclas de él con negro y blanco, formando escalas de saturación de negro, saturación de blanco y saturación de color. (Little, 1977)

Figura No. 9 Sistema ajustado de coordenadas de color del sistema Oswald, basado en el contenido de blanco y negro



Fuente: LAPRYFAL, FES CUAUTITLAN, Manual del Color, pág. 8.

Sistema CIE y Hunter.

La CIE (Comisión Internacional de l'Eclairage o International Commission on Illumination), desarrolló el sistema más influyente para la descripción del color. En 1931 CIE realizó una descripción numérica de la respuesta del color al ojo humano, estas expresiones son "x", "y" y "z". Este sistema se basa en el uso de fuentes estándar de iluminación y de observación. Este usa los valores triestímulos obtenidos por la CIE ("x", "y" y "z"), basados en el espectro visible. Todo color es así únicamente especificado para este grupo de tres primarios imaginarios: rojo (x), verde (y) y azul (z), dando datos de color más intuitivos y fáciles de interpretar, estos valores triestímulos son usados para convertir a otras escalas de color.

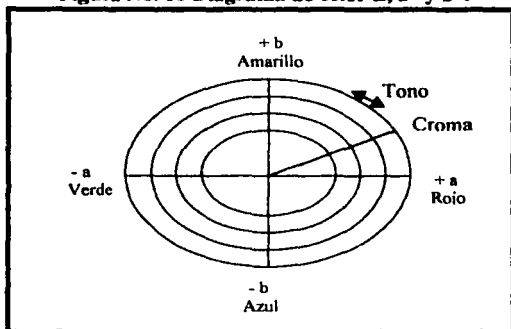
Hunter desarrolló colorímetros que leen directamente el reflejo de la luz, la cuál está basado en las coordenadas de la escala CIE. A partir de este estudio se desarrollaron la escala de CIE L^* , a^* , b^* (Figura No.10) y la Hunter L, a, b. Cualquiera de las dos escalas proporciona información significativa, aunque la mayor parte de los investigadores, utiliza el sistema CIE L^* , a^* , b^* para la medición de color.

Las escalas de color Hunter L, a, b y CIE L^* , a^* , b^* son dos sistemas que miden el grado de luminosidad (L), el grado de rojo a verde (+/-a), y el grado de amarillo a azul (+/-b).

El color puede ser medido por medio de un colorímetro o un espectrofotómetro. Los valores triestímulos obtenido de los colorímetros son ideados o diseñados para reproducir las sensaciones psico-físicas de un hombre en la percepción visual del color. (LAPRYFAL, Manual del Color, 1993)

El humano y los colorímetros ven de forma diferente el color. El ojo humano ve el color en términos de claridad "valor", ésta cualidad del color se describe por las palabras luminosidad, obscuridad, oscuro, etcétera, tono (nombre del color, rojo, azul, etc.) y croma (hasta cierto punto describe la pureza del color), estos integran algunas de varias señales complejas dentro de estos tres componentes. Los colorímetros no tienen la capacidad de integrarse directamente y así tienen que romper lo señalado descendiendo dentro de una construcción simple. Los instrumentos ven en términos de claridad o luminosidad L, se representa en una escala de 0 a 100, y varía de negro (0) a blanco (100), mientras que a y b expresan cromaticidad, así a varía de verdes (valores negativos) a rojos (valores positivos), y b de azul (valores negativos) a amarillo (valores positivos). El lenguaje del instrumento mide L, a y b, puesto que tono, croma y claridad son términos relacionados a la percepción humana. Se puede convertir el lenguaje del colorímetro por medio de unos simples cálculos matemáticos, a números que tienen relevancia para los humanos.

Figura No. 10 Diagrama de color L, a* y b*.



Fuente: LAPRYFAL, Manual del Color, Little C. Angela, Colorimetry of Anthocyanin Pigmented Products

3.1.2 TEXTURA DE ALIMENTOS.

Consumimos los alimentos básicamente por la necesidad del organismo de sus nutrimentos, pero el comer es también entendido por el hombre como un placer, de hecho, la masticación proporciona sensaciones placenteras que satisfacen una necesidad humana básica. En este sentido, el hombre juzga sensorialmente la calidad de los alimentos que consume en base a los atributos que percibe por medio de los sentidos individualmente, los cuales son procesados en el cerebro como una impresión global de calidad. Con el sentido del gusto y el olfato se percibe el olor y sabor de los alimentos, con la vista su color, tamaño y forma (percepción visual de las características de la superficie: lisa, rugosa), con el tacto (manos, lengua, paladar, etc.) la manifestación física de la estructura interna, con el oído se puede percibir el sonido emitido al morder una manzana, una galleta o una manzana, el sonido al liberarse el CO en dulces, etc.

En lo referente a las propiedades mecánicas, éstas se refieren a la manera en que los materiales responden a la aplicación de fuerzas, a consecuencia de las cuales se deforman o fluyen en función del tiempo. La medición de esta respuesta constituye el campo de la reología y la textura.

Es difícil dar una definición estricta de textura, pero muchos autores se refieren a ella en términos de la percepción de las propiedades mecánicas de los materiales por medio del tacto - la textura se relaciona a los constituyentes estructurales del material y este es evaluado a través del tacto- en forma oral o no oral, como resultado de la aplicación de un esfuerzo; no se refiere a una sola propiedad si no al conjunto de varios atributos. Las propiedades texturales se relacionan a la deformación, desintegración, y al flujo de los alimentos bajo una fuerza. Estos son medidos objetivamente por las funciones del tiempo, masa y distancia. La viscosidad puede ser definida como la fricción interna de un fluido o la tendencia a la resistencia de un flujo. La distinción entre textura y viscosidad parece simple. La viscosidad se relaciona a todos los alimentos fluidos o bien a los alimentos que fluyen, y la textura se refiere a alimentos sólidos. La Reología es la ciencia que se encarga del estudio de la deformación y el flujo de materiales.

Desafortunadamente, muchos alimentos son materiales complejos. Muchos alimentos sólidos exhiben algunas de las propiedades de los fluidos o algunos alimentos líquidos tienen propiedades texturales de sólidos. Es por eso, que la textura puede ser considerada como una manifestación de las características reológicas de un alimento.

Debido a la importancia de la textura en la calidad de los alimentos, se han hecho importantes esfuerzos por sistematizar su evaluación ya sea desde el punto de vista sensorial como por métodos instrumentales.

TIPOS DE PRUEBAS PARA LA EVALUACION DE LAS PROPIEDADES MECANICAS DE LOS ALIMENTOS.

El estudio de las propiedades mecánicas de los materiales se efectúa a través de diferentes tipos de pruebas:

Fundamentales

A través de éstas se obtienen las funciones materiales, o sea, aquellas que solo dependen del material y no del instrumento y el método. Los resultados se expresan en términos de potencias de masa, longitud y tiempo y todas las variables son conocidas y controladas.

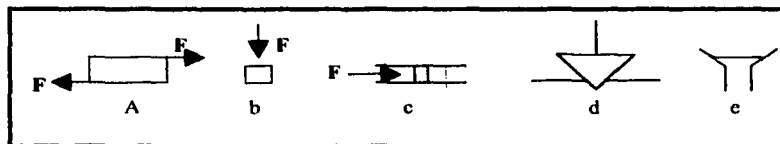
Estos métodos son usados principalmente en investigación básica y requieren por lo general de instrumentos sofisticados y costoso, en especial para materiales de estructura y comportamiento complejo. SE utilizan viscosímetros y reómetros. Se recurre a estas pruebas como apoyo o complemento para determinar la estructura de los materiales, cuando se requiere caracterizar rigurosamente el comportamiento del mismo, para diseño de equipo, control de calidad, etc.

Empíricas.

Son aquellas que se efectúan con instrumentos que con frecuencia son diseñados o construidos para un material específico, por lo que los resultados son función del instrumento, el método, la carga aplicada, la velocidad de aplicación de la carga, la geometría, dimensiones y orientación de la muestra y las condiciones, lo que ocasiona que no sean reproducibles ni

puedan expresarse en términos de cantidades reológicas fundamentales (potencias de masa, longitud y tiempo). Los instrumentos utilizados son sencillos y económicos. La fuerza puede aplicarse en varias formas como los mostrados en la figura 11.

Figura No. 11 Esquema de algunos métodos disponibles para someter los alimentos a una fuerza



a) cizalla, b) compresión, c) extrusión, d) penetración, e) flujo.
Fuente: Casas Alencaster Norma B., Textura de Alimentos

Imitativas.

Son aquellas que tratan de imitar las operaciones humanas sobre los materiales para juzgar su comportamiento mecánico (masticación, presión con los dedos, etc.) y asume que las fuerzas de reacción desarrolladas por la muestra representan las reacciones humanas. Los movimientos complicados y los complejos esfuerzos desarrollados hacen imposible el análisis teórico de los resultados.

Sensoriales.

El perfil de textura fue definido por Brandt en 1963 como: "el análisis organolépticos del complejo de la textura de un alimento en términos de sus características mecánicas, geométricas, de grasa y humedad, el grado de cada característica presente y el orden en que ellas aparecen desde la primera mordida a través de la masticación completa". (Casas, 1997)

EVALUACION EMPÍRICA DE LA TEXTURA.

Entre los dos tipos principales de instrumentos de medición por métodos empíricos se encuentran los que miden la fuerza y los que miden la distancia. Los primeros miden la fuerza requerida para penetrar, comprimir, deformar o extruir un alimento. La fuerza empleada causa en el alimento una compresión irreversible; la profundidad de penetración se mantiene constante y se mide la fuerza ejercida. En el equipo medidor de distancia, el alimento se somete a una fuerza constante, y se mide la deformación.

PRUEBAS DE PENETRACIÓN.

Para el control de calidad y el desarrollo de productos en las áreas farmacéuticas (cremas, cosméticos, polvos, tabletas), química (grasas, ceras, lubricantes) y de alimentos (grasas, mantequillas, queso, geles, pan, frutas, chocolate, etc.), las pruebas de textura son comúnmente utilizadas. Entre otras pruebas empíricas para evaluar propiedades texturales de los alimentos, se encuentran las pruebas de penetración o punción.

La penetrometría se refiere a la penetración o sumergimiento de un dispositivo o cuerpo en el material de prueba. Si las condiciones de prueba se estandarizan es posible obtener importante

información acerca de la consistencia de un producto. Para tal fin, existen instrumentos comerciales conocidos como penetrómetros, diseñados específicamente para diferentes productos (frutas, grasas, etc.). Por ser equipos de sencillo manejo, de bajo costo y por la rapidez de las pruebas, los hacen aparatos muy utilizados en la industria para fines de control de calidad y desarrollo de productos. Su aplicación es más amplia es en geles y en materiales plásticos como grasas, chocolates, etc.

En las pruebas de penetración el material es sometido a una combinación de compresión y cizallamiento. Como resultado puede producirse un flujo en materiales sólidos o semisólidos debido a la debilidad de la estructura y en materiales de estructura más fuerte el material se cizalla y se comprime además del flujo. Mientras tanto, en materiales sólidos la prueba es generalmente de tipo destructivo.

El origen de las pruebas de penetración se remonta a la necesidad de la industria enlatadora de tener medidas objetivas de la madurez de frutos y hortalizas en base a la textura. Los penetrómetros para frutas constan de un dispositivo cilíndrico de diferente diámetro unido a un resorte calibrado y un indicador de carátula que registra en lb o Kg la fuerza ejercida manualmente para que el dispositivo penetre hasta cierta distancia determinada por un tope.

A continuación se mencionan los principales tipos de penetrómetros.

- Penetrómetros de peso constante. Son los más sencillos y operan por medio de la acción de la gravedad en donde la velocidad a la que se introduce el dispositivo al alimento es variable. El Penetrómetro Universal de Pression Scientific es de este tipo.
- Penetrómetros de velocidad constante (el dispositivo se introduce a velocidad controlada).
- Penetrómetros con indicador digital de distancia y/o tiempo.
- Penetrómetros que miden fuerza (dinamómetro).
- Penetrómetros con registradores para curvas fuerza-tiempo.
- Texturómetros que entre otras pruebas realizan penetración. (Giese, 1995)

4. GENERALIDADES DE PELICULAS PROTECTORAS.

Comúnmente los alimentos se envasan en recipientes metálicos, de vidrio, plástico o de cartón, para mejorar la conservación, protegerlos de contaminaciones microbianas, efecto del oxígeno, de la humedad atmosférica y contra daños mecánicos. Los envases se descartan o se reciclan al consumir los alimentos. Por otro lado, cuando se aplican películas protectoras para la conservación de alimentos, éstas deberán tener ciertas características específicas que les permitan jugar el papel de material de envase, participar como componente del alimento tratado, disminuir la pérdida de humedad, impartir brillo, establecer una barrera contra contaminaciones microbianas o retardar la respiración en caso de frutos. (Paredes Lopez, 1974).

Las películas comestibles pueden ser arbitrariamente definidas como una capa o capas delgadas de material el cual puede ser ingerido por el consumidor como parte del alimento. Dichas películas son elaboradas exclusivamente de sustancias comestibles y se han empleado para proteger alimentos alargando su vida de anaquel y las cuales han sido usadas ampliamente en una forma empírica para proteger alimentos desde tiempos antiguos. Por ejemplo se puede citar la protección frente a la desecación e intercambios gaseosos de trozos de carne mediante recubrimiento con grasa (que se practica desde el siglo XVI en Europa), de algunos productos de bollería con azúcar o chocolate o de ciertas frutas por recubrimiento con películas de cera (practicado en China desde el siglo XII), el recubrimiento de semillas de oleaginosas contra los rayos ultravioleta para evitar el enranciamiento o sobre rebanadas frescas de manzana para evitar el oscurecimiento enzimático o como recubrimientos sobre otros frutos como cítricos o jitomate, para disminuir la velocidad de respiración.

Las películas comestibles representan un parámetro interesante y a menudo un complementario esencial para controlar, aumentar la calidad y estabilidad de muchos alimentos en donde los materiales que se emplean son materias primas en estado natural o subproductos de algún proceso tecnológico sobre los alimentos como son los granos completos, harinas, proteínas, almidón, etc. Los materiales de origen agrícola son en teoría completamente biodegradables e inclusive pueden llegar a ser totalmente comestible cuando se utilizan para su elaboración aditivos grado alimentario y solventes no tóxicos (mezclas de etanol-agua a distintos pH) (PUAL, Martín Polo, 1997).

Las películas comestibles ofrecen numerosas ventajas, aunque también deben cumplirse una serie de condiciones que se resumen en la tabla No. 7. En particular, deben poseer buenas propiedades sensoriales y ser soluble o dispersable en la boca o en el agua o aceite empleado para preparar el alimento. Sus propiedades mecánicas y protectoras pueden ser reforzadas mediante la incorporación de aditivos tales como plastificantes, agentes antimicrobianos o antioxidantes. La composición de la película debe estar bajo la reglamentación sanitaria de cada país en el cual se aplique a los alimentos, a su fabricación, información, almacenamiento y distribución. (Boreau, 1995).

Tabla No. 7 Películas comestibles: ventajas y condiciones requeridas

VENTAJAS	CONDICIONES
<ul style="list-style-type: none"> • Consumo directo con el alimento. • Materiales poco costosos. • Pueden dar protección a pequeñas porciones del alimento (individualmente). • Retardo de la transferencia de gases, grasas y solutos. • Disminución de la pérdida de sustancias volátiles (aromas). • Protección frente a contaminantes microbianos u otros, y frente a ciertos agentes externos(agua, oxígeno, etc.). • Mejoran las propiedades de autoconservación, organolépticas y nutricionales. • En gran parte biodegradables 	<ul style="list-style-type: none"> • Palatabilidad (solubilidad, dispersabilidad en la boca o durante su preparación). • Propiedades organolépticas compatibles con la naturaleza del alimento. • Buenas propiedades mecánicas. • Estabilidad (conservación) suficiente. • Tecnología simple. • Ausencia de toxicidad. • Composición acorde con la reglamentación relativa a la aplicación alimentaria. • Termosellable y/o buena adhesión a la superficie del alimento. • Funcionalidad en las condiciones de empleo.

Fuente: Boreau , Embalaje de los alimentos de gran consumo, Acribia, España, 1995, pág. 333

4.1 TIPOS DE PELICULAS

Entre los tipos de películas usadas para el recubrimiento de alimentos se pueden citarse las siguientes.

Tabla No. 8 Tipos de películas.

TIPO DE PELICULA	EJEMPLO
HIDROFOBICAS	<p>Sólidos: Ceras (jojoba, cera de abeja, candelilla), chocolate, ácidos grasos y derivados acetilados (palmítico, esteárico, láurico), alcohol de ácidos grasos.</p> <p>Líquidos: Aceites (cacahuete, maíz, soya, girasol).</p>
HIDROFILICAS	<p>Proteínas: Colágeno, gluten, caseína, zeína, gelatina.</p> <p>Polisacáridos: Amilosa, almidón y sus derivados, dextrinas, alginatos, carragenina, derivados de la celulosa (metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa).</p>

Fuente: PUAL, Martín Polo, Tema: Bioempaques, Interacción y compatibilidad de envase - producto alimentario, Mayo, 1997.

4.1.1 PELICULAS HIDROFOBICAS.

LÍPIDOS

El envolvimiento de productos alimenticios en grasa tiene una larga historia, por ejemplo como cubiertas de chocolate, encerado de frutas entre otros. Una variedad de compuestos de lípidos han sido utilizados como cubiertas protectoras, las cuales al ser de naturaleza hidrofóbicas (mientras contengan resinas: laca, resina de madera), su función es la de bloquear el transporte de humedad y también pueden servir para la reducción de la abrasión de superficie durante el manejo y el control de daños por frío.

Pueden causar rancidez o una superficie grasosa en el producto y la permeabilidad al agua es considerablemente aumentada por la proporción de aceite líquido en la película. Como ejemplos de dichas películas se encuentran las ceras (abeja, candelilla), aceite mineral, parafina, ácido esteárico, ácido láurico o ésteres de sucrosa de ácidos grasos. Las ceras a utilizar deben ser no tóxicas, que no alteren la apariencia del fruto, ser de fácil eliminación con el lavado y económicas.

En las formulaciones comerciales de películas para productos hortícolas se utilizan también otras sustancias para que le confieran propiedades emulsificantes, humectantes y adherentes. (Gallegos González, 1997).

4.1.2 PELICULAS HIDROFILICAS.

PROTEINAS

Son buenas formadoras de películas y se adhieren a las superficies hidrofílicas, pero en muchos casos no resisten a la difusión de vapor de agua. Por ejemplo: caseína, gelatina, soya, gluten de trigo. Algunas cubiertas que contienen caseína contribuyen a la calidad de algunas frutas y hortalizas. Estos materiales no son solubles en agua y generalmente hay que removerlos antes de consumir el producto. Las gelatinas tienen buenas propiedades de barrera y pueden ser usadas sin ninguna restricción. Las películas de caseína son opacas y adhesivas, solubles en soluciones alcalinas pero, relativamente resistentes al agua. Las películas de soya son resistentes al agua, es blanda y flexible siempre y cuando se usen plastificadores (Greengrass, 1993).

Se hizo un intento para mejorar las propiedades de barrera de las películas de proteína por medio de la desnaturalización, entrecruzamiento o por la adición de cationes, calor, etc. obteniéndose que las películas de proteína desnaturalizadas son bastante resistentes al agua pero menos flexibles y transparentes.

Por lo tanto, se debe de controlar el uso de los desnaturalizantes para evitar un desarrollo posterior de sabores inaceptables.

POLISACARIDOS

Una variedad de polisacáridos y sus derivados han sido probados para el uso potencial como películas comestibles las cuales en forma general se puede decir que presentan buenas propiedades de barreras al gas y se adhieren a las superficies cortadas de fruta y hortalizas, pero por su naturaleza hidrofílica las hacen ser barreras pobres contra la humedad. Estas películas son fuertes, claras, relativamente resistentes al agua y relativamente inertes a los

aceites, grasas y muchos solventes orgánicos no polares. Ejemplos son: la celulosa, derivados de celulosa, pectina, almidón, quitosán, alginatos, almidones, carragenina. (San Roman Sánchez, 1997).

Recientemente se ha demostrado que el quitosán tiene la capacidad de formar películas biodegradables que pueden tener una barrera superior al oxígeno, menor fuerza de tensión y flexibilidad comparados con películas sintéticas similares al polipropileno. Pero cuando el quitosán es mezclado con epiclorohidrina, la fuerza de tensión es similar al del polipropileno. En 1984, Yang y Zill fabricaron una membrana de quitosán para ser aplicada en osmosis inversa, la cual era resistente a ácidos y álcalis (Knorr, 1991).

Bai Ruke et al. en 1988 realizó estudios sobre la permeabilidad selectiva a los gases de una película de quitosán-ácido acético y la influencia de iones metálicos sobre las propiedades de ésta. El reporta los siguientes datos.

Tabla No. 9 Propiedades mecánicas de películas a base de quitosán

Tipo de película	Fuerza de tensión (kg/cm ²)	Elogación a la fractura (%)	Módulos de tensión (kg/cm ²) x 10 ⁴
Quitosán - Acido acético	639	10	4.73
Quitosán - Ni (II)	1004	16	5.86
Quitosán - Cu (II)	753	11	4.89
Quitosán - Polietilenglicol	453	38	2.00
Quitosán - Polietilenglicol - Ni (II)	515	7	2.72

Fuente: Bai Ru-Ke et al. Selective permeabilities of quitosan acetic.... Polymer Bulletin, Vol. 20, 1988 pág. 84

Las propiedades mecánicas de la membrana Quitosán - Acido acético y Quitosán - polímero, presentan altas fuerzas de tensión y con la adición de iones metálicos dicha fuerza así como del módulo en la membrana también aumentan por lo que las películas a base de quitosán presentan buenas propiedades mecánicas y son por lo tanto un polímero aceptable para formar películas.

En cuanto a permeabilidades, el comportamiento de la película de Quitosán - ácido acético, indica una posible aplicación en la preservación de frutos y vegetales debido a la baja permeabilidad que ofrece al CO₂ por lo que puede modificar la atmósfera en el proceso respiratorio de frutos y vegetales evitando el desarrollo del CO₂.

Tabla No. 10 Propiedades de barrera de diferentes películas a base de quitosán.

Tipo de película	Permeabilidad al O ₂	Permeabilidad al CO ₂	α CO ₂ /O ₂
Quitosán - Acido acético	0.943	0.0703	0.075
Quitosán	-	-	0.75
PAV	0.90	0.143	0.16
Quitosán - PVA	4.04	1.01	0.26
Quitosán - Polietilenglicol	1.58	0.558	0.35
Quitosán - PAM	1.59	0.118	0.074
Quitosán - PVP	1.60	0.818	0.51

PAV: Polivinil alcohol PAM: Poliacrilamida; PVP: Polivinil pirrolidona.

Fuente: Bai Ru-Ke et al. Selective permeabilites of quitosan acetic... Polymer Bulletin, Vol. 20, 1988 pág. 85

En 1990 Hosokawa et al. reporta una película formada de quitosán y finas fibras de celulosa; la cual fué fuerte y con buenas propiedades de barrera y biodegradabilidad. Wong et al. en 1992 reportó una película a base de quitosán con un coeficiente de permeabilidad al vapor de agua de 3.15×10^{-1} g/m²·día·atm a condiciones ambientales (23°C y 50% de Humedad Relativa) y de una transmisión de oxígeno de 11.02 cc/m²·día· atm pero sin especificar las condiciones de plasticidad de la película. En 1994 Muzzarelli et al. reporta una película con un coeficiente de permeabilidad al oxígeno de 7.18×10^{-5} cc/m²·día· atm. En 1996 Butler et al. realizó también estudios relacionados con la película de quitosán pero usando dos cantidades diferentes de glicerina como plastificante (0.25 y 0.50 ml/g de quitosán).

En su estudio encontró que la película tiene una apariencia amarilla y oscura cuando se incrementa el grosor pero que es fuerte, durable, flexible y muy difícil de romper. Cuando la trató de sumergir en agua, la película llegó a ser elástica pero siguió permaneciendo fuerte. Con lo referente a las permeabilidades, resistencia a la tensión y % elongación reportó los siguientes datos.

Tabla No. 11 Propiedades mecánicas y de barrera de una película de Quitosán - Glicerina.

Película	Permeabilidad ad al O ₂ (cc/m ² ·día· atm)	Permeabilidad ad al H ₂ O (g/m ² ·día· atm)	Permeabilidad ad al etileno (cc/m ² ·día· atm)	Resistencia a la Tensión (Mpa)	Elongación %
Quitosán-Glicerina (0.25ml)	1.6×10^{-5}	$2.0 - 7.6 \times 10^{-1}$	$1.0 - 2 \times 10^{-4}$	19 - 35	27
Quitosán-Glicerina (0.50ml)	$4.7 \pm 3.4 \times 10^{-5}$	$2.2 \pm 1.2 \times 10^{-1}$	$2.4 - 4.3 \times 10^{-4}$	15 - 22	46

Fuente: Butler , et al. Mechanical and Barrier Propertis of edible Chitosan Films as affected by composition and storage, Journal of Food Science, Vol. 61, No. 5, 1996, pág. 954

Como es de verse, varios valores son menores a los que reportaron Muzzarelli y Wong. Por otro lado, concluyó que al incrementar la concentración de plastificante en la película se tiene un efecto negativo sobre las propiedades de barrera y que las películas de quitosán presentan buenas barreras al oxígeno pero exhiben relativamente bajas propiedades de barrera al vapor de agua.

Wong et al. en 1992 especifica que la pura película de quitosán es compacta, de superficie lisa, sin poros y sin roturas y que los polímeros de quitosán son catiónicos y de ellos resultan películas altamente hidrofílicas en donde las moléculas de agua interactúan con la matriz de la película e incrementa la permeación.

Las películas de quitosán, como muchas otras películas a base de polímeros de carbohidratos, tienden a exhibir permeabilidades selectivas a gases pero carentes de resistencia a transmisión de agua. Es por lo anterior, Wong realizó estudios con una película de quitosán a la que le incorporó diferentes ácidos grasos para proveer hidrofobicidad e incrementar la resistencia a la transmisión de agua. Los datos obtenidos fueron los siguientes.

Tabla No. 10 Propiedades de barrera de diferentes películas a base de Quitosán-ácidos grasos.

Película	Permeabilidad al agua (g mm/m ² día mmHg)	Transmisión de gas (cm ³ /m ² día mmHg)	
		CO ₂	O ₂
Quitosán	0.414	48.60	11.02
Quitosán - Acido laurico	0.203	176.74	25.06
Quitosán - Acido palmítico	0.693	3.12	1.39
Quitosán -Acido octanoico	0.549		
Quitosán - Acido butírico	0.307		
Quitosán - Laurato de metilo	0.957		
Quitosán - Mivacet	0.628	13.48	0.48
Quitosán - Miverol	0.740		

Fuente: Wong, et al. Chitosan-Lipid films: Microstructure and Surface Energy, Journal Agricultural Food Chemistry, 1992, Vol 40, pág. 541.

Se concluyó en este estudio que la permeabilidad al vapor de agua de la película aumenta o disminuye en función al ácido graso adicionado y hay un contraste en cuanto a la transmisión del dióxido de carbono y oxígeno. Con relación al dióxido de carbono este se incrementa en el orden de Acido láurico > Quitosán > Myvacet > Acido palmítico; algo similar se presenta con el oxígeno excepto con el Miverat.

4.1.3 BICAPAS

Se ha propuesto el uso de cubiertas bicapa donde se emplean conjuntamente dos grupos de materiales de cubierta comestibles para complementar sus propiedades y obtener una cubierta con mejores cualidades. Dichas cubiertas retardan la transferencia de agua entre las capas de alto y bajo contenido de humedad en los alimentos, estas cubiertas bicapa retardan sustancialmente la transferencia de agua. Algunas bicapas son: Cera de abeja aplicada a una base de metilcelulosa, Cera de abeja, ácido graso y etil celulosa todo en etanol y aplicado a una base de metilcelulosa, Doble cubierta de cera de abeja aplicada a una base de ácido graso hidrocoloide. (San Román Sánchez, 1997)

4.1.4 SISTEMAS MULTICOMPONENTES

Como ejemplos se pueden citar: almidón-alginato, goma-almidón, pectina-dextrina, gluten + glicerina, gluten + soya, gluten+ zeína, gluten + aceite mineral, zeína + glicerol. Se han desarrollado con el propósito de superar las cualidades negativas de cada componente cuando es usado por separado como materiales de cubierta. Sin embargo, como en el caso de los lípidos que son buenas barreras más efectivas al movimiento de agua pero causan problemas de aplicación, mecánicos y organolépticos, las películas con mas de dos componentes incluyen un lípido como barrera a la humedad y un polímero altamente polar como matriz estructural.

4.2 METODOS DE APLICACION DE PELICULAS CUBRIENTES.

Los métodos de elaboración así como los de aplicación son a menudo mucho menos sofisticados que la de los empaques sintéticos. Existen varios métodos para la aplicación de la película protectora en las frutas, los cuales se exponen a continuación (Paredes López, 1974).

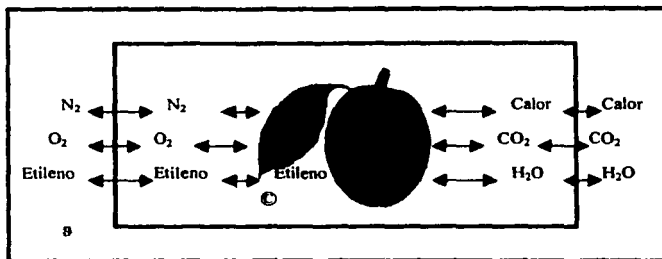
- a) **Inmersión.** El producto se coloca en un recipiente en el que se sumergen las frutas. El recubrimiento es instantáneo, razón por la cual se pueden sacar y escurrir. Para mayor seguridad, las frutas se pueden sumergir por una segunda vez, sin embargo, deberá tenerse en cuenta que algunos autores han encontrado que una protección excesiva provoca la aparición de sabores indeseables debido al proceso anaeróbico que puede desarrollarse. Además, dicho método tiene la desventaja de no formar una película uniforme con espacios vacíos o acumulación del material usado como película.
- b) **Aplicación por espuma.** Las frutas son recubiertas aplicando la emulsión en forma de espuma obteniéndose un buen recubrimiento en donde los frutos pasan por una banda transportadora la cual cuenta con unos cepillos giratorios con inyección interna de la espuma que cuando pasa el fruto giran dando una distribución homogénea del material usado como película.
- c) **Aspersión.** Después de la recepción de la fruta fresca se aplica un prelavado, se selecciona mecánica y manualmente, para después lavar. Si se desea puede tratarse a la fruta con un fungicida, por ejemplo ortofenifenilfenato de sodio en agua. El agua residual se elimina empleando rodillos cubiertos con hule espuma. El agua de lavado puede reutilizarse en el prelavado e incluso el agua de desecho, previo tratamiento, puede recircularse. El producto se asperja sobre la fruta y se uniformiza la película al pasar sobre rodillos con cerdas continuando después a la sección de secado con aire caliente. Finalmente se clasifica y empaqa.
- d) **Aplicación manual.**

4.3 PROPIEDADES DE INTERACCIÓN ENTRE PELÍCULA – FRUTO.

Los efectos que se presentan al ser aplicada una cubierta a un fruto son: la transferencia de oxígeno, dióxido de carbono, nitrógeno, vapor de agua, etileno y otros compuestos volátiles a través de la membrana. Las cantidades de gases que se transfieren estarán en función de la temperatura, humedad relativa del ambiente externo, concentración de gases en la atmósfera externa, espesor y permeabilidad de la película.

Todos los eventos antes mencionados dan lugar que a partir del momento en que el producto genera su propia atmósfera esta se vaya modificando hasta alcanzar un equilibrio y obtener una atmósfera diferente a la del aire ambiente que resulta favorable para retardar el proceso de maduración.

Figura No. 12 Intercambio gaseoso de un fruto con una película.



Ⓐ Cubierta natural del fruto que puede ser la cáscara o la piel

Ⓑ Película plástica o cubierta comestible.

Fuente: PUAL, Martín Polo, Tema: Bioempaques, Interacción y compatibilidad de envase - producto alimentario, 1997.

Es perfectamente conocido que aumentando la concentración de CO₂ y/o disminuyendo la concentración de oxígeno con respecto a sus concentraciones en el aire, se retarda el proceso de maduración y senescencia de los productos hortofrutícolas frescos, y si se aumenta la humedad relativa se disminuye la pérdida de peso y el marchitamiento.

Esta modificación debe efectuarse con precaución debido a que cada producto tiene sensibilidad a concentraciones altas de CO₂, bajas de O₂ y altas de Humedad relativa, de manera que si se llega a las concentraciones críticas se puede causar daños que se manifiestan como: obscurecimiento, fermentación, desarrollo de olores extraños, incapacidad de madurar, desarrollo microbiano excesivo, etc.

Por lo anterior, para cada producto podemos hablar de concentraciones óptimas (aquellas que prolongan la vida de almacenamiento y conservan la calidad) de O₂, CO₂, y humedad relativa. Sin embargo, la utilización de cubiertas ha sido limitada y se le han dado un uso industrial limitado, probablemente por las siguientes razones:

1. La escasez de estudios sistemáticos sobre las propiedades funcionales de nuevos materiales en función a las condiciones de elaboración y de utilización.
2. La alta sensibilidad de las películas comestibles bajo condiciones de humedad relativa mayor al 65%.

3. El deterioro de las propiedades mecánicas en caso de que se utilicen 2 materiales para formar la película (PUAL, Martín Polo, 1997).

5. GENERALIDADES SOBRE QUITOSAN.

5.1 ORIGEN.

El quitosán se obtiene através de la transformación de la quitina. La quitina es un biopolímero que se encuentra como un constituyente natural, estructural de exoesqueletos de invertebrados marinos, insectos y hongos. Algunos ejemplos se muestran en la tabla siguiente, así como el porcentaje de quitina presente en ellos.

Tabla No. 13 Porcentaje de quitina en crustáceos, insectos, hongos y partes de moluscos.

TIPO	% QUITINA	TIPO	% QUITINA
CRUSTACEOS Cangrejo cáncerc	72.1 c	INSECTOS Cucaracha periplaneta	2 a
Cangrejo carcinus	0.4-3.3 a 8.29 b 64.20 c	Cucaracha blatella	18.4 c 10 b 35 c
Cangrejo king	35 b	Escarabajo coleóptera	5-15 b 27-35
Cangrejo azul	14 a	Escarabajo tenebrio	2.1 a 4.9 b 31.3
Cangrejo rojo	1.3-1.8 b	Escarabajo may	16 b
Camarón Crangon	5.8 b 69.1 c	Mosca verdadera deptera	54.8 c
Camarón Alaska	28 d	Mariposa ozufre priris	64 c
Langosta nephrops	69.8 c 6.7 b	Saltamontes	2-4 a 20 c
Langosta homarus	60.8-70 c	Gusano de seda bombyx	44.2 c
Percebe lepas	58.3 c	Gusano de cera calleteria	33.7 c
HONGOS Aspergillus niger	42 e	PARTES DE MOLUSCOS Concha de almeja	6.1
Penicillium notatum	18.5 e	Concha de ostra	3.6
Penicillium chrysogenuim	20.1 e	Esqueleto de calamar	41
Saccharomyces cerevisiae	2.9 e	Krill (Concha desproteinizada)	40.2
Mucor rouxii	44.5		
Lactarius velleries	19		

Fuente: Knorr Dietrich, Use of chitinous polymers in food. Food Technology, January, 1984.

a. Peso del cuerpo húmedo; b. Peso del cuerpo seco; c. Peso de cutícula orgánica; d. Peso total de cutícula seca.

El término quitina proviene del griego Chitón, significa túnica o cubierta. Fue aislada por primera vez por H. Braconnot en 1811 usando un tratamiento con agua caliente, alcohol y álcali diluido aplicado a hongos comestibles, obteniendo una sustancia a la que le denominó "fúngica".

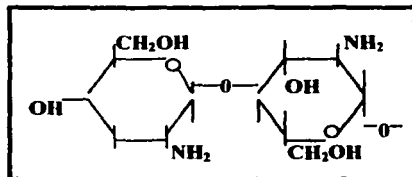
Posteriormente, Odier, en 1823 realizó experimentos sobre cutículas de insectos y se refirió a la quitina como el material que permanecía remanente y sin cambios después de varios tratamientos con una solución caliente de sosa cáustica y en 1878 Ledderhose reportó la presencia de glucosamina y ácido acético en la estructura de la quitina, la cual fue confirmada en 1894 por Gilson.

Con el avance científico, el quitosán es descubierto por Rouget en 1859, pero no fue hasta 1950 que se identificó oficialmente como un polímero conformado de glucosamina. Durante éstos últimos 20 años, se han realizado más investigaciones en torno a este polímero, dando lugar a 4 conferencias internacionales y muchísimas publicaciones significativas a partir de 1989.

5.2 ESTRUCTURA.

El quitosán es la forma desacetilada de la quitina. Químicamente se conoce como (1-4)-2-amino-2-deoxi- β -D-glucosa.

Figura No. 13 Estructura del quitosán.



Fuente: Dietriche Knorr, Recovery and Utilización of chitin and chitisan in food processing waste management, 1991.

5.3 PROPIEDADES

Este polímero presenta alto peso molecular, es un poliamino lineal y su grupo amino está disponible para reaccionar con los ácidos y dar sales.

Es un polielectrolito a pH ácidos, presenta alta densidad de carga (1 carga por unidad de glucosamina).

Es insoluble en agua a pH's neutros, altamente solubles en soluciones de ácido nítrico e insoluble en ácido sulfúrico a cualquier concentración y temperatura.

Estudios recientes han demostrado que los mejores solventes para el quitosán, son soluciones de 0.2-100% de ácido fórmico y acético. (Knorr, 1991).

Al poseer grupos amino libres ($-NH_2$) hacen que este polímero tenga propiedades policatiónicas.

Por su carga positiva, interactúa con muchos compuestos que tienen cargas negativas como por ejemplo: polisacáridos aniónicos, proteínas, ácidos nucleicos dando una neutralidad eléctrica.

La viscosidad que pueda impartir está en función al origen del quitosán, tipo y concentración del solvente, temperatura, peso molecular, pH y de la presencia de ciertas sales en la solución.

5.4 APLICACIONES

5.4.1 APLICACIONES QUIMICAS.

Los complejos formados con quitosán y muchos iones de metal son usados en la quelación de hierro, cobre, magnesio o bien, por sus grupos $-NH_2^+$ el quitosán puede ser usado como un buen floculante para remover iones de metales pesados tóxicos como la plata, plomo, mercurio y cromo (Knorr, 1984).

Por su propiedad poliaciónica, como agente cuagulantes le han dado uso en el tratamiento de aguas residuales debido a su efectividad en la separación de coloides y partículas suspendidas que se generan durante la elaboración de ciertos alimentos, permitiendo también la recuperación de materiales como proteínas, grasas y carbohidratos que pueden ser utilizados como alimento o forraje para animales.

5.4.2 APLICACIONES MEDICAS Y FARMACEUTICAS

Al no ser tóxico y biodegradable, se le ha dado aplicaciones biomédicas como el reducir niveles de colesterol en la sangre. Con la sulfatación de la quitina y quitosán (quitosán sulfatado) presentan la posibilidad de ser usados como polisacáridos anticuagulantes.

En el área farmacéutica el quitosán puede ser usado como agente antimicrobiano y también como material para la encapsulación de medicamentos.

Una de las etapas para la obtención del quitosán es la desproteinización en donde, las proteínas eliminadas pueden ser recuperadas por precipitación y filtración y ser empleadas en la dieta de animales e incluso en la del hombre, y el cloruro de calcio obtenido en la etapa de desmineralización se puede utilizar para la obtención de hidroxiapatita (compuesto que es usado para la elaboración de placas dentales y ortopedia).

5.4.3 APLICACIONES EN ALIMENTOS

En la industria elaboradora de alimentos puede ser empleado para modificar o controlar las propiedades funcionales de algunos alimentos, ya sea como regulador de formación de cristales de hielo en alimentos congelados, como agente espesante, texturizante, quelante, emulsificante; para la elaboración de aderezos, salsas, gelatinas, productos lácteos, etc. (Knorr, 1984; Austin, 1981).

La quitina y el quitosán también poseen características favorables para ser utilizados como soportes para la purificación o inmovilización de sistemas enzimáticos.

También el quitosán puede ayudar en múltiples procesos como en la clarificación y control de microorganismos esporulantes en jugos de frutas o bien, ser usado en combinación con operaciones unitarias donde existe alta presión de homogenización (Popper y Knorr, 1990).

En estudios recientes, se ha encontrado que el quitosán también presenta propiedades antimicrobianas, por lo cual puede inhibir el crecimiento de una amplia gama de Hongos y bacterias.

Hasta la fecha se han propuesto dos mecanismos por los cuales el quitosán proporciona su efecto antibacteriano.

El primero fue dado por Hadwiger en 1985, en donde explica que el quitosán interactúa con el DNA del microorganismo para inhibir la síntesis de RNAm, y por lo tanto interfiriendo con la síntesis proteica.

El segundo mecanismo proporcionado por Young y Krauss en 1993, explican que conociendo la naturaleza policatiónica del quitosán este puede reaccionar con los componentes de las moléculas cargadas negativamente de la superficie de la célula, en donde el quitosán y otras poliaminas interactúan con la membrana dando una aglutinación y por lo tanto, una alteración en la permeabilidad de la membrana celular (Sudarshan, 1992).

Apoyando lo anterior, en un estudio sobre la acción bactericida de dicho polímero, se experimentó con sales de quitosán solubles en agua (lactato de quitosán e hidroglicumato de quitosán) las cuales presentaron propiedades bactericidas similares contra la *E. coli*, *S. aureus* y *S. cerevisiae* ya que cuando se examinaron los efectos del quitosán sobre de dichos microorganismos se encontró diferentes niveles de inactivación como a continuación se presenta en la siguiente tabla:

Tabla No. 14 Reducción bacteriana en seis minutos de exposición de Quitosán a pH= 5,8 y 32°C.

Viabilidad de la bacteria contra el quitosán.

Bacteria	Glutamato de quitosán 2 mg/ml	Lactato de quitosán 2 mg/ml	Quitosán fungal 2 mg/ml
<i>Escherichia coli</i> V517	+	+	+
<i>S. typhimurium</i> 7136	++	++	+
<i>B. linens</i> 429	++++	++++	-
<i>Moraxella</i> spp. 419	+++++	+++++	+++
<i>E. aereogenes</i>	++++	++++	+
<i>S. aureus</i> MF 31	+	+	+
<i>Arizona</i> spp. 318	+	+	+
<i>P. morgani</i> 3661	++	++	-
<i>P. acidilactici</i> HP	++	++	-

2 Aún no probado + Reducción de 1 ciclo logarítmico ++ Reducción de 2 ciclos logarítmicos.

Fuente: Sighr Paul, et al. Minimal processing of foods and process optimization, C.P.C. USA, 1994, pág. 4.

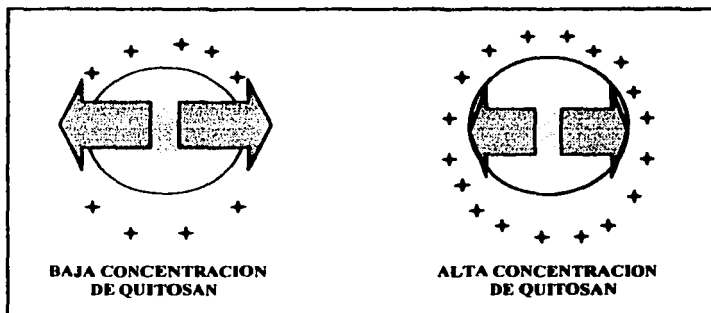
Los resultados de dicho estudio, se inclinan a que el quitosán actuó principalmente a nivel de membrana ya que se pudo observar una aglutinación de esta. También se encontró que a bajas concentraciones (0.1mg) se observó una mayor aglutinación y una mínima o nula aglutinación cuando se empleó una concentración mayor (2.5 mg/ml). Lo anterior se pudo deber a que al aumentar la concentración de quitosán éste liberó una gran cantidad de cargas positivas que

impartieron una carga neta positiva a la superficie bacteriana y así no la afectó significativamente.

Por otro lado, *E. coli* V517 con la exposición del quitosán, ésta presentó una salida de importancia de los niveles extracelulares de β -galactosidasa y dicha pérdida fue mayor a la concentración de 0.1 g/ml y en la cual también se presentó la máxima concentración de aglutinación y máximo efecto inhibitor del quitosán. Por lo tanto a mayor concentración de quitosán, menor poder de identificación de β -glucosidasa en el sobrenadante celular de dichas bacterias y por lo tanto menos poder antibacteriano.

Con la información anterior los efectos antibacteriales del quitosán se debe a que éste puede provocar la salida de material intracelular, pero resaltando que a bajas concentraciones, este biopolímero policationico puede ligar cargas negativas a los constituyentes de la superficie bacteriana para perturbar la membrana celular y causar la muerte de la célula por salida de dichos componentes, pero a altas concentraciones, el quitosán puede adicionar un "revestimiento" a la superficie bacteriana para prevenir la salida de los componentes intracelulares, así como también impedir la transferencia de masa a través de la barrera.

Figura No. 14 Efecto de la concentración de Quitosán sobre las membranas microbianas

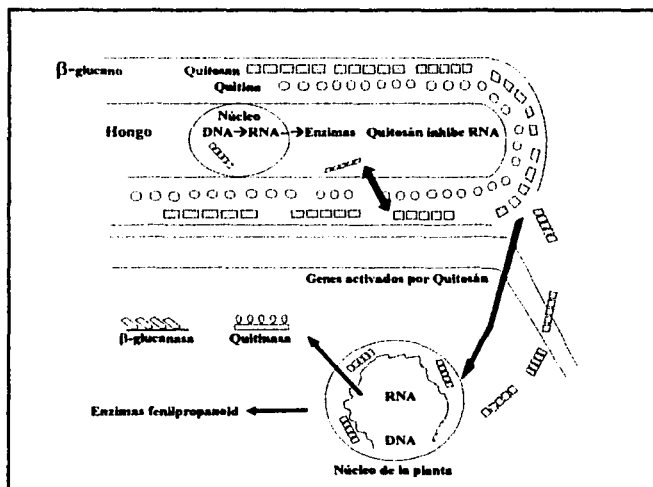


Fuente: Sighr Paul, et al. Minimal processing of foods and process optimization, CPC. USA, 1994.

Con relación a la actividad antimicótica del quitosán, Hadwiger basándose en que existen muchas variedades de hongos dañinos para las plantas; la pared celular de éstos ésta compuesta de quitosán por lo que propone un modelo en donde del hongo *Fusarium* y la planta de chícharo desarrollan un mecanismo similar para inhibir una infección fungal.

Tal mecanismo, la endo-quitinasa y la endo- β -1,3-glucanasa de la célula del chícharo atacan a la pared de la célula del hongo liberando lentamente fragmentos de quitosán naturalmente presentes. Los fragmentos de quitosán emigran al núcleo de la célula vegetal en donde ellos activan a ciertos genes para que se produzca más quitinasas así como de enzimas fenilpropanoides en donde las funciones de dichas enzimas todavía no son identificadas del todo. Dicho mecanismo se ejemplifica en el siguiente esquema.

Figura No. 15 Influencia del quitosán para inhibir una infección fungal.



Fonte: Rawls Rebecca, Propects brighten for converting chitin wastes to valuable products, Chem. E. Eco. News, 1984.

5.5 METODOS PARA OBTENER QUITOSAN.

En el caparazón de los crustáceos, la quitina forma parte de un sistema complejo, asociada con carbonatos de calcio, proteínas y otras sustancias orgánicas (pigmentos). Por lo cual, el proceso general para la obtención de quitosán consta de tres etapas, siendo la desmineralización, desproteinización y desacetilación de la quitina, en donde los grupos acetilo son eliminados y el grupo amino se encuentra libre como amina primaria. Se han desarrollado una variedad de procedimientos para preparar quitosán a partir de la quitina. Algunos de estos procedimientos están basados en reacciones químicas, mientras que en otros en una combinación de reacciones químicas y enzimáticas.

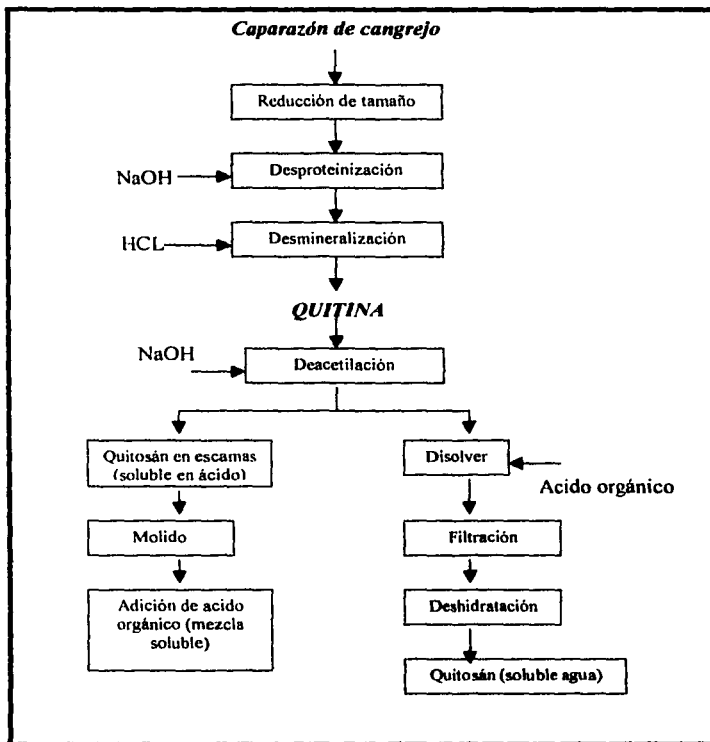
Con relación a los procesos químicos para obtener quitina a partir del caparazón de crustáceos o desperdicios quitinosos producidos en la industria pesquera uno de los métodos más utilizado es el de Hackman (1954) el cual consiste en obtener la quitina por medio de extracciones, primero con ácido clorhídrico y posteriormente con hidróxido de sodio para eliminar las proteínas y sales minerales. Whistler y Bemiller (1962) sugieren un proceso similar al método de Hackman, pero le hacen una ligera modificación al dar un tratamiento adicional con alcohol etílico para solubilizar los pigmentos y un tratamiento con éter etílico para eliminación de grasas.

En general estos métodos, son drásticos debido al uso de ácidos y bases fuertes que pueden modificar la estructura de la quitina.

Otro método es el de Foster & Hackman (1957) con el que se ha podido aislar la quitina del cangrejo *Cáncer pagurus* sin alterar su estructura química. Este proceso se basa en la utilización del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) a diferentes valores de pH para la eliminación de proteínas y sales minerales y la eliminación de grasas y pigmentos es con un tratamiento con éter etílico y alcohol respectivamente.

Cabe desatacar que tanto la especie de donde proviene el material quitinoso así como en las diferentes formas de obtención del polisacárido, da como resultado un producto con diferentes propiedades tanto físicas como químicas.

Figura No. 16 Ejemplo de un método químico para obtener quitosán.



Fuente: Dietriche Knorr, Recovery and Utilization of chitin and chitisan in food processing waste management, 1991.

II. OBJETIVOS

CAPITULO II. METODOLOGÍA.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

Estimar el efecto antifúngico de una película de quitosán sobre los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa Fragaria vesca variedad Solana durante su vida útil.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- 1. Determinar la calidad y grado de madurez de la fresa por medio de análisis sensoriales, físicos, químicos y fisicoquímicos para su selección.*
- 2. Aislar, purificar e identificar (Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer).*
- 3. Determinar la mínima concentración inhibitoria (MIC) de quitosán sobre fresas infectadas con los hongos aislados e identificados.*
- 4. Evaluar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida de peso e inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y 5°C .*
- 5. Evaluar los parámetros de calidad y madurez en la fresa cubierta con quitosán a la concentración establecida y almacenadas a 5°C .*

CUADRO METODOLOGICO.

OBJETIVO GENERAL.
Estimar el efecto antifúngico de una película de quitosán sobre los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa *Fragaria Vesca* variedad Solana durante su vida útil.

ETAPA A

OBL. 1 Determinar la calidad y grado de madurez de la fresa por medio de análisis sensoriales, físicos, químicos y fisicoquímicos, para su selección.

Actividad 1. Selección y clasificar a la fresa en grupos de madurez, tomando como parámetro indicador el color que presenten en su epidermis.

Actividad 2. Determinar las características sensoriales.

Sabor, color, olor, textura, forma y aspecto.

Actividad 3. Determinar los parámetros físicos

Tamaño, color, peso y textura.

Actividad 4. Cuantificar los parámetros químicos.

Humedad, *Brix y Azúcares reductores.

Actividad 5. Determinar los parámetros fisicoquímicos

pH y acidez.

Establecer el grado de madurez adecuado para el recubrimiento de la fresa con la película de quitosán.

Actividad 11. Evaluar in vivo la MIC de quitosán sobre fresas infectadas con los hongos en estudio a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

OBL. 4. Evaluar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida de peso e inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

Actividad 12. Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

Actividad 13. Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida fisiológica de peso en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

OBL. 5 Evaluar los parámetros de calidad y de madurez en la fresa cubierta con quitosán a la concentración establecida y almacenada a 5°C .

ETAPA B

OBL. 2 Aislar, Purificar e identificar (*Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer*).

Actividad 6. Aislar los hongos en estudio.

Actividad 7. Purificar las cepas.

Actividad 8. Identificar a los hongos en estudio por medio de microcultivos

Actividad 9. Confirmar los hongos en estudio reproduciendo la enfermedad en frutos sanos.

OBL. 3 Determinar la mínima concentración inhibitoria (MIC) de quitosán sobre fresas infectadas con los hongos aislados e identificados.

Actividad 10. Establecer la mínima concentración inhibitoria in vitro de quitosán (MIC).

ETAPA C

III. MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO EXPERIMENTAL.

ETAPA A.

OBJETIVO 1. Determinar la calidad y grado de madurez de la fresa por medio de análisis sensoriales, físicos, químicos y fisicoquímicos para su selección.

Actividad 1. Seleccionar y clasificar a la fresa en grupos de madurez, tomando como parámetro indicador el color que presentan en su epidermis.

Las fresas empleadas para el estudio fueron traídas del Mercado de la Merced de la ciudad de México, las cuales procedían de Irapuato, Guanajuato. El lote de fresas (2 kilos) se dividió en grupos heterogéneos entre éstos, pero homogéneos dentro de cada uno de ellos. Las fresas del lote se clasificaron en base al color que presentaron en su epidermis, empleando para este fin una tabla cromática de color (ver Anexo 1) y de acuerdo con la siguiente tabla:

Tabla No. 15 Clasificación por grados de madurez en base al color.

COLOR	GRUPO POR ESTADO DE MADUREZ.
Amarilloverde	I
Amarillo	II
Amarillonaranja	III
Naranja	IV
Rojonaranja	V
Rojo	VI

Para llevar a cabo lo anterior, es decir, la clasificación, fué necesario tomar como consideración que la fresa, para ser incluida dentro de un determinado grupo, debe presentar como mínimo un 70% del color (SARH, NOM, 1987) en toda su estructura externa (epidermis). Cabe mencionar que el parámetro color aunque es algo empírico, es suficiente para poderlo utilizar como indicador de madurez en la fresa; no obstante, ésto será comprobado al término del objetivo 1.

Una vez clasificada la fresa por grupos, se procedió a tomar una muestra de cada uno de ellos; para esta actividad se usó una tabla de números aleatorios, con la finalidad de obtener una muestra homogénea y representativa, es decir, a las fresas incluidas en cada uno de los grupos se les asignó un número, y por medio de la tabla se obtuvieron números al azar, y con ello se tuvo una muestra aleatoria en cada grupo.

El uso de la tabla es el siguiente:

Como primer paso, se localiza un punto de partida aleatorio en la tabla. Esto puede hacerse en varias formas, una de ellas es quitar la vista de la página, mientras se le toca con la punta de un lápiz. El punto de partida aleatorio es el dígito más próximo a donde el lápiz toco la página.

De ahí se va descendiendo en busca de los demás números, hasta encontrar un total de 10. A estas muestras elegidas al azar, se les realizó el análisis sensorial, físico, químico y fisicoquímico en cada uno de los grupos ya seleccionados.

Actividad 2. Determinar las características sensoriales: sabor, olor, textura, forma, apariencia en la fresa fresca.

Se llevó a cabo un método sensorial que consistió en tocar, estrujar, morder o masticar y oler el alimento describiendo las sensaciones obtenidas, tomando como base a la siguiente tabla (diseñada a partir de la bibliografía citada debajo de la tabla).

Tabla No. 16 Especificaciones sensoriales.

PRUEBA SENSORIAL	ESCALA									
	Dulzura			Amargor (acidez)				Astringencia		
SABOR	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
	muy fuerte	moderado	ligero	ligero	moderado	pronunciada	muy fuerte		fuerte	ligero
AROMA	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
	muy pronunciado	moderadamente pronunciado		ligeramente pronunciado	perceptible	moderadamente perceptible		ligeramente perceptible	no perceptible	
TEXTURA	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
	muy firme	firme		ligeramente firme		moderadamente firme		ligeramente blanda	muy blanda	
DEFECTOS	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1
	sin defecto	defecto menor			defecto mayor			defecto crítico		

Wills Lee, Postharvest, South China Printing Co., Australia 1981, pág. 85.

Las fresas fueron juzgadas de acuerdo a los 10 puntos marcados en la escala. El puntaje 10 fué asignado al nivel más pronunciado para cada característica.

En lo referente a la determinación de la forma del fruto, se esquematizó cuál de las diversas formas presentó la fresa, estableciéndose si el porcentaje de predominancia en el lote era total o parcial.

Actividad 3. Determinar los parámetros físicos: tamaño, peso o calibre, textura y color en la fresa.

3.1. Determinación del tamaño de la fresa.

De los grupos ya seleccionados (en base al color), se eligió una muestra de fresas de 60 gramos para cada grupo de madurez (Actividad 1) y mediante un vernier se midió el diámetro ecuatorial y el diámetro longitudinal, y se clasificaron de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla No. 17 Clasificación de tamaño.

TAMAÑO	INTERVALO DE DIAMETRO ECUATORIAL (cm)
A	Mayor de 3.2
B	2.6 - 3.1
C	2.0 - 2.5
D	1.6 - 1.9

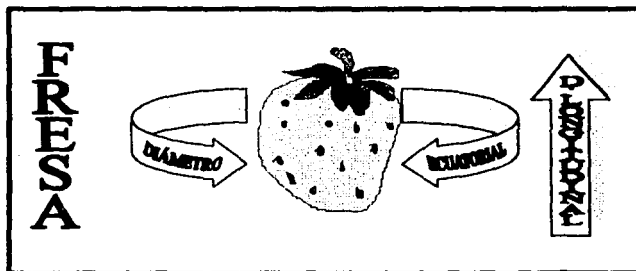
SARH, Norma Oficial Mexicana para la fresa fresca, 1987.

Tabla No. 18 Especificaciones de tamaño.

TAMAÑO	CALIDAD		
	MEXICO EXTRA 1	MEXICO 1	MEXICO 2
A	X	X	X
B	X	X	X
C		X	X
D		X	X

SARH, Norma Oficial Mexicana para la fresa fresca, 1987.

Figura No. 17 Medición del diámetro ecuatorial y longitudinal en la fresa.



3.2. Determinar el peso del fruto.

Se calculó el peso de la fresa en los diferentes grupos de madurez por medio de una balanza analítica.

3.3. Color (Colorímetro Minolta).

Para la medición del color en cada uno de los grupos de madurez seleccionados previamente en la actividad ya citada se utilizó un Colorímetro Minolta CR-300 (Anexo 2). La medición se hizo directamente sobre la epidermis del fruto.

El colorímetro fue primero calibrado con la placa CR-A-43, que tiene los valores de $Y=97.7$, $x=0.3136$, $y=0.3201$, las mediciones obtenidas fueron en los siguientes sistemas: L , a^* y b^* ; L , C y $^{\circ}H$. En donde L representa la luminosidad; a y b , las coordenadas de cromaticidad y $^{\circ}H$ el ángulo de inclinación del tono. Los dos sistemas son iguales la diferencia entre ellos es que el primero se encuentra en coordenadas cartesianas y el segundo en coordenadas cilíndricas, por lo que el primero solo fue empleado para corroborar el color de los grupos de madurez y el segundo para determinar un valor físico para los parámetros de color. Las siguientes ecuaciones nos muestran como los dos sistemas se relacionan entre sí, y como a partir de a y b se calcula el croma, luminosidad y ángulo de inclinación del tono:

$$\text{Croma: } C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

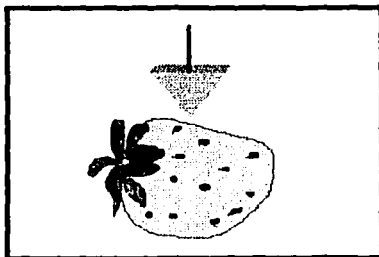
$$\text{Tono: } T = \tan^{-1} b^* / a^*$$

$$\text{Luminosidad: } L \text{ (hay una escala de 0-100)}$$

3.4. Textura (Penetrómetro).

La textura de fresa se evaluó mediante una prueba de penetración (fresa entera), para lo cual se empleó un Penetrómetro Norridge 60655 marca Humboldt MFG (Anexo 3), con un cono de acero inoxidable de 35 gramos y con un tiempo de penetración de éste en la superficie de la fresa de 30 segundos. Cada fresa fue colocada sobre el instrumento en forma horizontal como se observa en la figura 18 (se midió sobre su diámetro ecuatorial). Se determinó la distancia penetrada por el cono a través de la fresa, la cuál fue reportada en 1/10mm que es la precisión que posee el equipo empleado.

Figura No. 18 Demostración de la penetración del cono en la superficie de la fresa.



ACTIVIDAD 4 y 5.

Determinar los parámetros químicos: humedad, sólidos solubles, azúcares reductores totales; y fisicoquímicos: pH, acidez titulable, en la fresa fresca.

A cada uno de los grupos de fresas ya seleccionados se les midió: humedad (Bidwell-Sterling), Sólidos solubles (Refractometría) expresado como °Brix, Azúcares reductores totales (Método de Fehling) expresados en porcentaje, pH (Potenciometro) y la Acidez titulable (Método volumétrico) expresada como mg de ácido cítrico/100 ml. Cada prueba se realizó por triplicado y los resultados fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA). Ver Anexo 4 para el desarrollo de las técnicas.

ETAPA B

OBJETIVO 2. Aislar, purificar e identificar (Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer).

Actividad 6: Aislar a los hongos en estudio.

Para esta actividad, se consiguieron en el Mercado de la Merced fresas maduras provenientes de Irapuato con la sintomatología de Pudrición seca y blanda; enfermedades causadas por Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer respectivamente. De dichos frutos se muestrearon las áreas dañadas y se aislaron las sepas iniciales.

Para la enfermedad causada por Rhizopus stolonifer (podredumbre blanda) se buscaron fresas dañadas por la parte superior, media e inferior del fruto debido a que según Maas éste hongo puede dañar cualquier parte al fruto. La sintomatología buscada fue la presencia de áreas de forma circular, blanda y suave de color café claro.

Para Botrytis cinerea (causante de la podredumbre seca) se seleccionaron fresas dañadas en la parte superior y lateral en donde la lesión fuera circular a oval de color rosáceo a café claro y suave. Cabe resaltar que para este hongo según Mendoza a condiciones de elevada humedad la lesión puede ser de color café rojizo.

Seleccionadas las fresas, estas fueron colocadas en un vaso de precipitados con hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos para inactivar a las bacterias presentes, se enjuagaron con agua esterilizada y secaron. A condiciones de esterilidad se cortaron pequeñas partes (≈ de 5 mm) de el área dañada y se colocaron en agar de papa dextrosa para incubar a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y se observaron los crecimientos de las colonias.

Actividad 7: Purificar las cepas.

Una vez desarrolladas las colonias procedentes de los frutos enfermos, se tomaron muestras de todas aquellas colonias que se asemejaron en cuanto a morfología macroscópica a la de los hongos en estudio y se purificaron para así facilitar su identificación.

Los medios de cultivo utilizados fueron el Agar de papa dextrosa, Saboraud, Agar de papa natural y Agar de fresa y de acuerdo a Schmith 1980, algunas cepas de hongos crecen mejor en un cierto medio o cambian de forma y/o color.

Una vez preparados los medios de cultivo (Ver anexo No. 5) se tomaron muestras de todas las colonias que se aproximaron a las características macroscópicas de los hongos en estudio y se realizaron las siembras en los diferentes agares. La incubación se realizó a una temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

Las características que se buscaron de las colonias para tomar las muestras fueron las siguientes.

Tabla No. 19 Características coloniales de Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer.

Características	Botrytis cinerea	Rhizopus stolonifer
Forma	Circular	Circular- amorfa
Color superficial	En un principio el micelio es blanco opaco y después se torna gris oscuro.	Blanco
Color inferior	Verde oscuro o gris	-----
Textura	Aterciopelada	Vellosa
Velocidad de crecimiento	Moderadamente rápido	Rápido
Transmisión de luz	-----	-----
Aspecto	Seco y polvoso.	Húmedo

Fuente: Maas 1985, Mendoza 1987, Agrios 1995 y Mendoza 1983.

Las observaciones de los crecimientos coloniales se realizaron diariamente y fue necesario resembrar nuevamente hasta purificar las colonias.

Actividad 8: Identificar a los hongos en estudio por medio de microcultivos .

Obtenidas las cepas puras que se sospecharon que fueran de los hongos en estudio, se realizaron microcultivos, los cuales tuvieron como fin el poder observar microscópicamente la morfología de las esporas y las relaciones esporas-micelios. Dichos aspectos fueron clave importante para la total identificación de Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer.

Las características microscópicas que se buscaron de los hongos en estudio fueron las siguientes.

Tabla No. 20 Características microscópicas de Botrytis cinerea

Botrytis cinerea	
Forma del conidióforo (hifa)	Largos, lisos, anchos (de $\pm 10\mu$ de ancho) y en la parte superior presenta ramificación de forma irregular y en cada rama emergen pequeños esterigmas productoras de conidios.
Color de la hifa	Café obscuro.
Presencia de septos	Positivo
Forma de esporas (conidio)	En las ramificaciones están juntas como racimos de uvas, las esporas son lisas, unicelulares y pueden ser circulares, elipsoidales, ovoides.
Color de esporas	Pueden ser incoloras en un principio y cambiar a café claro u oscuras

Tabla No. 21 Características microscópicas de Rhizopus stolonifer

Rhizopus stolonifer	
Forma del esporangio	Largos y lisos
Color del esporangio	Sin coloración
Presencia de septos	Negativo
Forma de esporas	Circulares
Color de esporas	Incoloras y oscuras cuando maduran

Fuente: Alexopoulos 1962, Schmith 1980, Maas 1985, Mendoza 1987, Agrios 1995 y Mendoza 1983.

Procedimiento: Ver Anexo No. 6

Actividad 9: Confirmar los hongos en estudio reproduciendo la enfermedad en frutos sanos.

Para asegurar que las cepas de los hongos aislados, purificados e identificados correspondieron a Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer se procedió a reproducir la enfermedad en frutos sanos y maduros. Para establecer el sitio propenso al ataque se inocularon superficialmente y por incisión la parte superior, media e inferior de los frutos.

La sintomatología que se pretendió observar para el caso de Rhizopus fué la lesión oval o circular, de color claro a café claro con invasión de micelio color blanco-veloso, desintegración de los tejidos y salida de jugos en el fruto.

Para Botrytis se esperó que se diera la pudrición seca la cual se caracterizó por una preferencia para el ataque en la parte superior del fruto, de color rosa a café claro, suave, con

la presencia de micelio color café, aterciopelado y polvoso así como el nulo desprendimiento de jugos y finalmente la momificación del fruto.

Para ésta actividad, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 10% 2 lotes en donde cada uno estaban compuestos por 9 fresas sanas y al grado de madurez V.

En donde 9 frutos fueron designados para cada una de las inoculaciones con los hongos aislados e identificados tanto superficialmente como por incisión del fruto.

Posteriormente se colocaron las fresas dentro de una cámara hermética provista con agua para proporcionarle la humedad requerida para el desarrollo de los hongos y a una temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$. Se realizó un monitoreo diario por un periodo de 10 días.

OBJETIVO 3. Evaluar la mínima concentración inhibitoria de quitosán (MIC) sobre fresas infectadas con los hongos aislados e identificados.

Actividad 10: Establecer la mínima concentración inhibitoria (MIC) in vitro de quitosán.

Para la determinación de la mínima concentración inhibitoria de quitosán se llevaron acabo pruebas in vitro de quitosán incluido en la formulación del medio en que se desarrollaron mejor las cepas.

Las concentraciones de quitosán con las que se experimentó fueron: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, y 1.5% p/v. De esta actividad se reportó el crecimiento macroscópico y microscópico de las colonias así como la medición de los diámetros de crecimiento de cada cepa.

Se prepararon los medios de cultivo a las diferentes concentraciones de quitosán - agar de papa natural. Ver Anexo No. 7

Y realizado lo anterior, se procedió a sembrar cada uno de los hongos y se incubaron a una temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$. El monitoreo se realizó cada 24 horas para ver si hay o no crecimiento de las colonias por un periodo de 10 días.

Como un apoyo, se realizaron microcultivos para ver el desarrollo microscópico de las cepas.

Actividad 11: Evaluar in vivo la MIC de quitosán sobre fresas infectadas con los hongos en estudio a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

En esta actividad, se evaluó el efecto de la película de quitosán a la concentración encontrada en el estudio in vitro. Para lo cual, fresas sanas y al grado de madurez establecido en el objetivo 1 fueron inoculadas por medio de una incisión con los 2 hongos en estudio y después los frutos se recubrieron con la película de quitosán. Posteriormente fueron observados a una temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C por un periodo de 10 días.

Para realizar lo anterior, se desinfectó con hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos un lote comprendido por 15 fresas sanas y al grado de madurez V.

Después se realizó la formación de la película de quitosán (Ver anexo No. 8). Como paso siguiente, se procedió a realizar la inoculación con los 2 hongos en estudio por medio de una

lesión en la parte superior de los frutos para luego sumergirlos en la concentración de quitosán, se dejaron escurrir y secar (con ayuda de un ventilador). Posteriormente los frutos secos fueron colocados dentro de cestas previamente identificadas y dentro de una cámara hermética provista con agua para proporcionar la humedad requerida para el desarrollo de los hongos. En ésta actividad también se manejó un grupo control. Por último, se monitorearon dichas cestas diariamente por un período de 10 días tanto a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ como a condiciones de refrigeración (5°C).

OBJETIVO 4. Evaluar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida de peso e inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

Actividad 12. Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

De igual forma que en la actividad de pérdida de peso, en esta actividad se realizó un arreglo factorial con 2 variables en donde la variable 1 fue la concentración de quitosán establecida en el estudio invitro y la variable 2 la temperatura, teniéndose como respuesta el % de hongos presentes. El monitoreo se realizó diariamente por un período de 20 días.

Se seleccionaron fresas sanas y a la madurez encontrada en el objetivo 1 y se recubrieron con la película a la concentración encontrada en el estudio invitro. Posteriormente se colocaron 10 fresas en cada cesta (previamente identificada) con sus dos respectivas réplicas. Las cestas fueron observadas diariamente por un período de 20 días a las condiciones correspondientes según el arreglo y se registraron los datos en la tabla siguiente.

Tabla No. 22 Porcentaje de Hongos

Cesta	Condiciones		(%) hongos																			
	Temperatura	Quitosán	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	-	-																				
2	+	-																				
3	-	+																				
4	+	+																				

Temperatura: - : 5°C + : $23 \pm 2^\circ\text{C}$.
 Quitosán: - sin quitosán + : con quitosán

Actividad 13. Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida fisiológica de peso en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

Uno de los aspectos importantes durante la experimentación con una película cubriente es la medición de la pérdida de peso del frutes por lo cual, en esta actividad se evaluó la película de quitosán al 1.0 % y a dos diferentes temperaturas ($23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C) para ver el efecto en la pérdida de peso.

Para conseguir lo anterior, se realizó un arreglo factorial con 2 variables en donde la variable 1 fue la concentración de quitosán y la variable 2 la temperatura y la respuesta la pérdida de peso.

Se seleccionaron fresas sanas y al grado de madurez V y fueron cubiertas con la película a la concentración establecida en el estudio invitro.

Posteriormente se colocaron 100 gr. fresas en cada cesta (previamente identificadas) con sus dos respectivas réplicas.

Las cestas fueron pesadas cada 2 días por un periodo de 20 días a las condiciones correspondientes según el arreglo y se registraron los datos en la tabla siguiente.

Tabla No. 23 Pérdida de peso.

Cesta	Condiciones		Pérdida de peso (%)											
	Temperatura	Quitosán	2	4	6	8	9	10	12	14	16	18	20	
1	-	-												
2	+	-												
3	-	+												
4	+	+												

Temperatura: - : 5°C + : 23 ± 2°C

Quitosán: - Menor concentración + : Mayor concentración.

A los datos obtenidos en la actividad 12 y 13 se les aplicó la ANOVA seguido de la Prueba de Tuckey para ver si existe o no diferencia significativa entre los tratamientos.

ETAPA C.

OBJETIVO 5. Evaluar los parámetros de calidad y madurez de la fresa cubierta con el polímero de quitosán a la concentración establecida y almacenada a 5°C.

Una vez encontradas las condiciones de concentración y temperatura a las que se debe aplicar la película de quitosán se procedió a determinar su efecto sobre la calidad de la fresa, para lo cual, se emplearon frutos con grado de madurez V.

Se trabajó con dos lotes de fresas: experimental y control, ambas fueron almacenadas a 5°C. Cada lote consistió de 3 Kg de fresas, realizándose 3 réplicas por lote con sus respectivas repeticiones. La evaluación de los parámetros pH, acidez titulable (como ácido cítrico), °Brix, azúcares reductores, textura, color y pérdida de peso se efectuaron cada tercer día.

La muestra consistió de 1° a 15 fresas que fueron tomadas aleatoriamente para cada tratamiento. Se realizaron gráficos para observar y comparar el comportamiento de los 2 lotes y los resultados fueron sujetos a un Análisis de Varianza con un LSD (diferencia significativa) del 5%.

Las variables fueron las siguientes:

Variable independiente: Tiempo de almacenamiento

Variable dependiente: Cada uno de los parámetros de calidad a medir.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Actividad 1. Seleccionar y clasificar a la fresa en grupos de madurez, tomando como parámetro indicador el color que presenten en su epidermis.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla No. 24 Clasificación de las fresas por grupos de madurez.

COLOR	GRUPO O GRADO DE MADUREZ	No. FRESAS (promedio)	%FRESAS EN EL LOTE
Amarilloverde	I	No se encontraron	No se encontraron.
Amarillo	II	18	6.844
Amarillonaranja	III	68	25.86
Naranja	IV	No se encontraron	No se encontraron.
Rojonaranja	V	145	55.13
Rojo	VI	37	14.068

De lo anterior se puede resaltar claramente que el mayor porcentaje de fresas en lote de 2 kilos (268fresas) lo representó el grupo V y el de menor el grupo II; representando el grupo V el 50% de la totalidad de fresas encontradas en el lote, concluyéndose con ésto que el grupo mayoritario en el lote de fresas es el grupo V, con color rojonaranja que corresponde a fresas con estado de madurez cinco.

Por otro lado, se observó que de los seis colores que conforman la tabla cromática solamente cuatro fueron elegidos, descartándose el grupo I y IV por no encontrarse fresas que entraran dentro de esa gama de colores (Naranja y Amarilloverde respectivamente). Por lo tanto, la fresa se clasificó en cuatro grupos de acuerdo al color presentado en su epidermis, estableciéndose entonces cuatro estados de madurez en la fresa (con estos cuatro se trabajó). Los resultados obtenidos en esta etapa fueron la base para la evaluación y determinación de los parámetros indicados en el objetivo 1, para comprobar con ésto si la clasificación hecha a la fresa en base a su madurez - por medio del color- era correcta.

Actividad 2 Determinar las características sensoriales: sabor, olor, textura, forma, apariencia en la fresa.

Se evaluaron las características sensoriales en cada uno de los grupos seleccionados encontrando lo que se observa en tabla siguiente.

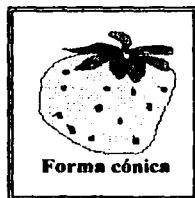
Tabla No. 25 Pruebas sensoriales en la fresa clasificada en distintos tipos de madurez.

GRUPOS	PRUEBA SENSORIAL			DEFECTOS	CALIFICACIÓN TOTAL
	SABOR	AROMA	TEXTURA		
II	Acidez muy pronunciada (3)	Perceptible (5)	Firme (9)	Defecto menor de tipo genético fisiológico (9)	26
III	Acidez moderada (6)	Moderadamente pronunciado (8)	Firme (8)	Defecto menor de tipo genético fisiológico (9)	30
V	Dulzura moderada (9)	Muy pronunciado (9)	Firme (7)	Defecto menor de tipo genético fisiológico (9)	34
VI	Dulzura moderada (9)	Moderadamente pronunciado (8)	Moderadamente firme (5)	Defecto menor de tipo genético fisiológico (9)	31

De lo anterior se puede concluir que el mayor puntaje lo representó el grupo V, presentando con esto mejores características sensoriales con respecto a los demás grupos, que corresponde a una fresa en buen estado, y apta para el consumo. Por el contrario, el grupo II resultó ser el de menor calificación con características sensoriales bajas. Sin embargo, los resultados obtenidos en la tabla pueden ser lógicos, si tomamos en cuenta que a cada grupo le corresponde un determinado estado de madurez. Cabe mencionar que este método de evaluación fue muy subjetivo ya que depende mucho de cada panelista, variando ampliamente con el individuo que las efectúe.

En lo que corresponde a la forma de la fresa, ésta tuvo una simetría cónica en un 80% de las fresas del lote estudiado, mientras que el resto presentó formas amorfas debidas tal vez a defectos de tipo genético-fisiológico.

Figura No. 19 Forma predominante de la fresa



Actividad 3. Determinar los parámetros físicos: tamaño, peso, textura y color en la fresa.

3.1. Tamaño.

El tamaño de la fresa se determinó por su diámetro ecuatorial y longitudinal.

Tabla No. 26 Diámetros de las fresas según su estado de madurez.

GRUPO POR ESTADO DE MADUREZ	DIÁMETRO ECUATORIAL (cm)		DIÁMETRO LONGITUDINAL (cm)	
	mínimo	máximo	mínimo	máximo
	II	1.1	2.3	1.3
III	1.6	2.9	1.2	3.5
V	1.92	3.6	1.6	3.7
VI	1.82	2.9	1.6	2.7

De acuerdo con lo anterior, las fresas se clasificaron por su diámetro ecuatorial como sigue (ver Tabla 17 y 18 de la actividad 3.1).

Tabla No. 27 Calidad de las fresas según su tamaño.

GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	TAMAÑO				CALIDAD		
	A	B	C	D	México Extra	México 1	México 2
	II		X	X	X		X
III		X	X	X	X	X	X
V	X	X	X	X	X	X	X
VI		X	X	X	X	X	X

De esta tabla se concluye que solamente la fresa perteneciente al grupo V entra en los cuatro tamaños (A,B,C,D) especificados en la Norma de Calidad Mexicana; mientras que las del grupo II solamente pertenecen al tamaño C y D, por lo que se puede decir que la fresa con grado de madurez cinco es la que posee la mayor calidad por su tamaño, mientras que las del grado dos pueden ser consideradas como las de menor calidad.

En lo referente a la calidad, únicamente las fresas que forman parte del grupo II no entran dentro de lo que es la calidad México Extra, que es la máxima calidad; esto debido a que el diámetro ecuatorial de estas fresas es demasiado pequeño (C y D), por lo que solo pueden entrar en lo que es la calidad México 1 y 2.

De esta manera es como quedan clasificadas las fresas por tamaño y calidad en base a la Norma de Calidad Mexicana.

3.2. Peso.

Se determinó el peso de las fresas en sus respectivos grupos, dando como resultado lo que se muestra en la tabla que sigue.

Tabla No. 28 Pesos de las fresas en base a su estado de madurez.

GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	PESO PROMEDIO(gr)	
	mínimo	máximo
II	3.8	5.8
III	4.4	10
V	4.5	14.8
VI	4.2	7.7

Resumiendo la tabla, se puede decir que las fresas pertenecientes al grupo II, son las que presentaron el menor rango de peso, mientras que para las otras el intervalo de peso es prácticamente similar. Aunque es importante resaltar que las fresas del grupo V presentaron el máximo valor de peso. El peso de un fruto es un factor muy importante para evaluar su calidad, ya que a partir de éste se condicionan los mejores precios en el mercado.

3.3. Color.

Se determinó el color de las fresas por medio del Minolta, obteniéndose lo siguiente.

Tabla No. 29 Parámetros de color en fresas con distinto estado de madurez.

GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ.	LUMINOSIDAD*	S		TONO * (*H)	CROMA*		
		S	S		S	S	
II	63.04	1.940		80.17	2.699	38.67	1.863
III	51.34	1.799		62.20	1.791	43.09	1.589
V	41.38	1.499		41.38	1.703	47.348	1.815
VI	33.995	0.681		24.60	0.889	45.435	2.522

*Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

•La S desviación estándar.

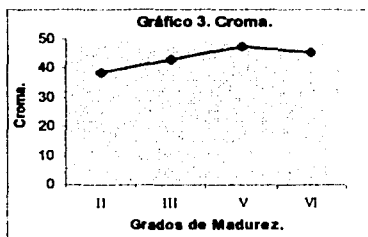
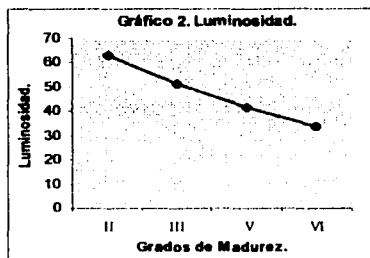
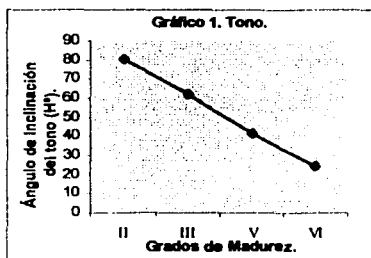
A los resultados obtenidos en la tabla anterior, se les aplicó un Análisis de Varianza seguida de la prueba de Tuckey (ver Anexo 9), con lo cual se determinó que si existe diferencia significativa entre los grupos de cada uno de los parámetros de color: Luminosidad, Tono y Croma, existiendo por lo tanto, un efecto del grado de madurez del fruto sobre el color del mismo. Cabe recordar que el tono, corresponde al nombre del color; la luminosidad, a que tan claro u oscuro es un objeto; y el cromas, se refiere a la pureza del mismo, es decir, a la saturación del color.

Se realizaron gráficos de los parámetros de color (Luminosidad, Tono y Croma) contra los grados de madurez, con la finalidad de encontrar la relación existente entre ambas variables (ver gráficos 1, 2 y 3). Además, se aplicó una regresión lineal a los datos, encontrándose que estos guardan una relación lineal representada por las siguientes ecuaciones:

$$y = -18.75x + 98.97 \quad \text{con una } r = -0.999$$

$$y = -9.71x + 71.71 \quad \text{con una } r = -0.995$$

$$y = 2.46x + 37.49 \quad \text{con una } r = 0.847$$



Por todo lo anterior, se concluye que en lo que respecta a la luminosidad del fruto, ésta va disminuyendo conforme aumenta la madurez del mismo, esto es, se vuelve cada vez más oscura la fresa conforme su valor de luminosidad se acerca a 0 y se vuelve más clara a medida que se aproxima a 100. Encontrándose con ésto, que la madurez del fruto tiene un efecto inversamente proporcional en la luminosidad, guardando un comportamiento lineal entre ambas. En lo referente al tono, éste guarda una relación inversamente proporcional con el estado de madurez del fruto, es decir, su valor va disminuyendo conforme aumenta la madurez del mismo. Y por último, se determinó que el Croma incrementa su valor conforme la madurez del del fruto avanza, esto para los tres primeros estados de madurez, ya que para el último ve su valor disminuido. Esto puede deberse a que a cada color le corresponde una determinada pureza y por lo tanto, como se trata de diferentes tonalidades es posible que les corresponda una pureza similar.

Estos cambios en el color son debidos a una degradación de la clorofila, la cual aumenta a medida que avanza el estado de madurez del fruto, acompañada de la aparición de pigmentos amarillos, anaranjados y rojos, que en el caso de la fresa se forman al final unos pigmentos llamados antocianinas (Pelargonidinas) que se encuentran localizadas en las células epidérmicas del fruto y dan el color rojo característico. (Cheftel, 1983; Hawthorn, 1988)

3.4. Textura.

Se determinó la textura de la fresa por medio de una prueba de penetrabilidad, obteniéndose lo siguiente.

Tabla No. 30 Textura de las fresas en los diferentes grupos de madurez.

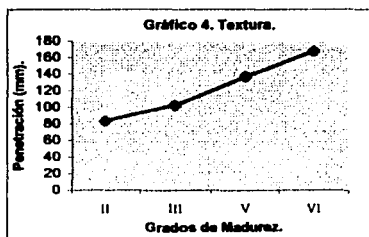
GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	DISTANCIA PENETRADA POR EL CONO (mm)*	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
II	83.75	4.031
III	102.51	4.69
V	137.25	6.07
VI	168.25	1.5

*Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de diez fresas cada una

Con la finalidad de averiguar si existía diferencia significativa entre los datos y saber si realmente hay un efecto de la madurez sobre la textura del fruto, se aplicó un Análisis de Varianza seguido de la prueba de Tuckey (ver Anexo 9); encontrándose que si existe un efecto del estado de madurez con respecto a la textura del fruto, por lo que se determinó que la penetrabilidad del fruto se vuelve mayor a medida que la madurez del fruto progresa, es decir, la fresa conforme está más madura opone menor resistencia al paso del cono a través de ella, y por tanto, es más sencilla su penetración. Lo anterior, es debido a que a medida que va alcanzando su madurez fisiológica, la fruta se va ablandando por que hay una mayor retención de agua en las células, debida al fenómeno de ósmosis que resulta de las fuertes concentraciones intracelulares; asimismo, la textura se ve influenciada por los geles de pectina, que aseguran la ligazón de las paredes celulares, y que conforme avanza la madurez del fruto entran en acción las enzimas pectolíticas degradando estos geles, disminuyendo así las fuerzas de cohesión entre la estructura, provocando una disminución en la dureza del fruto. (Cheffel, 1983).

Se realizó un gráfico de Penetración contra Grado de Madurez, con la finalidad de encontrar la relación existente entre ambas (ver gráfico 4). Se le aplicó a los resultados una regresión lineal obteniéndose que estas variables guardan una relación lineal directa, con la siguiente ecuación representativa:

$$y = 28.82x + 50.88 \text{ con una } r = 0.9932$$



Por todo lo anterior, se concluye que la fresa pierde firmeza en su estructura conforme aumenta su madurez.

Actividad 4. Cuantificar los parámetros químicos.

4.1. Humedad.

Tabla No. 31 Porciento de Humedad en fresa con distinto grado de madurez.

GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	% HUMEDAD *	DESVIACIÓN ESTANDAR
II	83.915	0.1616
III	85.287	0.1674
V	88.313	0.4965
VI	91.014	1.028

*Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

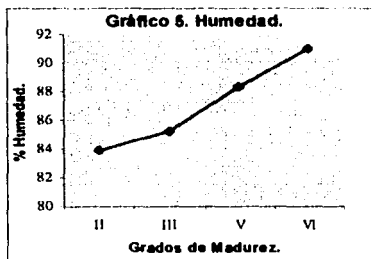
Se realizó un Análisis de Varianza y una prueba de Tuckey (ver Anexo 9) a los datos de la tabla anterior, encontrándose que hay un efecto significativo del grado de madurez sobre el contenido de humedad en el fruto, concluyéndose que el fruto conforme se incrementa su estado de madurez presenta mayor contenido de humedad; siendo ésta la causante de la jugosidad de la pulpa. Lo anterior, es debido al fenómeno de ósmosis, el cual provoca mayor retención de agua en las células, a medida que el fruto va madurando. De acuerdo con Willis 1981, estos resultados son lógicos ya que el menciona que el contenido de humedad esta ampliamente relacionado con el grado de madurez de un fruto, ya que el fruto tiende a atrapar mayor porcentaje de agua conforme pasa del estado inmaduro al maduro. Sin embargo, en un estudio realizado por este autor, el porcentaje de humedad es ligeramente superior al detectado por nosotros, lo que podía ser debido a las pérdidas de agua producidas durante las fases del transporte y almacenamiento, además de que posiblemente se trate de otra variedad de fresa ya que en el estudio de Willis no se menciona, y como se sabe la composición química de una variedad y otra difiere. En un estudio realizado por López 1996, con piñas de diferentes variedades se establece que su composición difiere de una variedad a otra, por lo que de aquí

se puede establecer que en realidad un fruto presenta distinta composición química dependiendo de la variedad y origen de cada una de ellas, por lo que es difícil poder hacer comparaciones entre un estudio y otro.

Se realizó un gráfico de Humedad vs grado de madurez (ver Gráfico 5). Posteriormente, se efectuó una regresión lineal a los datos encontrándose que existe una relación lineal entre las dos variables, la cual se encuentra expresada mediante la siguiente expresión:

$$y = 2.36 x + 81.12 \quad \text{con una } r = 0.976$$

Con lo que se concluye que el fruto a medida que avanza su estado de madurez adquiere mayor jugosidad en su pulpa y por lo tanto, mayor succulencia.



4.2. Sólidos Solubles (*Brix).

Tabla No. 32 Porcentaje de Sólidos Solubles para la fresa.

GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	% SÓLIDOS SOLUBLES*	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
II	3.42	0.022
III	5.45	0.312
V	8.65	0.251
VI	10.87	0.506

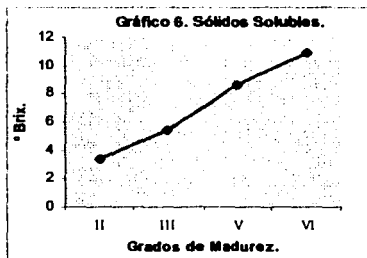
* Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

Al aplicarse los Análisis Estadísticos correspondientes (ver Anexo 9), se encontró que existe diferencia significativa entre los datos y que por lo tanto, el estado de madurez del fruto influye sobre el contenido de sólidos solubles, observándose que este contenido aumenta su proporción de manera significativa al ir aumentando el grado de madurez. Esto se debe a que prácticamente los sólidos solubles en su mayor parte son azúcares, y por lo tanto, los azúcares tienden a aumentar conforme se va alcanzando la madurez, los cuales se forman a partir del almidón presente en el fruto verde (el almidón se transforma en azúcares simples como glucosa y fructosa a medida que progresa la madurez del fruto). (Durán, 1993).

Desgraciadamente no se han encontrado datos que nos hagan comparar los resultados obtenidos, pero en un estudio realizado por Dale 1991, en que se trabajó con zarzamoras de diferentes variedades, se encontró que al igual que para la fresa el contenido de °Brix se incrementa a medida que la zarzamora sufre su proceso de maduración, por lo que con esto se avalan nuestros resultados.

Se trazó un gráfico de Sólidos Solubles contra Grado de Madurez (ver Gráfico 6), seguido de la aplicación de regresión lineal; encontrándose que existe una relación lineal directa entre ambas variables con la siguiente ecuación que la representa:

$$y = -2.455x + 13.48 \text{ con una } r = -0.9966$$



4.3. Azúcares Reductores.

Tabla No. 33 Porcentaje de Azúcares Reductores en la fresa en base a su estado de madurez.

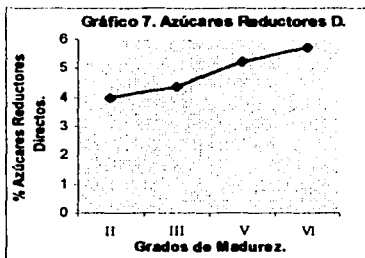
GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	% AZÚCARES REDUCTORES*	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
II	3.981	0.125
III	4.367	0.106
V	5.207	0.161
VI	5.713	0.11

* Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

A los datos de la tabla anterior se les aplicó un Análisis de Varianza seguido de una prueba de Tuckey (ver Anexo 9), encontrándose que existe un efecto del estado de madurez del fruto sobre el contenido de azúcares reductores, por lo que se establece que al ir madurando el fruto se produce un aumento en la presencia de azúcares simples, provocando un mayor endulzamiento en el mismo. Esto se debe a que a medida que avanza la maduración, los azúcares complejos como el almidón se transforman en simples (glucosa, fructuosa y sacarosa), por lo que hay una gran acumulación de glucosa y fructuosa en los tejidos, incrementándose así el contenido de estos azúcares reductores. (Cheffel, 1983)

Se graficaron el % Azúcares Reductores contra Grado de Madurez (ver gráfico 7), seguido de la aplicación de regresión lineal a los datos. Lo que se encontró fue que las variables antes mencionadas guardan una relación lineal directa, representada por la siguiente ecuación:

$$y = -0.573x + 6.276 \text{ con una } r = -0.9997$$



Actividad 5. Determinar los parámetros fisicoquímicos

5.1. Acidez.

Tabla No. 34 Porcentaje de Acidez medido como ácido cítrico en la fresa.

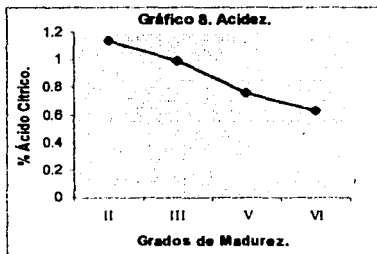
GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	% ACIDEZ EXPRESADO COMO ÁCIDO CÍTRICO*	DESVIACIÓN ESTÁNDAR.
II	1.137	0.0442
III	0.996	0.0152
V	0.750	0.0141
VI	0.628	0.0212

* Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

Al aplicarse los análisis estadísticos correspondientes (ver Anexo 9), se encontró que si existe un efecto del grado de madurez del fruto sobre la acidez del mismo, por lo que se puede decir que el contenido de ácido cítrico en la fresa (ácido predominante) va disminuyendo conforme el fruto va alcanzando su madurez. Todo esto se debe a que conforme progresa el proceso de maduración, los ácidos presentes se esterifican o se transforman en azúcares, disminuyendo así el porcentaje de acidez. (Durán, 1993). A pesar de que no se encontraron estudios similares, el trabajo realizado por López 1996, nos muestra que nuestros resultados presentan un comportamiento similar a los suyos, demostrándose que los frutos si sufren un ablandamiento de su estructura conforme transcurren los cambios bioquímicos propios del fruto.

Se trazó un gráfico de % Acidez contra Grado de Madurez (ver gráfico 8), seguido de la aplicación de regresión lineal, encontrándose que existe una relación lineal entre las variables, la cual es inversamente proporcional y se represente mediante la siguiente ecuación:

$$y = 0.161x + 0.4395 \text{ con una } r = 0.9637$$



5.2. pH.

Tabla No. 35 Determinación del pH en las fresas clasificadas en diferentes estados de madurez.

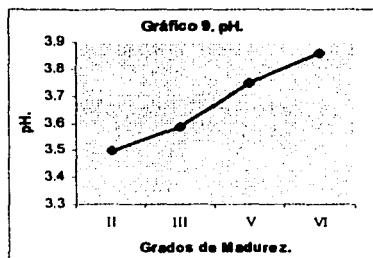
GRUPOS POR ESTADO DE MADUREZ	pH *	DESVIACIÓN ESTANDAR
II	3.4950	0.0310
III	3.5862	0.0170
V	3.7475	0.0206
VI	3.8555	0.0290

* Los datos reportados son un promedio de cinco réplicas de 15 fresas cada una.

Al aplicarse a los datos de la tabla los estadísticos correspondientes (ver Anexo 9), se encontró que el estado de madurez del fruto sí influye sobre el valor de pH, por lo que se puede mencionar que el valor de pH tiende a incrementarse a medida que el fruto madura. Lo anterior, es causado por un decremento en el contenido de compuestos ácidos y un incremento de los compuestos encargados de impartir el dulzor (azúcares). En toda la bibliografía analizada, no se han encontrado datos de análisis realizados en fresa en sus distintos estados de madurez, sin embargo se ha podido determinar de manera general que un fruto conforme va alcanzando su estado óptimo de maduración incrementa su pH, esto lo hace referente de manera muy general Dale 1991, por lo que se puede decir los resultados obtenidos son los esperados.

Se realizó un gráfico de pH contra Grado de Madurez (ver gráfico 9) con su respectivo análisis de regresión, encontrándose que entre las anteriores variables hay una relación de tipo lineal directa, representada por la siguiente ecuación:

$$y = -1096x + 3.943 \text{ con una } r = 0.9962$$



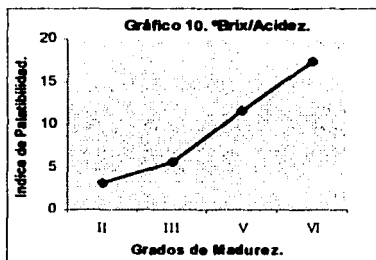
Finalmente se trazó un gráfico de S.S.°Brix vs %Acidez, tomando como puntos los datos que se muestran a continuación.

Tabla No. 36 Índice de Palatibilidad en la fresa en sus distintos estados de madurez.

GRUPOS DE ESTADO DE MADUREZ	RELACIÓN °BRIX / ACIDEZ (ÍNDICE DE PALATILIDAD)
II	3.052
III	5.47
V	11.53
VI	17.31

A este índice se le conoce como índice de palatibilidad, en donde se relacionan los °Brix y la acidez. Esta relación determina el balance del sabor entre el dulzor y la acidez, aumentando con la maduración, por lo que también a este índice se le conoce como índice de madurez. (López, 1996). Dale (1991), señala que este índice de madurez es de suma importancia, ya que de esta relación se obtiene la madurez que se desea comercialmente en muchos países.

Al observar el gráfico 10, se puede concluir que este índice tiende a incrementarse a medida que aumenta la madurez del fruto, por lo que se puede decir que el fruto va adquiriendo mayor dulzor conforme progresa su maduración y disminuyendo su acidez.



En general se puede mencionar que la metodología de análisis empleada para la evaluación de la calidad y grados de madurez para la fresa en estado fresco fué la adecuada, ya que a través de ésta fué posible obtener lo siguiente:

El estado de madurez predominante dentro de los lotes estudiados fue el cinco (V) con un porcentaje del 55.13%, mientras que el de menor lo conformo el grado de madurez dos (II) con un 6.84%.

En cuanto a la calidad de la fresa en sus diferentes grados de maduración, se puede decir que la fresa perteneciente al grupo cinco fué la que presentó la mayor calidad con respecto a las demás, así como la más cercana a la requerida en la Norma de Calidad Mexicana, tanto por su tamaño como por sus características organolépticas. Por el contrario, las fresas del grupo dos presentaron las menores características de calidad permitidas por la NOM.

Por otro lado, quedó establecido que la clasificación de la fresa por medio de la observación visual de su coloración externa fué correcta, lo cual fué corroborado con la medición del color por un método objetivo como lo es el Colorimétrico, en donde los colores observados visualmente se acercaron mucho a los marcados por el colorímetro (aunque con sus respectivas limitaciones, ya que ésto dependerá de cada observador).

Además esta clasificación se terminó de comprobar al medir los otros parámetros especificados en la experimentación, por lo que se puede concluir que el fruto en estudio presentó cuatro estados de madurez y calidad: para el primero se encontró que las fresas tenían un estado casi próximo a la inmadurez, ya que a pesar de tener los menores resultados de calidad y de madurez no se encontraban en un estado verde (determinado por el color), el cual es un indicio de una falta total de madurez. Al segundo grupo pertenecieron fresas en estado transitorio, es decir, en estado cambiante entre la inmadurez y la madurez, aunque se encontraba más cerca del primero. El tercer grupo se conformo de fresas en estado de madurez de consumo, ya que se encontraban en óptimas condiciones. Finalmente, para el último grupo correspondieron fresas en estado intermedio entre la madurez y la sobremadurez, ya que a pesar de que presentaron características de calidad algo bajas (sensoriales y de textura), se tuvo un contenido adecuado en sus constituyentes químicos (sólidos solubles, azúcares reductores, humedad, etc), lo cual no corresponde a un estado de sobremadurez, en donde el contenido de azúcares y el resto de los componentes químicos sufren una disminución acompañada de una textura muy blanda que favorecen los ataques fúngicos (lo cual no sucedió).

Por todo lo anterior, se establece que el grado de madurez V es el adecuado para el recubrimiento de la fresa con quitosán, ya que este presentó las mejores características de calidad y de madurez con respecto a los demás grados de madurez encontrados; el cual fue utilizado en la etapa B y C en la actividad 11 y objetivo 5 respectivamente.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

OBJETIVO 2.

Actividad 6 y 7: Aislar y purificar las cepas de los hongos en estudio.

En el primer aislamiento se obtuvieron un total de 17 cepas diferentes a partir de los frutos enfermos, de las cuales 8 se aproximaron en una instancia a la morfología macroscópica del género *Rhizopus* y 5 al de *Botrytis*. Para el segundo aislamiento, de las 8 cepas, 4 dieron positivo a *Rhizopus stolonifer*, mientras que para *Botrytis cinerea* solo 1.

Con relación a los medios de cultivo, las colonias ya puras de los hongos en estudio, no presentaron cambio alguno en el color y la forma de la colonia, únicamente en el tiempo que tardaron en desarrollarse, como se presenta en las siguientes tablas.

Tabla No. 37 Diámetros de crecimiento de *Rhizopus stolonifer* en diferentes medios a 6 días de incubación.

MEDIO DE CULTIVO	1	2	3	4	5	6
Agar de papa dextrosa	Ø= 0.9 cm.	Ø= 2.5 cm.	Ø= 5.0 m.	Ø= 6.7 cm.	Ø= 7.5 cm.	Ø= 7.9cm.
Sabouraud	Ø= 1.0 cm.	Ø= 2.3 cm.	Ø= 4.2 cm.	Ø= 6.3 cm.	Ø= 7.4 cm.	Ø= 8.0cm.
Agar de papa natural	Ø= 1.3 cm.	Ø= 3.0 cm.	Ø= 5.5 cm.	Ø= 7.6cm.	Ø= 8.2 cm.	Ø= 8.4 cm.
Agar de fresa	Ø= 1.5 cm.	Ø= 3.2 cm.	Ø= 6.0 cm.	Ø= 7.3 cm.	Ø= 8.0 cm.	Ø= 8.5 cm.

Tabla No. 38 Diámetros de crecimiento de *Botrytis cinerea* en diferentes medios a 6 días de incubación.

MEDIO DE CULTIVO	1	2	3	4	5	6
Agar de papa dextrosa	Ø= 0.8 cm.	Ø= 1.8 cm.	Ø= 4.1cm.	Ø= 6.8 cm.	Ø= 7.5 cm.	Ø= 8.0 cm.
Sabouraud	Ø= 1.0 cm.	Ø= 1.7 cm.	Ø= 3.1cm.	Ø= 5.0 cm.	Ø= 6.7 cm.	Ø= 7.9 cm.
Agar de papa natural	Ø= 1.1cm.	Ø= 2.2 cm.	Ø= 4.2 cm.	Ø= 7.0 cm.	Ø= 8.0 cm.	Ø= 8.3 cm.
Agar de fresa	Ø= 1.3 cm.	Ø= 2.4 cm.	Ø= 4.0 cm.	Ø= 7.3 cm.	Ø= 7.9 cm.	Ø= 8.2cm.

Con ayuda de las tablas anteriores, se observó, que en el agar de papa natural y en el de fresa se dió un mejor desarrollo de las colonias pero hay una mejor apreciación del crecimiento aéreo de ambas cepas en el agar de papa natural.

Para el caso de *Rhizopus* se pudo apreciar la presencia de esporangio al tercer día.

A 4 días de incubación las colonias de *Botrytis* cambian de color blanco a verde sucio y al 6º día fueron completamente gris obscuro de apariencia polvosa y la presencia de las esporas se dieron a los 4 días de incubación.

Tabla No. 39 Características macroscópicas de las colonias en Agar de papa natural a 6 días de incubación.

HONGO	FORMA	COLOR SUPERFICIAL	COLOR REVERSO	ASPECTO	TAMAÑO
<u>Rhizopus stolonifer</u>	Circular, oval	Blanco y al tercer día se observan los esporangios de color obscuro.	Sin coloración	Velosa (esporangióforo de 1.2 – 1.5cm. de alto). Húmedo.	A los dos días son de 3.0 cm de diámetro y al 4° o 5° día el micelio cubre el 90% de la caja.
<u>Botrytis cinerea</u>	Circular.	Blanca y cambia a gris oscuro cenizo en 6 días de incubación.	Observado a la luz es verde sucio obscuro.	Aterciopelada, plana, seca y polvosa.	A los dos días, presentan un diámetro de 2.2 cm y al 5°- 6° día el micelio cubre el 90% de la caja.

Observaciones en placa a una temperatura de incubación: 23±2°C.

Actividad 8: Identificar a los hongos en estudio por medio de microcultivos.

Tabla No. 40 Características microscópicas de las colonias.

HONGO	CARACTERÍSTICAS ENCONTRADAS.
<u>Rhizopus stolonifer</u>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Esporangióforo: largos, sin septos, lisos sin coloración. Esporangio: esférico, en un principio es incolora pero después presenta un color café oscuro debido a que encierra en su interior a las esporas. 2. Esporangiosporas (esporas): circulares e incoloras y otras oscuras cuando maduran.
<u>Botrytis cinerea</u>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Conidióforos : largos, oscuros, septados, anchos. En la parte superior presenta ramificaciones irregulares. 2. Conidios : están presentes como racimos de uvas. 3. Esporas: son circulares y ovoides e incoloras en su interior.

Figura No. 20 Esquemas a diferentes aumentos de Rhizopus stolonifer

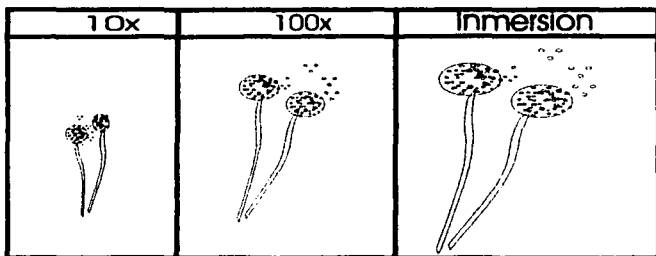


Figura No.21 Esquemas a diferentes aumentos de Botrytis cinerea

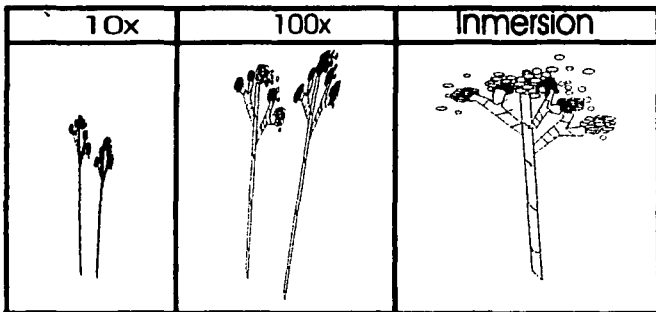


Figura No.22. Características microscópicas de Rhizopus stolonifer

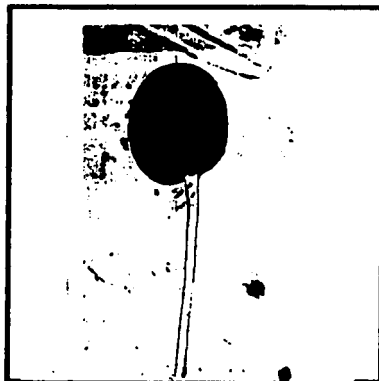
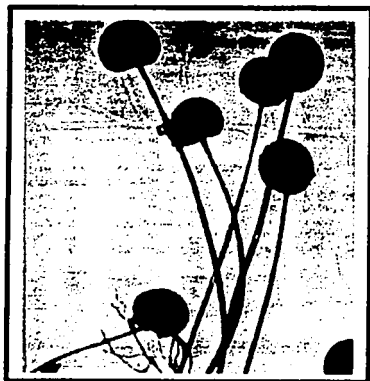
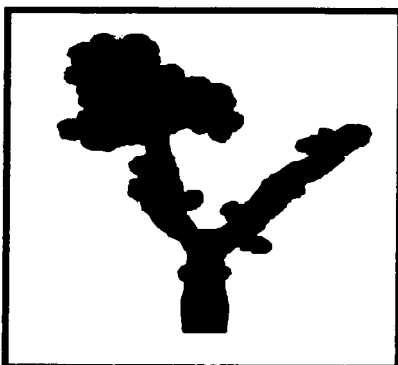
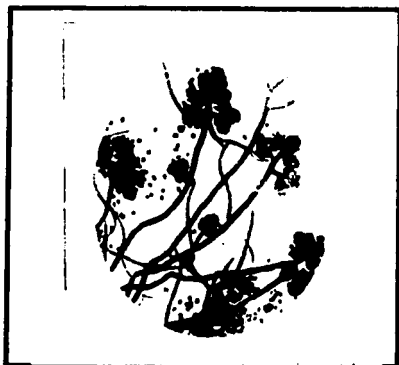


Figura No.23 Características microscópicas de Botrytis cinerea



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como se puede observar, las características microscópicas de cada una de las cepas de los hongos en estudio concuerdan con el de las ilustraciones correspondientes a Rhizopus stolonifer y Botrytis cinerea anteriormente presentadas tal como la describen Maas 1984, Mendoza 1987 y Agrios 1995.

Actividad 9: Confirmar los hongos en estudio reproduciendo la enfermedad en frutos sanos.

Al inocular las fresas con las colonias puras en estudio se observaron síntomas que coinciden en gran parte con los descritos por Maas 1984, Mendoza 1987 y Agrios 1995, tanto para la pudrición seca como para la húmeda.

En la primera, que fue causada por Botrytis cinerea, se presentó la pudrición con las características siguientes: la lesión por el hongo fue de forma circular a oval, en un principio de color rosáceo-claro y luego se tornó café claro, suave, poco firme y sin desprendimientos de jugos, cabe mencionar que ésto se presentó tanto lesionando al fruto como inoculando superficialmente, aunque en éste último se tardó 1 día y medio más en presentarse los síntomas anteriormente mencionados debido a que el hongo debe romper la epidermis de la fresa por medio de las enzimas pectolíticas que segrega. En el caso de la inoculación por lesión al tercer día el hongo comenzó a desarrollarse en el borde de la lesión en donde la colonia es de color blanco en forma de terciopelo; aproximadamente al quinto día el micelio tomó una coloración verde-sucio y cubrió casi un 85% de la superficie del fruto. Al avanzar la enfermedad el fruto fué deshidratado y momificando quedando el fruto cubierto en un 100% por la esporulación fungosa la cual en ese momento ya fue color gris oscuro opaco. Cuando se le realizó un corte vertical al fruto, en éste se observó que el receptáculo presentó una coloración amarillenta, de textura aún firme, pero al continuar atacando el hongo, se tornó color café.

Con relación al sitio del fruto que es más propenso al ataque por Botrytis cinerea, en un principio el crecimiento fue mayor (en cuanto a la extensión atacada) en la parte superior del fruto, siendo menor en la parte media e inferior, esto sucedió tanto inoculando al hongo por incisión como superficialmente, en donde el crecimiento fue más lento y el micelio cubrió toda la superficie del fruto sin notarse las áreas inoculadas. Por lo tanto, se puede decir que este hongo ataca a cualquier parte del fruto pero en un principio tiene preferencia por la parte superior.

En cuanto a Rhizopus stolonifer, la lesión que ocasionó fue muy parecida a la de Botrytis, ya que también fue de forma circular, tonalidad rosácea que después se torna café, ésto se presentó tanto inoculado al fruto por incisión como superficialmente. A los dos días de la inoculación por incisión se visualizaron los primeros esporangióforos blancos de aproximadamente 0.5cm; al tercer día crecen hasta 1.5 cm ya con sus respectivos esporangios oscuros, a ese mismo tiempo, el fruto ya estuvo cubierto por el hongo en un 70% de su superficie, y a la mínima presión con el asa se dió el desprendimiento de jugos color rosáceo-blancuzco y de olor fermentado. Lo mismo ocurrió cuando se inoculó el hongo

superficialmente, solo que requirió de mayor tiempo (3 días más) para que se presente todos los síntomas anteriormente mencionados. La partes que tuvo preferencia dicho hongo fue la superior y central del fruto.

Al observar el receptáculo, éste presentó una apariencia aguanosa y grumosa debido a la desintegración del tejido; además tuvo una coloración rosa pálido y olor fermentado. Al paso del tiempo, este hongo también momificó a la fresa.

El mecanismo de acción de estos hongos cuando fueron inoculados superficialmente consistió primero en romper la pared pectolítica de la epidermis del fruto, por medio de las enzimas pectolíticas que segregan, para posteriormente entrar en la parte pulposa (receptáculo) y encontrar los nutrientes necesarios para su desarrollo.

Considerando los síntomas antes mencionados en el fruto, así como las características morfológicas tanto macroscópicas como microscópicas de las cepas en un determinado medio de cultivo, se puede asegurar que se logró la identificación de Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer siendo éstos agentes causales de la pudrición seca y húmeda respectivamente.

OBJETIVO 3.

Actividad 10: Establecer la mínima concentración inhibitoria in vitro de quitosán.

Tabla No. 41 Efecto invitro del quitosán sobre el desarrollo de Rhizopus stolonifer a diferentes concentraciones.

% DE QUITOSÁN	2 DIAS	4 DIAS	6 DIAS	8 DIAS	10DIAS
0 (control) ✓	Ø colonia: 3.2 cm, color blanca, la hifa es de 1 cm de alto, hay esporangio, sin esporas, el micelio cubre el 40% de la caja.	Ø colonia: 8.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.2-1.5 cm de alto, hay esporangio, con esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Ø colonia: 8.5 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio y salida de esporas, el micelio cubre el 95% de la caja.	Ø colonia: 9.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio y salida de esporas, el micelio cubre el 100% de la caja.	Igual que el día anterior
0.1 ✓	Ø colonia: 3-3.5 cm, color blanca, la hifa es de 1-1.2 cm de alto, hay esporangio, sin esporas, el micelio cubre el 40% de la caja.	Ø colonia: 7.7 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio, con esporas, el micelio cubre el 87% de la caja.	Ø colonia: 8.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio, con salida de esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Ø colonia: 9.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio y salida de esporas, el micelio cubre el 100% de la caja.	Igual que el día anterior
0.2 ✓	Ø colonia: 3 cm, color blanca, la hifa es de 1-1.0 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 35% de la caja.	Ø colonia: 5.6 cm, color blanca, la hifa es de 1.3 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 53% de la caja.	Ø colonia: 8.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio, con salida de esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Ø colonia: 9.0 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio y salida de esporas, el micelio cubre el 100% de la caja.	Igual que el día anterior
0.3 ✓	Ø colonia: 3 cm, color blanca, la hifa es de 1-1.0 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 35% de la caja.	Ø colonia: 5 cm, color blanca, la hifa es de 1.3 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 50% de la caja.	Ø colonia: 8 cm, color blanca, la hifa es de 1.5 cm de alto, hay esporangio, con salida de esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior
0.4 ✓	Ø colonia: 1.2 cm, color blanca, la hifa es de 0.8 cm de alto, no hay esporangio, sin esporas, el micelio cubre el 10% de la caja.	Ø colonia: 4 cm, color blanca, la hifa es de 1-1.2 cm de alto, no hay esporangio, con esporas, el micelio cubre el 45% de la caja.	Ø colonia: 4.2 cm, color blanca, la hifa es de 1.2 cm de alto, no hay esporangio, con esporas, el micelio cubre el 45% de la caja.	Ø colonia: 4.2 cm, color blanca, la hifa es de 1.2 cm de alto, hay esporangio, con salida de esporas, el micelio cubre el 45% de la caja.	Igual que el día anterior

Continuación de la Tabla No. 41

% DE QUITOSÁN	2 DIAS	4 DIAS	6 DIAS	8 DIAS	10 DIAS
0.5 ✓	✖	∅ colonia: 1.3 cm, color blanca, la hifa es de 0.7 cm de alto, hay esporangio claro, con esporas, el micelio cubre el 15% de la caja.	∅ colonia: 1.5 cm, color blanca, la hifa es de 0.7 cm de alto, hay esporangio con esporas, el micelio cubre el 17% de la caja.	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior
0.6 ✓	✖	∅ colonia: 1.0 cm, color blanca, la hifa es de 0.7 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 10% de la caja.	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior
0.7 ✓	✖	∅ colonia: 0.5 cm, color blanca, la hifa es de 0.5 cm de alto, hay esporangio claro, sin esporas, el micelio cubre el 5% de la caja.	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior
0.8 ✓	✖	∅ colonia: 0.2 cm, color blanca, la hifa es de 0.1 cm de alto, no hay esporangio solo micelio cubre el 2% de la caja.	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior	Igual que el día anterior
0.9, 1.0 y 1.5 ✖	✖	✖	✖	✖	✖

Observaciones en placa: Con desarrollo: ✓ Sin desarrollo: ✖

Medio de cultivo: Agar de papa natural.

Tiempo de incubación: 10 días.

Temperatura de incubación: 23± 2°C.

∅ : Diámetro de la colonia

Tabla No. 42 Efecto invitro del quitosán sobre el desarrollo de *Botrytis cinerea* a diferentes concentraciones.

% DE QUITOSÁN	2 DIAS	4 DIAS	6 DIAS	8 DIAS	10DIAS
0 (control) ✓	∅ colonia: 1.3 cm, color blanca, sin esporas, el micelio cubre el 15% de la caja.	∅ colonia: 7.5cm, color vede sucio, con esporas, el micelio cubre el 87% de la caja.	∅ colonia: 8.2cm, color gris obscuro, con esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Igual que el dia anterior	Igual que el dia anterior
0.1 ✓	∅ colonia: 1.0 cm, color blanca, sin esporas, el micelio cubre el 10% de la caja.	∅ colonia: 2.3 cm, color verde sucio, con esporas, el micelio cubre el 25% de la caja.	∅ colonia: 5.0 cm, color gris obscuro, con esporas, el micelio cubre el 50% de la caja.	∅ colonia: 8.0cm, color gris obscuro, con esporas, el micelio cubre el 90% de la caja.	Igual que el dia anterior
0.2 ✓	∅ colonia: 0.7 cm, color blanca, sin esporas, el micelio cubre el 8% de la caja.	∅ colonia: 1.0 cm, color blanca, solo micelio y cubre el 10% de la caja.	Igual que el dia anterior	Igual que el dia anterior	Igual que el dia anterior
0.3 ✓	✖	∅ colonia: 0.2 cm, color blanca, solo micelio y cubre el 0.1% de la caja.	Igual que el dia anterior	Igual que el dia anterior	Igual que el dia anterior
0.4 - 1.0 y 1.5 ✖	✖	✖	✖	✖	✖

Observaciones en placa: Con desarrollo: ✓ Sin desarrollo: ✖

Medio de cultivo: Agar de papa natural.

Tiempo de incubación: 10 días.

Temperatura de incubación: 23± 2°C.

∅ : Diámetro de la colonia

En las pruebas de sensibilidad in vitro al quitosán, se observó que para el caso de *Rhizopus stolonifer*, el quitosán no afecta en el desarrollo de éste hongo a concentraciones de 0.1 - 0.2% p/v y a concentraciones de 0.3-0.5% si, viéndose reflejado en la disminución del crecimiento radial de la colonia así como en el desarrollo aéreo de la hifa, pero aún así el hongo continúa su desarrollo e incluso hasta la producción de esporas. En dicho caso, podríamos suponer que el hongo desarrolla una especie de defensa que podría ser la producción de quitosananas. Pero a concentraciones 0.6-0.7% p/v se observó una inhibición mayor que en las concentraciones anteriores ya que no solo se redució notablemente el desarrollo radial de la colonia sino que también de la hifa y cuando se realizaron observaciones con ayuda de microcultivos existió esporangio pero sin presencia aparente de cuerpos fructíferos (esporas) aún a los 10 días de incubación.

El efecto fungicida esperado del quitosán sobre *Rhizopus* comenzó a darse a la concentración de 0.8% p/v, es entonces que ya se podría decir que un 99% de la colonia ha sido inhibida, ya que sólo se logró observar la presencia reducida en el crecimiento radial de la colonia y aéreo de la hifa pero, sin desarrollo de esporangio por lo tanto, tampoco de esporas. Por lo que, el

MIC (Mínima concentración inhibitoria) para Rhizopus stolonifer fué de 0.9% p/v ya que a dicha concentración se logra el 100% de la inhibición de dicho hongo.

En lo concerniente a Botrytis cinerea, se presentó algo muy similar, aunque la total inhibición sucedió a concentraciones más bajas, siendo el MIC para este hongo de un valor del 0.4% p/v.

Por lo tanto, se encontró que la concentración que ese utilizaría de quitosán para inhibir el desarrollo de éstos dos hongos sería superior al 0.9% (1% p/v como margen de seguridad) y dicha concentración fué la que se utilizó para la evaluación in vivo.

Actividad 11: Evaluar in vivo la MIC de quitosán sobre fresas infectadas con los hongos en estudio a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

1.- Observaciones de la inoculación de Botrytis cinerea.

a) Temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

Al enfermar los frutos con esta cepa y recubrirlos con la concentración de 1.0 % p/v del estudio in vitro, se encontró que a la temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ el desarrollo miceliar de dicho hongo se vió presente en 2½ días, en 4 días atacó el 30% del fruto y del 7° al 10° día, el ataque se mantuvo en un 60%, en contraste con el control en donde el hongo se aprecia aproximadamente 1½ días y al 5° día atacó el 100% del fruto.

b) Temperatura de 5°C .

Con relación a las fresas inoculadas con quitosán y sometidas a condiciones de refrigeración se pudo apreciar que Botrytis comenzó a desarrollarse aproximadamente al 5° día mientras que el control al 3er. día.

En cuanto al área de ataque, sucedió lo mismo que la actividad a temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ aunque el área atacada fué menor (30 %) y permaneció en tal valor hasta el final de la corrida; no sucediendo lo mismo para el control en donde el fruto fué atacado en un 100% de su área en 6 días.

1 I.- Observaciones de la inoculación de Rhizopus stolonifer

a) Temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$.

Las fresas inoculadas con la cepa Rhizopus stolonifer y cubiertas con quitosán, los primeros síntomas de la enfermedad se dieron al 2do. día y cubrió en un 50% al fruto con el micelio belloso; en un tiempo de 4 días se presentó el desprendimiento de jugos.

Lo anterior le sucedió al control pero en un tiempo de 3 días.

b) Temperatura de 5°C .

En este caso, las fresas con la película presentaron los síntomas característicos de la pudrición blanda; con la presencia del micelio vellosos característico de este hongo y con

desprendimientos de jugos en un tiempo de 5 días después de la inoculación. No sucediendo lo mismo para el control, ya que la enfermedad se desarrolló antes y el micelio cubrió el fruto en 4 ½ días presentándose también el colapsamiento del fruto. (el hongo cubrió el 100% del fruto).

Apoyándonos con los resultados de los frutos inoculados pero sin recubrir con la película de quitosán (fresas control) se puede decir que dichos hongos se desarrollan rápidamente y con facilidad tanto a temperatura ambiente como a condiciones de refrigeración (aunque de forma un tanto lenta) lo que haría difícil su control y principalmente porque se presentarían en frutos maduros ya cosechados y a almacenados.

Con relación a los frutos inoculados y cubiertos con la película, ésta solo logró detener por unos días el ataque de dichos hongos pero no inhibirlos totalmente. Además se observó que la temperatura de refrigeración ayuda a la película a retardar el desarrollo de dichos hongos. Por lo tanto, la película a la concentración establecida en el estudio in vitro (1.0% p/v) solo ofreció un efecto fungistático y no fungicida.

OBJETIVO 4.

Actividad 12. Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la inhibición de los hongos en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

a) Recubrimiento con 1.0% de quitosán.

Por los resultados obtenidos en la actividad 11, se decidió continuar experimentando con la concentración del estudio in vitro (1% de quitosán) pero en este caso con frutos sin inocular y se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla No. 43 Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1.0% de Quitosán.

Cesta	Condiciones		(% hongos por día.																			
	Temp.	Quitosán	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	5°C	--	0	0	0	0	9	9	17	20	25	28	45	49	81	91	91	100	100	100	100	100
B	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	--	0	10	10	40	50	57	59	60	70	83	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
C	5°C	+	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	9	10	12	15	17	20	22	25	25	25
D	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	+	0	0	0	18	18	20	27	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36

Quitosán: -- : sin quitosán + : con quitosán

A diferencia de la evaluación de la concentración del 1.0% p/v del estudio in vitro, en la cual dió un efecto fungicida en dicha actividad, no ocurrió lo mismo al hacerlo in vivo (inoculando y sin inocular) ya que se presentó un efecto fungistático y éste se observó tanto en la cesta C y D.

En el lote de fresas almacenadas a temperatura de refrigeración y con quitosán (cesta C) se encontró que los frutos presentaron hongos al día 9º en un 9% y días posteriores continuó el ataque hasta un 25% el cual es alcanzado en el día 18 y permaneció constante.

En la cesta D la presencia de hongos se dió en el 4º día, atacando un 18% del lote y permaneciendo constante el daño en un 36% (porcentaje alcanzado desde el 8 al 20º día).

Estos resultados comparados con sus respectivos controles (cesta A y B), en donde el ataque comienzan tempranamente y la invasión continúa hasta el 100% del lote, se puede considerar de importancia el cubrir los frutos con dicha película.

Analizando los resultados se puede observar que la película de quitosán y la temperatura de refrigeración solo lograron frenar el desarrollo fúngico, pero no inhibirlos al 100% como era de esperarse, ya que en cada una de las cestas hubo presencia de frutos con ataque de hongos y ésto es debido a que quizás los hongos están presentes dentro del fruto (intracelularmente) y cuando encuentra las condiciones adecuadas se desarrollan aunque de manera más lenta o bien, esta película de quitosán al 1% no afecta considerablemente a nivel celular al hongo ni a sus funciones vitales.

b) Recubrimiento con 1.2% de quitosán.

En busca del efecto fungicida del quitosán, se aumentó la concentración a 1.2% p/v encontrándose que en la cesta C (temperatura de refrigeración y con quitosán) se logró disminuir y retardar la presencia fúngica hasta un periodo de 13 días (3 días más que la concentración de 1.0%) pero del día 15 en adelante continuó la invasión por hongos pero solo hasta un 10% del lote.

En cuanto a la cesta D (temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ c/quitosán), los hongos se vieron presentes al 4° día (igual que en 1.0% pero en menor porcentaje) y del día 7 hasta el final de la corrida se mantuvo el ataque fúngico hasta un 25% del lote (11% menos que en la concentración del 1%).

En lo referente a los controles (cesta A y B) mantuvieron un comportamiento similar a la concentración del 1.0% como era de esperarse.

Tabla No. 44 Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1.2% de Quitosán .

Condiciones			(% hongos por día.																			
Cesta	Temp.	Quitosán	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	5°C	-	0	0	0	0	6	9	13	17	20	38	38	46	56	70	77	77	100	100	100	100
B	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	-	0	13	17	25	25	46	50	63	77	86	90	100	100	100	100	100	100	100	100	100
C	5°C	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	10	10	10	10	10	10
D	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	+	0	0	0	10	15	17	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25

Quitosán: - : sin quitosán + : con quitosán

c) Recubrimiento con 1.5% de quitosán.

Al aumentar la concentración hasta un 1.5% p/v se obtuvieron resultados de importancia ya que en los frutos de la cesta C (con quitosán y a refrigeración) la presencia de hongos se dieron hasta el 15° día (2 días más tarde que 1.2%) afectando solamente un 7% del lote y se mantuvo así hasta el fin de la corrida.

Haciéndose una comparación con la cesta D (temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$ c/quitosán) pero perteneciente a la concentración del 1.2%, la de 1.5% aparecieron los hongos el mismo día pero el porcentaje se vió reducido considerablemente de un 25% a un 7%.

Tabla No. 45 Porcentaje de hongos presentes en fresas cubiertas con 1.5% de Quitosán .

Cesta	Condiciones		(%) hongos por día.																			
	Temp.	Quitosán	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	5°C	-	0	0	0	0	7	10	16	18	25	36	36	45	77	88	100	100	100	100	100	100
B	23± 2°C	-	0	15	20	20	53	58	58	60	72	80	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
C	5°C	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	7	7
D	23± 2°C	+	0	0	0	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

Quitosán: - : sin quitosán + : con quitosán

Cabe destacar, que tanto en la cesta C como en la D a la concentración de 1.5%, solo se encontró indicios de un micelio blanco aterciopelado sin ceptos y sin la presencia de cuerpos fructíferos, por lo tanto, se desconoce el tipo de hongo.

Con relación a los controles (cesta A y B) éstos mantuvieron también un comportamiento similar a los de las concentraciones anteriores.

Apoyándonos con un análisis estadístico se encontró que en las 3 concentraciones de quitosán experimentadas existió un mismo comportamiento en cuanto si existía diferencia significativa o no entre los tratamientos experimentales.

Lo anterior se presenta resumido en la siguiente tabla.

Tabla No. 46 Diferencia significativa entre los tratamientos.

COMPARACIÓN DE CESTAS	DESCRIPCIÓN	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA
A-B	5°C S/Q - 23± 2°C S/Q	SI
A-C	5°C S/Q - 5°C C/Q	SI
B-D	23± 2°C S/Q - 23± 2°C C/Q	NO
C-D	5°C C/Q - 23± 2°C C/Q	SI

Para valores ver Anexo No. 9

Como se puede observar en las cestas B-D la película de quitosán a temperatura ambiente no tiene efecto alguno sobre el crecimiento de los hongos, pero si a temperatura de refrigeración.

Observando los valores de las tablas contenidas en el anexo 9 el factor temperatura dió un valor negativo, lo que quiere decir que al haber un incremento en la temperatura el desarrollo de los hongos también aumenta y por el contrario, el factor quitosán presentó un valor positivo lo que indica que al haber un incremento en la película de quitosán el desarrollo fúngico se ve disminuido.

Además, se realizó también el análisis estadístico ANOVA y Prueba de Tuckey entre las 3 concentraciones de quitosán a temperatura de refrigeración, ya que la película funciona mejor en cuanto a la inhibición de los hongos y se encontró que no existe diferencia significativa entre las concentraciones de 1.2% y 1.5%, pero si la hay entre la de 1.2% y 1.0%, así como en la comparación entre 1.0 y 1.5% por lo que se deduce que el incremento de la concentración solo tiene efecto significativo sobre el desarrollo de los hongos a concentraciones de 1.0% a 1.2% solo a condiciones de refrigeración.

Actividad 13: Determinar el efecto de la película de quitosán sobre la pérdida fisiológica de peso en fresas almacenadas a $23 \pm 2^\circ\text{C}$ y 5°C .

En ésta actividad se compararon entre si las tres concentraciones que se manejaron en la actividad anterior (1%, 1.2% y 1.5%) para establecer la concentración en la que el fruto sufre menor pérdida de peso. Los resultados se muestran en las siguientes tablas:

a) Comparación entre 1.0% y 1.2%

Tabla No. 47 Comparación del Porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1.0% y 1.2% de quitosán

Cesta	Condiciones		(%) pérdida de peso por día.									
	Temperat.	Quitosán	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
A	5°C	1.0 %	2.773	4.192	6.726	10.043	14.463	18.686	22.634	26.305	29.242	32.253
B	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.0 %	27.92	53.45	74.26	86.18	91.97	97.01	98.01	98.21	98.21	98.21
C	5°C	1.2 %	4.798	6.683	9.283	12.818	17.139	21.409	25.42	29.395	31.786	34.932
D	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.2 %	28.39	53.99	74.60	86.76	92.51	98.08	98.20	98.31	98.31	98.31

b) Comparación entre 1.2% y 1.5%

Tabla No. 48 Comparación del Porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1.2 y 1.5% de quitosán

Cesta	Condiciones		(%) pérdida de peso por día.									
	Temperat.	Quitosán	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
A	5°C	1.2 %	4.798	6.683	9.283	12.818	17.139	21.409	25.42	29.395	31.786	34.932
B	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.2 %	28.39	53.99	74.60	86.76	92.51	98.08	98.20	98.31	98.31	98.31
C	5°C	1.5 %	9.156	10.96	13.82	17.457	21.602	26.024	30.109	33.522	36.569	40.426
D	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.5 %	28.59	54.62	75.00	87.22	93.10	98.70	98.71	98.71	98.71	98.71

c) Comparación entre 1.0% y 1.5%

Tabla No. 49 Comparación del Porcentaje de pérdida de peso entre las concentraciones de 1.0 y 1.5% de quitosán.

Cesta	Condiciones		(%) pérdida de peso por día.									
	Temperat.	Quitosán	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
A	5°C	1.0 %	2.773	4.192	6.726	10.043	14.463	18.686	22.634	26.305	29.242	32.253
B	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.0 %	27.92	53.45	74.26	86.18	91.97	97.01	98.01	98.21	98.21	98.21
C	5°C	1.5 %	9.156	10.96	13.82	17.457	21.602	26.024	30.109	33.522	36.569	40.426
D	$23 \pm 2^\circ\text{C}$	1.5 %	28.59	54.62	75.00	87.22	93.10	98.70	98.71	98.71	98.71	98.71

De acuerdo con el análisis estadístico, se encontró que en las tres concentraciones de quitosán experimentadas existió un mismo comportamiento en cuanto a las diferencias significativas entre los tratamientos experimentales (ver anexo 9). Al observar la F calculada (F_c) con la F de tablas (F_t) para las tres comparaciones de las diferentes concentraciones - temperaturas, se encontró que la temperatura y la concentración de quitosán si tienen efecto sobre la pérdida de

peso, de las cuales, la temperatura tiene el mayor efecto sobre la pérdida de peso (es altamente significativa). Además, estadísticamente éstos factores presentaron valores positivos, indicándonos que al incrementar tanto la temperatura como la concentración de quitosán se presenta un incremento en la pérdida de peso por parte del fruto

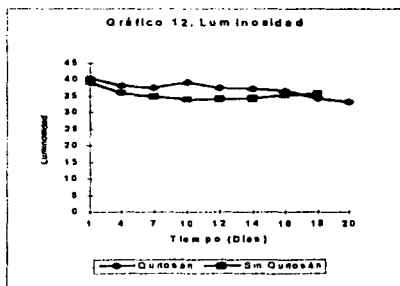
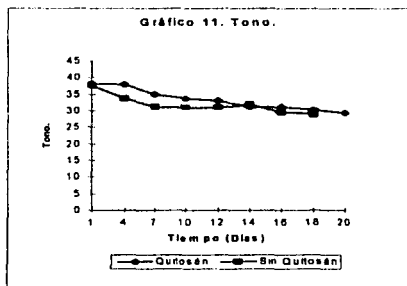
Al aplicarse la Prueba DMSH a los 3 casos se observó que las medias muestrales son significativamente diferentes, excepto en la comparación de las medias de B-D en donde no existe.

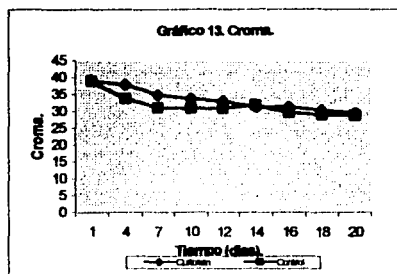
Por lo tanto, basándonos en los resultados de pérdida de peso y disminución de ataque fúngico obtenidos en las 3 concentraciones y de las 2 temperaturas experimentadas, se decidió trabajar con la concentración de 1.2% y a temperatura de refrigeración (5°C) ya que son las condiciones más adecuadas para la fresa.

Objetivo 5. Evaluación de los parámetros de calidad y madurez en la fresa cubierta con quitosán a la concentración establecida y almacenada a 5°C.

**a) Parámetros Físicos
Color (Tono, Croma y Luminosidad).**

El color de las frutas se debe a los pigmentos localizados en los plastos, vacuolas y el líquido citoplasmático de las células. El pigmento encargado de darle el color rojo a la fresa son las antocianinas (pelargonidinas). Estos pigmentos sufren durante la maduración considerables modificaciones que provocan un cambio en el color del fruto, debido a cambios en el pH. El color esta expresado por tres parámetros: Tono, Luminosidad y Croma. Los valores de color tomados como Tono, Luminosidad y Croma después de 20 días de almacenamiento se expresan en los siguientes gráficos:





De acuerdo con los gráficos y ratificado mediante el estadístico ANOVA, se encontró que la película de quitosán no tiene efecto alguno sobre la retención de color en el fruto, ya que tanto el grupo en estudio como el grupo control presentaron el mismo comportamiento, el cual nos muestra un cambio en los parámetros de color conforme transcurre el tiempo de almacenamiento.

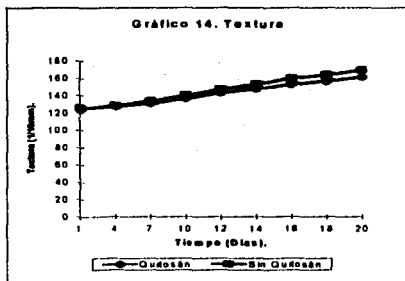
El tono, que corresponde al nombre del color, cambia del rojo naranja característico a un rojo intenso propio de la maduración del fruto, distinguido por un decremento en los valores de los parámetros del color. La luminosidad, que nos indica que tan claro u oscuro es un cuerpo, disminuye haciendo que el fruto pase de un color claro a uno más oscuro. El Cromo, que es la pureza del color, también se ve disminuido provocando que el color del fruto vaya perdiendo pureza o saturación.

Textura.

Cuando un fruto es cosechado éste continúa con su actividad fisiológica (madurez) y un parámetro importante dentro de éste proceso es la textura, la cual cambia debido a que las sustancias pécticas presentes en el fruto se modifican durante la maduración. La protopectina insoluble se transforma a pectina soluble y ésta posteriormente se dematoxila y polimeriza debido a la síntesis de pectinasas, dichos cambios ocasionan que se pierdan las fuerzas de cohesión intermoleculares en el tejido y motivan al ablandamiento del fruto reduciéndose así su dureza. (Durán, Cheftel y Fennema).

También es importante dentro de los Parámetros de Calidad, ya que entre más firme sea, más resistente se hace al ataque microbiano así como al daño mecánico durante el transporte y la distribución.

Los valores de textura obtenidos se muestran en el gráfico siguiente:



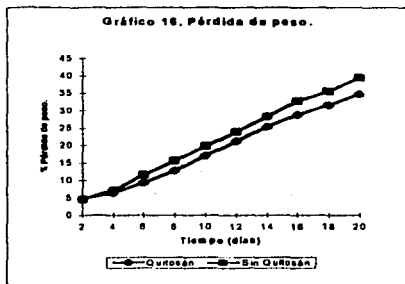
Realizando el ANOVA como apoyo estadístico, se demostró que no existe diferencia significativa entre el grupo control y el experimental ya que tanto la textura de las fresas cubiertas con quitosán al 1.2% y almacenadas a 5°C como las del control (sin quitosán) presentaron la misma tendencia: aumenta conforme avanza la maduración, por lo que en ambos casos se observa que el fruto se hace más blando a medida que transcurre su almacenamiento, permitiendo por lo tanto, que este sea más fácilmente penetrado por el cono del penetrómetro.

Pérdida de peso.

Con relación a la Pérdida fisiológica de peso se encontró que el lote de fresas cubiertas con quitosán y las del grupo control presentaron el mismo comportamiento: conforme el fruto madura aumenta la pérdida de peso por la transpiración del fruto y esto es debido a que el fruto continúa respirando y oxidando sus carbohidratos (Cheffel, 1983).

Se llegó a esta conclusión por medio del estadístico ANOVA el cual nos demostró que no existió diferencia significativa entre las fresas recubiertas con quitosán y las del control, concluyéndose que la película no afecta el proceso fisiológico del fruto.

El comportamiento de la pérdida de peso se muestra a continuación:



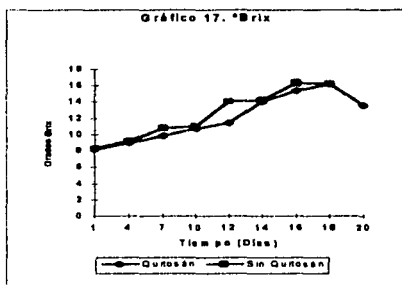
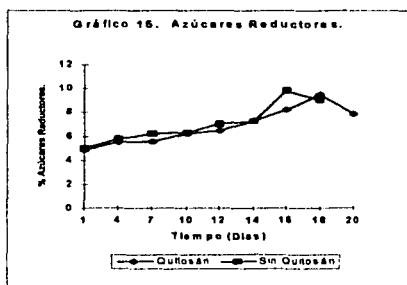
b) Parámetros Químicos.

Azúcares Reductores Directos y Sólidos solubles.

El contenido de almidón disminuye conforme madura el fruto y se transforma en azúcares. A medida que avanza el proceso de la maduración, los azúcares complejos se transforman en simples, mientras que los ácidos se esterifican, es por lo anterior, que en el fruto va desapareciendo la astringencia y el sabor agrio por un sabor dulce. (Durán, Chefel y Fennema).

Los gráficos del % Azúcares reductores directos y °Brix demostraron que tanto las fresas del lote control como las recubiertas con la película de quitosán presentaron un aumento en sus valores conforme van madurando los frutos.

Cuando se realizó la prueba de ANOVA se encontró al igual que en los demás parámetros la no existencia de diferencia significativa entre el control y el lote experimental. Por lo que se concluye que el recubrimiento de quitosán no tiene efecto alguno sobre estos parámetros haciendo que los frutos vayan adquiriendo un mayor dulzor.

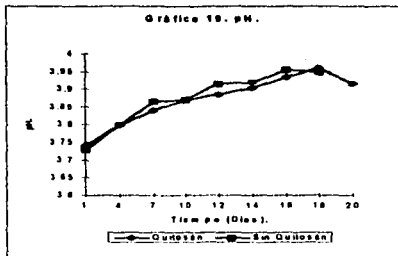
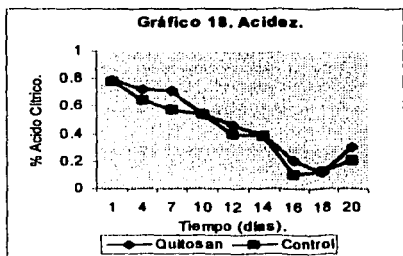


c) Parámetros fisicoquímicos.

Acidez y pH.

Al ir madurando un fruto, se presenta la hidrólisis de los azúcares y hay un aumento en el dulzor de los frutos y a la par una disminución en la acidez así como un aumento en el pH (Durán, 1993).

Lo anterior se presentó en la fresa cubierta con la película de quitosán al 1.2% así como en el control; además se encontró que tampoco existió diferencia significativa entre ellos. Por consecuencia, el fruto va adquiriendo un mayor endulzamiento.



Por lo tanto, en éste último objetivo los resultados demostraron que la película de quitosán al 1.2% no alteró el proceso de madurez de la fresa ya que maduraron de igual forma que el grupo control, prosiguiendo así su metabolismo de manera normal, además, tampoco ofreció un efecto benéfico o conservador sobre los parámetros de calidad durante los 20 días de almacenamiento refrigerado a 5°C, sin embargo, a pesar de esto, la película de quitosán puede ser considerada como una alternativa para alargar la vida útil de la fresa debido al efecto fungistático que otorgó sobre el control de la pudrición.

CONCLUSIONES GENERALES

1. La metodología planteada en el objetivo 1 puede ser considerada para completar la Norma de Calidad de la fresa ya que en ésta al igual que para otros frutos solo se hacen mención y se apoyan en parámetros visuales y no cuantitativos del color, textura, acidez, °Brix, humedad, etc. así como de los sensoriales.
2. Se concluyó que el mejor estado de madurez de la fresa para ser recubierta fue el V, ya que en ese grado se encontraron el 55.13% de las fresas; además éstas presentaron las mejores características de calidad de acuerdo a la NOM y de maduración en base al resto de los grupos clasificados según la metodología planteada.
3. Se logró la identificación de Botrytis cinerea y Rhizopus stolonifer, causantes de la pudrición seca y blanda respectivamente. Dichos hongos son de gran importancia ya que se observó que atacaron a la fresa en su etapa madura tanto a condiciones ambientales como de refrigeración. Cabe mencionar que en el caso de Botrytis cinerea tanto el aislamiento como la identificación fueron laboriosos y difíciles de realizar ya que dicho hongo creció a la par con otros hongos.
4. Al realizar el estudio in vitro con el polímero de quitosán en donde se evaluaron diferentes concentraciones (0.1 a 1.0% y 1.5%) se observó un efecto fungicida sobre el desarrollo de Botrytis cinerea a una concentración del 0.4% p/v y para Rhizopus stolonifer del 0.9 % p/v; decidiéndose como margen de seguridad una concentración del 1% para formar la película y probarla in vivo.
5. Al probar la película del 1% in vivo pero inoculando a los frutos con las 2 cepas, se encontró que tanto a condiciones de refrigeración como ambientales los hongos logran desarrollarse pero no llegan a atacar al fruto al 100% de su área como sucede en el control (sin quitosán).
6. Un estudio in vitro con el polímero de quitosán solo sirvió como un dato de apoyo y tener una idea de con cual concentración se puede comenzar a formar la película y experimentar in vivo, pero no resultó ser la definitiva ya que al evaluarla in vivo solo ofreció un efecto fungistático por lo tanto, fue necesario aumentar la concentración del 1% a 1.2 y 1.5% p/v para casi eliminar el desarrollo de los hongos.
7. En las 3 concentraciones utilizadas bajo a condiciones de refrigeración, se observó que la película de quitosán ofreció un mejor efecto sobre la inhibición del desarrollo fúngico y fue más significativa que a condiciones ambientales.
8. Al realizar la medición de la pérdida de peso con la película se encontró que al aumentar la concentración (1% → 1.2% → 1.5%) aumenta la pérdida de peso por lo que se concluye que la película puede ofrecer una cierta permeabilidad a los gases (CO₂ y O₂) pero no ofrece una barrera para el vapor de agua proveniente del fruto.

9. La concentración del 1.2% fue la más adecuada para medir los parámetros físicos y fisicoquímicos en comparación con las de 1% y 1.5%, debido que a esta concentración se retardó y se disminuyó el ataque fúngico aunado a una menor pérdida de peso. Sin embargo, cabe mencionar que la concentración del 1.2% solo confiere un efecto fungistático, mientras que para el 1.5 % se logró casi inhibir los hongos en un 90%.
10. Al no tener la fresa una capa cerosa; la película de quitosán se adhiere adecuadamente al fruto tanto a concentraciones de 1%, 1.2% y 1.5%.
11. Para lograr un mejor efecto sobre la vida útil y apariencia de la fresa con la película fue necesario someterla a condiciones de refrigeración (5°C).
12. Los resultados obtenidos indican que las fresas recubiertas con la película de quitosán al 1.2% y almacenadas a una temperatura de refrigeración de 5°C no afectó significativamente a los parámetros de calidad así como no alteró el proceso de maduración del fruto pero, logró frenar el desarrollo fúngico por un periodo de 8 días más en contraste con el control en donde la presencia de los hongos comienza al 5° día; lográndose alargar la vida útil de la fresa.
13. Lo anterior es de importancia ya que la fresa es un fruto no climatérico, muy perecedero debido a que se encuentra en contacto directo con el suelo, presenta una alta tasa respiratoria y no cuenta con una cáscara que la proteja.

BIBLIOGRAFIA.

1. Abers J.E., Causative factors of color deterioration in strawberry preserves, *Journal of Food Science* Vol.44 No.1 1979.
2. Agrios George, *Fitopatología*, Limusa, México, 1995, 350pp.
3. Alsina Grau, *Fresas y Fresones*, Editorial Síntesis, 8 ed., Barcelona,España, 1989, pág.10-25.
4. Alexopoulos, *Introducción a la micología*, Miley & Sons, Inc. New York-London, Japan, 1962, págs. 186-201.
5. AOAC, *Official Methods of Analysis*,USA, 15ª edición 1990, pág.910-928.
6. Arana E. Ramón, *Atmósferas controladas para la conservación de frutas y verduras*, *Tecnología de Alimentos*, No. 3, Vol. 7, 1972, págs. 118-125.
7. Austin P., Brine C., *Chitin: New Facets of Reserch in Scince*, 1981, Vol. 39, No. 3, págs. 281.
8. Bai Ru- Ke, et al. Selective permeabilities of chitosan-acetic acid complex membrane and chitosan-polimer complex membranes for oxygen an carbon dioxide, *Polymer Bolletin*, No. 20, 1988, págs. 83-88.
9. Badui, *Química de los alimentos*, Alhambra Mexicana, México, 1981, 430pp.
10. Billmeyer Fred, *Principles of Color Technology*, Interscience Publisher, New York 1968.
11. Boreau, et al. *Embalaje de los alimentos de gran consumo*, Acribia, España, 1995, 203pp.
12. Breach, *Manual de Tecnología bacteriológica*, 2º ed., Acribia, España, 1970, 340pp.
13. Butler, et al, *Mechanical and Barrier Properties of edibles chitosan films as affested by composition and storage*, *Journal of food scince*, Vol. 61, 1996, pag. 995.
14. Calderón Alcaraz, *Fruticultura General*, LIMUSA; México, 1886, 102 pp.
15. Casas Alencaster Norma , *Textura de Alimentos*, Curso: *Medición de Textura en Alimentos con Máquina Universal de Deformación (Texturometro)*, Sección LEM, Agosto 4-8 1997.
16. Childers Normas, *The strawberry*, Gainesville, USA,Florida, Horticultural Publications,1981, págs. 53-60.

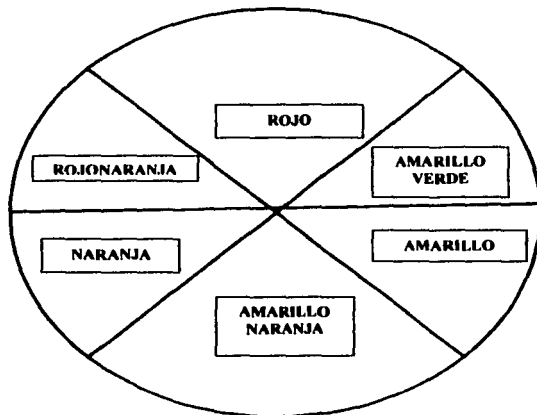
17. Cheftel J. C., *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos*, Ed. Acribia Vol. 2, Zaragoza 1983, pág. 31-46.
18. Cruz Rojas, *Determinación de Hongos fitopatógenos en la fresa*, IPN, ENCB, 1976, 103 pp.
19. Dale Adam, *The strawberry in to the quality*, Timber press, USA 1991, pág. 145-150.
20. Daniel E., *Bioestadística*, Editorial Alhambra, Buenos Aires Argentina 1991, pág. 91-105.
21. Durán F., *Frigoconservación de la fruta*, Editorial Acribia, España 1993, pág.18-40.
22. El Ghaouth, A., *Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits*. *Phytopatology*, 1992, vol.82, No. 4, págs 398-402. El Ghaouth, A., Arul, J. *Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries*. *Journal of Food Science*, 1991, vol.56, pp. 1618-1631.
23. Egan Harold, *Análisis Químico de los Alimentos de Pearson*, Editorial Continental, México 1993, pág.150-161.
24. Fennema Owen, *Introducción a la Ciencia de los Alimentos*, Vol. 2, Reverté, España, 1985, 918pp.
25. Gallegos González, *Manejo de cosecha y postcosecha para la comercialización de frutas y hortalizas en fresco*, J.A. UNAM, FESC, 1997, 189 pp.
26. García Martínez Luz, *Con los desechos de camarón es posible producir insecticida biológico*, I.P.N, Investigación Hoy, Mayo, 1993, págs. 10-13.
27. Giese James, *Measuring Physical Propierties of Foods*, *Food Technology*, 1995, Vol.49 No.2, págs. 107 115.
28. Greengrass J. *Films for Map of foods*, Blackie Academic & Professional, Great Britain, 1993, 224 pp.
29. Elhaid M.J., *Fisiología y Tecnología postcosecha de productos hortícolas*, De. Limusa, México, 1992, pp.301.
30. Estrada R., *Fisiología de los Frutos, Tecnología de Alimentos*, Marzo-Abril 1973, Vol. 8 No. 2, pág.75-87.
31. Grete Skrede, *Color stability of strawberry and Black curront syrups*, *Journal of Food Science* Vol.57 No.1, 1992, pág.1070-1076.
32. Grete Skrede, *Strawberry varieties for industrial jam production*, *Journal Science Food Agriculture*, Vol.31 1980, pág.670-678.

33. Hart F., Análisis moderno de los Alimentos, Editorial Acribia, España 1993, pág.283-295.
34. Hayer, Microbiología de los alimentos, Acribia, España, 1984. pp 198.
35. Hernández R., Apuntes de Probabilidad y Estadística, Publicación de la Sociedad Mexicana de Matemáticas, México 1991,pág.1-10.
36. Kader, Índice de madurez, factores de calidad, Normalización e Inspección de cultivos, Memoria sobre fisiología postcosecha, Hermosillo, Sonora, 1992.
37. Knorr Dietrich, Recober and Utilization of Chitin and Chitosan in food Processing Wasted Managment, Food Technology, January, 1991, págs. 122.
38. Knorr Dietrich, Use of chitinoous polymers in food. Food Technology, January, 1984, Vol. 38, No.1, págs. 85-96.
39. Konemano Robert, Micología Práctica de Laboratorio, Panamericana, Argentina, 1992, p. 142 pp.,
40. López Galarza, Producción de fresas y fresones, Agroguias mundi-prensa, España, 1988,
41. López L., Calidad de la piña tropical presente en el mercado, Alimentaria , Mayo 1996, pág.59-64.
42. LAPRYFAL, Manual del Color, UNAM, FES Cuauautlan, 1993.
43. Little C. Angela, Colorimetry of Anthocyanin Pigmented Products, Journal of Food Science, Vol.42 No.6 1977, págs. 1571-1574.
44. Marutu J.V., Producción de fresas y fresones, Editorial Agroguias mundi-prensa, Madrid España 1988, pág.25-40.
45. Maas, Compendium of strawberry diseases. American Phitopatology, U.S.A, 1984, págs. 56-62.
46. Mendoza Zamora, Principales enfermedades fungosas y control químico de la cenicilla de la fresa, UACH, 1987, 110 pp.
47. Mendoza Zamora, Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos, UACH, Parasitología Agrícola, 1983, 134 pp.
48. Paredes López O, Películas protectoras para conservar frutos, Tecnología de Alimentos, No. 2, Vol. 9,1974, págs. 68-75.

49. Pearson David, *Técnicas de Laboratorio para análisis de Alimentos*, Editorial Mc Graw Hill, USA 1994, pág.270-277.
50. PUAL, *Curso Teórico - Práctico: Interacción y compatibilidad de envase - producto alimenticio*, UNAM, Mayo, 1997, 220pp.
51. Rawls Rebecca, *Projects brighten for converting chitin wastes to valuable products*, Chem. J. Eco. News, 1984, vol. 62, No. 20, pág. 42.
52. Rosen C., *Postharvest Physiology and Quality Maintenance of Sliced Pear and Strawberry Fruits*, Journal of Food Science, Vol.54 No.3, 1989, págs. 656-659.
53. San Roman, *Atmosferas Modificadas una alternativa para la conservación de frutas y hortalizas frescas*, UNAM, FESC, 1997, 110 pp.
54. SARH, *Folleto 1, Celaya - Guanajuato*, 42pp.
55. SARH, *Norma Oficial Mexicana para la fresa*, 1987.
56. SARH, *Programa Nacional Agrícola*, 1999.
57. Schmith George, *Introducción a la Micología Industrial*, Acribia, España, 1974, pp 125.
58. Sighr Paul, et al, *Minimal Processing of foods and oprocess optimization*, C:P:C, Usa, 1994, 110 pp.
59. Skrede Grete, *Journal Science Food Agriculture*, Vol.31, 1980, págs. 670-676.
60. Spayd S. E., *Influence of Immature Fruits on Strawberry Jam Quality and Storage Stability*, Journal of Food Science, Vol.46, 1981, págs. 414-419.
61. Sudarshan Hoover y Knorr, *Antibacterial Action of chitosan*, Food Biotechnologie, No.3 , Vol. 16, 1992, págs. 257-272.
62. Wills Lee, *Postharvest*, South China Printing Co., Australia 1981, pág 83-97.
63. Wong Dominicws, et al. *Chitosan - Lipid Films: Microstructure and Suerfece Energy*, Journal Agriculture Food Chemistry, Vol. 40, 1992, pág. 544.

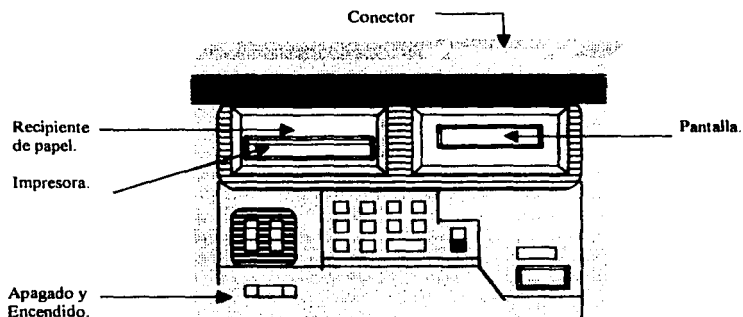
ANEXOS.

ANEXO 1. Tabla Cromática de Color.

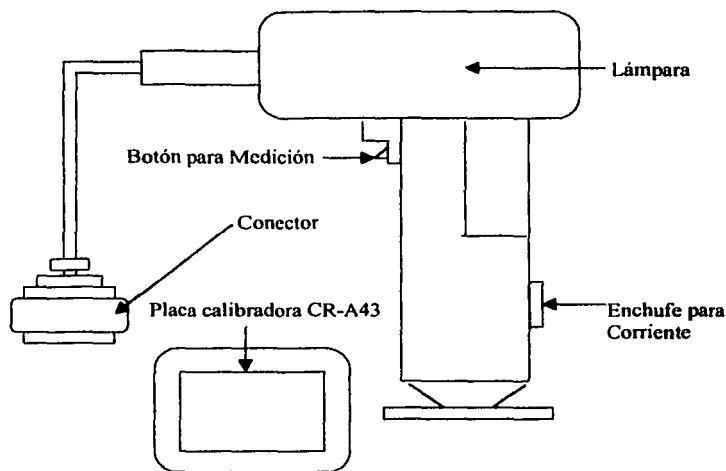


ANEXO 2. Colorímetro Minolta.

Procesador de Datos DP-301.



Colorímetro Minolta CR-300 (Cabeza sensora).



Descripción del equipo.

El colorímetro Minolta CR-300 es un analizador de color compacto para la medición de colores reflejados o de superficies. El colorímetro consta de una cabeza sensora y un procesador de datos DP-301. La cabeza sensora del colorímetro tiene un espacio circular de 8mm de diámetro para tomar la lectura y utiliza iluminación difusa y 0° de ángulo de observación para obtener medidas precisas sobre una gran variedad de objetos.

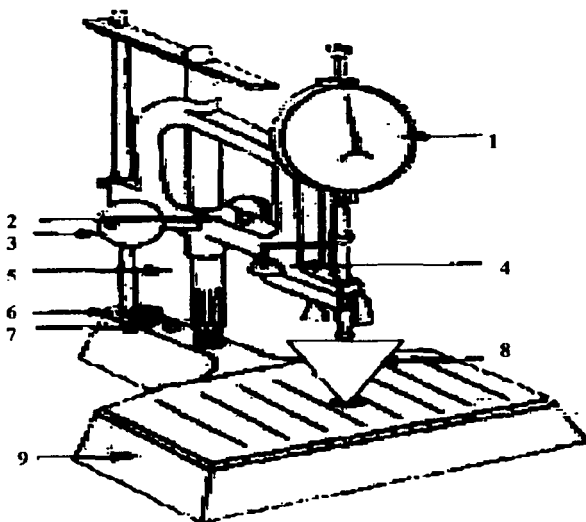
Una lámpara de xenon estimulada desde una cámara de mezclado provee la iluminación requerida sobre la superficie de la muestra. Seis fotoceldas de silicón de alta sensibilidad filtran la respuesta estándar de observación y que permiten que cualquier desviación en la luz exterior sea detectada y automáticamente compensada por la lámpara.

El procesador de datos ofrece diferentes funciones para aumentar la comodidad y versatilidad de sus uso. Hasta 300 mediciones pueden ser almacenadas en memoria y la memoria puede dividirse hasta en 20 páginas, cada medida es automáticamente almacenada al momento de tomarse. Los datos pueden imprimirse al mismo tiempo que se van tomando, en todos los sistemas de color, como son mostrados en pantalla o desde la memoria algún tiempo después. Los datos también pueden conectarse a una computadora si se requiere y el colorímetro puede ser operado a control remoto. El procesador de datos también incluye un cronómetro para mediciones automáticas a intervalos de tiempos seleccionados.

Procedimiento de uso:

1. Encender el dispositivo con el botón POWER (on).
2. Calibrar el colorímetro para cada nueva sesión. Se calibra con el placa de calibración CR-A43 con el que dispone el equipo (valores Y,x,y).
3. Presionar TARGET COLOR SET. La línea superior de la pantalla aparecerá por alrededor de 5 segundos y luego cambiará a la pantalla inferior.
4. Presionar COLOR SPACE SELECT para elegir el espacio de color seleccionado.
5. Colocar la cabeza sensora sobre la superficie del objetivo.
6. Presionar MEASURE o el botón de cabeza sensora después de que la lámpara esté encendida, aparecerá un mensaje de medición en pantalla y pocos segundos después el mensaje "END".
7. Borrar los datos de la memoria con ALL DATA CLEAR.
8. Apagar el equipo con POWER (off).
9. Limpiar la cabeza sensora con un paño limpio.

ANEXO 3. Penetrómetro Humboldt.



Partes del penetrómetro.

1. Indicador de penetración.
2. Tornillo para detener el punzón.
3. Tornillo para fijar el brazo.
4. Brazo con base para el indicador de carátula.
5. Brazo para subir y bajar el punzón.
6. Pesas.
7. Nivel.
8. Punzón de acero inoxidable.
9. Base del penetrómetro.

ANEXO 4. Técnicas de Cuantificación de los parámetros químicos y fisicoquímicos

4.1. Determinación de Humedad por Bidwell-Sterling.

Fundamento. Mide el volumen de agua liberada por las muestras durante su destilación continua, con un disolvente inmiscible, en donde este posee un punto de ebullición elevado y una densidad menor que la del agua por lo que se forma una mezcla azeotrópica. El agua se recoge en un colector especialmente diseñado con una sección graduada en la que se separa del disolvente y se mide; el disolvente retorna por rebosamiento al matraz de destilación.

Material.

- Trampa de humedad.
- Refrigerante.
- Mantilla de calentamiento.
- Matraz de bola.
- Mangueras.
- Papel filtro y aluminio

Reactivos.

Tolueno

Equipo

- Parrilla eléctrica.
- Balanza analítica.
- Termostato.

Desarrollo de la técnica.

Se pesan 5 gramos de muestra, se envuelven primero en papel filtro y luego en aluminio al cual se le hacen unos pequeños orificios con una aguja para que la humedad pueda salir. Esta se pone en un matraz de bola y se le agrega tolueno hasta cubrir la muestra, colocándose posteriormente sobre la mantilla de calentamiento para efectuar la destilación de la muestra.

Cálculos.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{ml de agua en la trampa}}{\text{gramos de muestra}} \times 100$$

4.2. Sólidos Solubles por Refractometría.

Fundamento. Con ésta técnica se mide la desviación de la luz provocada por la presencia de partículas en suspensión, tomándose como referencia el agua cuyo índice de refracción es 1.333.

Material Equipo.

- Termometro
- Algodón y papel higiénico.
- Refractómetro.

Procedimiento.

Calibrar el refractómetro con agua destilada a un índice de refracción de 1.33333, colocar una gota de la muestra ya preparada evitando la formación de burbujas en los prismas del equipo para efectuar la lectura en la escala de grados Brix.

4.3. Azúcares reductores por Lane y Eynon.

Fundamento. La determinación de carbohidratos se basa en la reacción de reducción de cobre por medio del empleo de soluciones alcalinas de cobre que son reducidas por los azúcares presentes en el alimento, pasando de óxido cúprico (Cu^{+2}) a óxido cuproso (Cu^{+1}); en el que se observa un precipitado de color rojo ladrillo.

Material y Equipo.

- Papel filtro.
- Matraz erlenmeyer de 125ml.
- Baño Maria.
- Pipetas volumétricas de 5ml.
- Parrilla eléctrica con agitación
- Agitador magnético
- Matraces erlenmeyer

Reactivos

- Oxalato de sodio.
- Solución de Fehling A y B.
- Solución saturada de $\text{Pb}(\text{OAc})_2$
- Solución de sacarosa al 1%.

Preparación de los Fehling.

Fehling A (Sulfato de cobre). Disolver 34.629g de sulfato de cobre en agua y diluirlo a 500ml, y filtrar.

Fehling B.(Solución alcalina de Tartrato). Disolver 173g de tartrato de sodio y potasio (sal de Rochelle) y 50g de NaOH en agua, diluir a 500ml, dejar reposar 2 días, y filtrar.

Procedimiento.

- Se estandarizan las soluciones de Fehling A y B mediante una solución de sacarosa al 1% con la finalidad de encontrar el factor de Fehling. Para esto, a la solución de sacarosa se le añade HCl (5ml) y se deja reposar por 3 días a 20-25°C ó bien aproximadamente 7 días a 12-15°C (la solución acidificada es estable por algunos meses), después se neutraliza con NaOH 1N. Una vez neutralizada, se valora con las soluciones de Fehling (5ml A + 5ml B) debiendo

presentar un gasto entre 15 y 50ml para determinar el valor del factor en tablas (en el caso de que el gasto sea mayor de 50ml la solución se concentra y si el gasto es menor a 15, se diluye)

- Se pesan de 6-10 gramos de muestra, se disuelven en agua destilada y se afora a 100ml en un matraz aforado.

- Se filtra y se clarifica agregando subacetato de plomo (1.0 gramos) como agente defecante de materiales pesados, y posteriormente se neutraliza con oxalato de sodio (0.5 gramos). En dado caso que la muestra aún presente color se agrega carbón activado.

- Para el cálculo de los Azúcares reductores directos, de la muestra resultante del paso anterior se toman 50ml y se vierten a la bureta, se titulan con la solución de Fehling.(5ml A + 5ml B).

- Para el caso de los Azúcares reductores totales, se toman 50 ml de la solución clarificada y se hidroliza con 5ml de HCl concentrado calentándose por 5 minutos a 65°C en baño María. Posteriormente se deja enfriar y se neutraliza con NaOH al 40%; después se llena la bureta con ésta solución para llevar a cabo la titulación con la solución de Fehling.

Nota: Antes de comenzar la titulación de las muestras con la solución de Fehling, ésta última se calienta durante un minuto y medio con agitación. La titulación finaliza cuando aparece un precipitado rojo ladrillo.

Cálculos:

mg de muestra (con o sin hidrolizar) = $Ff \times 100 / ml$

ARD= $\frac{\% \text{ de muestra sin hidrolizar}}{\% \text{ de la disolución de la muestra}}$

ART= $\frac{\% \text{ de muestra hidrolizada}}{\% \text{ de la disolución de la muestra}}$

Donde:

ARD=Azúcares reductores directos.

ART=Azúcares reductores totales.

Ff=Factor de Fehling.

4.4. Acidez titulable por Método Volumétrico.

Material y Equipo.

- Mortero.
- Bureta graduada de 50ml.
- Pipetas volumétricas de 20ml.
- Matrazes erlenmeyer de 50ml.
- Papel filtro
- Embudo bugner
- Bomba de vacío
- Parrilla eléctrica con agitación
- Balanza analítica

Reactivos.

- NaOH 0.1N.
- Bifalato de potasio 0.1N.
- Fenofaleína.
- Carbón activado.

Procedimiento.

- 1.- Pesar 20g de fresa, macerar perfectamente con agua destilada, pasar cualitativamente a un matraz aforado de 100ml, aforar y homogeneizar.
- 2.- Dejar sedimentar durante 15 minutos y filtrar a través de lana de vidrio o algodón hasta obtener un filtrado cristalino.
- 3.- Clarificar con carbón activado a temperatura ambiente, y volver a filtrar.
- 4.- Tomar una alicouta de 20ml, titular con NaOH 0.1N en presencia de fenofaleina.

Cálculos:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{\text{g x N x meq. Ac. predominante x V x 100}}{\text{m x a}}$$

Donde:

g = ml gastados.

N = normalidad de la solución de NaOH.

meq = miliequivalentes del ácido predominante.

V = volumen de aforado.

m = g de la muestra.

a = alicouta.

Nota: El porcentaje de acidez se expresa de acuerdo al ácido predominante en el alimento, por lo que el porcentaje de acidez será expresado como ácido cítrico.

4.5. Determinación de pH.

Material y Equipo.

- Termómetro.
- Algodón.
- Pizeta
- Vasos de precipitados de 50ml
- Soluciones buffers
- Potenciometro.

Procedimiento.

- 1.- Pesar 10g de muestra y agitar con 10ml de agua destilada hervida y fría, a 25°C hasta obtener una suspensión homogénea.
- 2.- Macerar durante 30 minutos, decantar y filtrar, llevar el líquido a un vaso de precipitados y medir el pH por medio del potenciometro una vez ya calibrado con las soluciones buffers.

ANEXO 5. Preparación de los medios de cultivo.

Material y Equipo:

Balanza
Autoclave
Parrilla con agitación
Cajas petri estériles
Espátula

Reactivos:

Agua destilada
Agar de papa dextrosa
Agar sabauraud

Procedimiento:

Agar de papa dextrosa (A.P.D)

- a) pesar 39gr para 1000ml de medio.
- b) agitar hasta que se disuelva.
- c) dejarlo hervir por 1 minuto (con agitación).
- d) esterilizar el medio en autoclave por un tiempo de 10 - 15 minutos a 1.3 Pa o 125°C.
- e) pasado el tiempo, sacar el matraz y dejarlo enfriar un poco, para luego verter su contenido en cajas petri estériles y enumeradas.
- f) realizar de a) hasta e) para el medio de sabouraud en donde la cantidad es 65gr por litro.

ANEXO 6. Técnica de microcultivo.**Material:**

Microscopio
Triángulos de vidrio
Cubre y portaobjetos
Cajas petri estériles
Bisturi o navaja
Asa
Pinzas

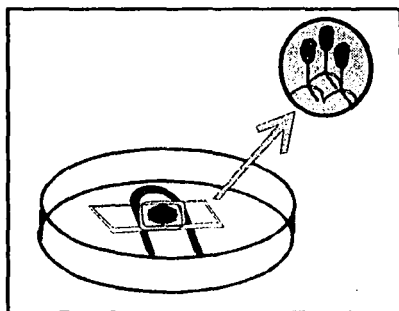
Reactivos:

Agua destilada estéril
Agar de papa dextrosa
Tintura de azul de algodón
Fenol al 10%
Esmalte de uñas incoloro

Procedimiento:

- 1.- Preparar una placa con 30ml de medio de cultivo.
- 2.- Cortar un cuadro de $\approx 1\text{cm}^2$ con ayuda de un bisturi.
- 3.- Transferir el cuadro a un portaobjetos (centrándolo).
- 4.- Inocular los cuatro ángulos del agar con el hongo en estudio.
- 5.- Colocar encima del medio un cubreobjetos.
- 6.- Esta preparación colocarla encima de un triángulo de vidrio que a su vez está contenido en una caja de petri con agua destilada y cuidar que éste no toque el agua.
- 7.- Incubar a temperatura y monitorear el desarrollo del micelio cada 24 horas. Cuando éste toque las paredes del porta y cubreobjetos, puede realizarse la observación, para lo cual se retira el agua destilada de la caja y se sustituye por fenol al 10% ($\approx 10\text{ml}$), dejar actuar por 1hr.
- 8.- Retirar el cubre con unas pinzas y se obtiene el hongo sobre el porta y cubreobjetos por separado. Adicionar 1 o 2 gotas del colorante azul de algodón en un porta limpio y hacer lo mismo con un cubreobjetos, colocarlos en los hongos respectivamente. Sellar los bordes de los cubreobjetos con esmalte de uñas incoloro.
- 9.- Por último, observar al microscopio, comenzando por el lente de bajo aumento ($10\times$) hasta el objetivo de inmersión.

A veces, resulta necesario aplicar el método de cinta adhesiva transparente, que consiste en recortar un pequeño cuadro de la cinta y se adhiere a la parte terminal del asa; se procede a tocar cuidadosamente la superficie de la colonia, luego se retira la cinta del asa y se añade una gota del colorante azul de algodón (si es necesario); se pone la cinta en un cubreobjetos y se procede a observar al microscopio.



ANEXO 7. Preparación del medios de cultivo Agar de papa-kitosán.

Material:

Balanza granataria
Autoclave
Cajas petri estériles
Espátula

Reactivos:

Agua destilada
Agar bacteriológico
Quitosán
Acido acético concentrado

Procedimiento:

1. Cocer medio kilo de papas en un litro de agua.
2. Para una solución de 0.1% de quitosán, se toman 80ml del hervor de las papa y se le ajusta el pH de 4 a 4.2 con ácido acético concentrado y se dispersa el 0.1gr hasta solubilizarlo. Revisar paulatinamente el pH y ajustarlo al rango si es necesario; en los 19.9 ml restantes adicionar 1.5gr de agar bacteriológico (para gelificar) y adicionarlo a la solución de quitosán . Agitar por 2 minutos, esterilizar por un tiempo de 10-15minutos. Esta solución alcanza para 4 cajas y se realiza de igual manera para las restantes concentraciones.

Anexo No. 8 Formación de la película de quitosán.

1. Pesar en una balanza analítica la cantidad del polímero a la cual se formará la película, por ejemplo: 1.0%
2. En un vaso de presipitados preparar una solución al 0.9% de ácido acético y tomar de dicha solución 99ml.
3. Adicionar el quitosán poco a poco e ir midiendo el pH, el cual debe estar en un rango de 4-4.2. (condiciones de solubilidad) y debe realizarse con agitación.

Nota:

Dependiendo del tamaño de la partícula será el tiempo en que se tarde en solubilizar (hay una relación directamente proporcional).

ANEXO 9. Estadísticos.

I. Parámetros físicos, químicos y fisicoquímicos.

a) Luminosidad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	1874.081	3	624.693	127.696
SC Error	58.706	12	4.892	
SC Total	1932.787	15		

para $\alpha = 0.05$ Ft= 8.74

b) Tono.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	5556.9	3	1852.3	464.23
SC Error	47.92	12	3.99	
SC Total	5604.82	15		

para $\alpha = 0.05$ Ft= 8.74

c) Croma.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	166.565	3	55.52	155.08
SC Error	4.299	12	0.338	
SC Total	170.864	15		

para $\alpha = 0.05$ Ft= 8.74

d) Textura.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	15445.69	3	5148.56	139.07
SC Error	444.25	12	37.02	
SC Total	15889.95	15		

para $\alpha = 0.05$ Ft= 8.74

e) Humedad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	90.07	3	30.02	89.09
SC Error	2.7	8	0.337	
SC Total	92.77	11		

para $\alpha: 0.05$ Ft=4.07**f) Sólidos Solubles.**

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	151.402	3	50.467	72.51
SC Error	8.357	12	0.696	
SC Total	159.76	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 8.74**g) Azúcares Reductores.**

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamiento	4.879	3	1.626	71.315
SC Error	0.188	8	0.0228	
SC Total	5.067	11		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.07**h) Acidez.**

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	0.507	3	0.169	93.88
SC Error	0.022	12	0.0018	
SC Total	0.529	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 8.74**i) pH.**

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	0.242	3	0.0806	122.12
SC Error	0.008	12	0.00066	
SC Total	0.25	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 8.74

Esta tabla de Tuckey es general para todos los tratamientos anteriores:

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH) para la prueba de Tuckey.

COMPARACION DE MEDIAS DE LOS GRADOS DE MADUREZ	SIGNIFICANCIA
II-III	SI
II-V	SI
II-VI	SI
III-V	SI
III-VI	SI
V-VI	SI

Para una DMSH = 4.191

II. Estadístico de % de hongos y Pérdida de peso.

1. Estadístico de % de hongos.

a) Para 1.0%.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
R (Temperatura)	36.125	1	36.125	96.33
S (Quitosán)	21.125	1	21.125	56.33
RS	3.125	4	3.125	8.33
Error	1.2	7	0.375	
Total	61.875			

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	3	SI
A-C	-4.5	SI
A-D	1.0	NO
B-C	-7.5	SI
B-D	-2.0	NO
C-D	5.5	SI

Para una DMSH = 2.494

b) Para 1.2%.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
R (Temperatura)	72.0	1	72.0	288
S (Quitosán)	60.5	1	60.5	242
RS	24.5	1	24.5	98
Error	1.0	4	0.25	
Total	158	7		

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH).

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	2.5	SI
A-C	-9.0	SI
A-D	0.5	NO
B-C	-11.5	SI
B-D	-2.0	NO
C-D	9.5	SI

Para una DMSH = 2.0365

c) Para 1.5%.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
R (Temperatura)	98	1	98	392
S (Quitosán)	60.5	1	60.5	242
RS	24.5	1	24.5	98
Error	1.0	4	0.25	
Total	184	7		

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	3.5	SI
A-C	-9.0	SI
A-D	1.5	NO
B-C	-12.5	SI
B-D	-2.0	NO
C-D	10.5	SI

Realizando una ANOVA entre las 3 concentraciones, se tiene lo siguiente:

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC Tratamientos	34.34	2	17.17	51.56
SC Error	1.0	3	0.333	
SC Total	35.34	5		

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 9.55

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (concentraciones)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	4.5	SI
A-C	5.5	SI
B-C	1.0	NO

Para una DMSH = 2.04: A = 1.0%, B = 1.2%, C = 1.5%

2. Estadístico de Pérdida de peso.

a) Comparando 1.0% con 1.2% .

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
Tratamientos	8788.927	1	8788.927	44165.462
R (Temperatura)	3.207	1	3.207	16.115
S (Quitosán)	3.071	1	3.071	15.432
RS	0.794	4	0.199	
Error		7		
Total				

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	67.05	SI
A-C	2.506	SI
A-D	67.558	SI
B-C	65.024	SI
B-D	0.027	NO
C-D	65.051	SI

Para una DMSH = 1.816

b) Comparando 1.2% con 1.5%.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
R (Temperatura)	7967.448	1	7967.448	56108.79
S (Quitosán)	24.106	1	24.106	99.338
RS	7.487	1	7.487	52.725
Error	0.570	4	0.142	
Total	7989.609	7		

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	61.553	SI
A-C	4.59	SI
A-D	60.461	SI
B-C	65.622	SI
B-D	0.571	NO
C-D	65.051	SI

Para una DMSH = 1.816

c) Comparando 1.0% con 1.5% .

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
R (Temperatura)	8263.965	1	8263.965	50637.04
S (Quitosán)	29.606	1	29.606	181.409
RS	21.105	1	21.105	129.319
Error	0.653	4	0.1632	
Total	8315.331	7		

Para $\alpha = 0.05$ Ft = 7.71

Tabla de diferencia significativa entre los tratamientos (DMSH)

COMPARACION DE MEDIAS (CESTAS)	DIFERENCIA DE MEDIAS	SIGNIFICANCIA
A-B	67.53	SI
A-C	7.096	SI
A-D	68.128	SI
B-C	60.434	SI
B-D	0.598	NO
C-D	61.032	SI

Para una DMSH = 1.816

III. Estadísticos de la Etapa C.

a) Tono.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	15.654	1	15.654	1.842
Tratamientos				
SC Error	118.921	14	8.495	
SC Total	134.585	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

b) Luminosidad.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	19.86	1	19.86	4.413
Tratamientos				
SC Error	63.003	14	4.5	
SC Total	92.862	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

c) Cromo.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	3.163	1	3.163	0.853
Tratamientos				
SC Error	51.896	14	3.706	
SC Total	55.06	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

d) Azúcares Reductores Directos.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	0.4566	1	0.4565	0.18
Tratamientos				
SC Error	35.517	14	2.536	
SC Total	35.974	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

e) Sólidos Solubles.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	1.823	1	1.823	0.193
Tratamientos				
SC Error	131.816	14	9.415	
SC Total	133.64	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

f) Acidez.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	0.0111	1	0.011	0.1415
Tratamientos				
SC Error	1.098	14	0.0784	
SC Total	1.109	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

g) pH.

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA
SC	0.085	1	0.085	3.86
Tratamientos				
SC Error	0.312	14	0.022	
SC Total	0.397	15		

para $\alpha: 0.05$ Ft= 4.6

ANEXO 10. Norma de Calidad para la fresa.

SECRETARIA DE COMERCIO Y FOMENTO INDUSTRIAL NORMA OFICIAL MEXICANA

NOM - FF - 62 -1987

FRUTA FRESCA - FRESA FRAGARIA VESCA - ESPECIFICACIONES.

1.- OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION.

Esta Norma Oficial Mexicana establece las características de calidad que debe cumplir la fresa Fragaria vesca es estado fresco destinado al consumo humano.

2.- REFERENCIAS.

Esta Norma se complementa con las siguientes Normas Oficiales Mexicanas vigentes:

NOM - FF - 6 Producto alimenticio no industrializado para uso humano - fruta fresca - Terminología.

NOM - FF - 9 Producto alimenticio no industrializado para uso humano - fruta fresca - Determinación de tamaño en base al diámetro ecuatorial.

NOM - FF - 12 Muestreo para la inspección por atributos.

3.- DEFINICION DEL PRODUCTO.

Para los efectos de esta Norma se entiende por fresa a la infrutescencia de receptáculo carnoso, ovalado de color rosa a rojo, succulento y fragante, de la planta de tallos rastreros perteneciente a la familia de las Rosáceas, género y especie Fragaria vesca.

4.- TERMINOLOGIA.

4.1 Defecto menor.

Es aquel que disminuye realmente la apariencia, calidad de consumo o calidad de mercado de una fruta.

4.2 Defecto mayor.

Es aquel que disminuye seriamente la apariencia, calidad de consumo o calidad de mercado de una fruta.

4.3 Defecto crítico.

Es aquel que disminuye muy seriamente la apariencia, calidad de consumo y calidad de mercado de una fruta.

4.4 Canastillas.

Envases de plástico de ocho caras con figuras regulares que forman redecillas, estando la cara superior libre de éstas. Las dimensiones de la canastilla son: base inferior: 8.5 cm, base superior: 10 cm x 10 cm. y altura de 6 cm con una capacidad aproximada de 350 a 450 gr.

4.5 Fresa en estado sazón.

Parte del período de maduración de la fresa, en la cual es susceptible en condiciones apropiadas, de seguir transformándose y alcanzar la madurez de consumo.

4.6 Para otras definiciones relacionadas con ésta Norma debe consultarse la NOM -FF-5

5.- CLASIFICACION Y DESIGNACION DEL PRODUCTO.

La fresa se clasifica por tamaños y por calidad. Por tamaños es en función de su diámetro ecuatorial de acuerdo al cuadro 1.

CUADRO 1. CLASIFICACION POR TAMAÑO

TAMAÑO	INTERVALO DEL DIÁMETRO ECUATORIAL (cm)
A	Mayor de 3.2
B	2.6-3.2
C	2.0-2.3
D	1.6-1.9

Por calidad en función a sus especificaciones en tres grados de calidad, en orden descendente: México extra, México 1 y México 2.

La fresa se designa por su nombre, variedad, tamaño y grado de calidad.

El producto que no se clasifica de acuerdo con algunos de los grados de calidad enunciados anteriormente, se designa como "No Clasificado".

El término "No Clasificado", no es un grado de calidad dentro del texto de esta Norma, sino una designación que denota que ningún grado de calidad se dio al lote.

6.- ESPECIFICACIONES.

El producto objeto de esta norma en sus diferentes grados de calidad debe cumplir con las especificaciones siguientes:

6.1 Especificaciones sensoriales.

Las fresas deben :

6.1.1. Ser frescas, limpias, sanas, enteras y bien desarrolladas.

6.1.2. Tener forma, sabor y olor característico de la variedad.

6.1.3. Tener consistencia firme.

6.1.4. Tener péndulo con una longitud máxima de 1.5cm.

6.1.5. Estar exentas de humedad exterior anormal

6.1.6. Estar prácticamente libres de descomposición y o pudrición

6.1.7. Estar prácticamente libres de defectos de origen mecánico, entomológico, microbiológico, meteorológico, genético fisiológico u otros.

6.1.8. Color.

Presentar en su superficie una coloración roja, que se extiende del ápice hacia la base del pedúnculo y cubrir del 50% hasta el 100%.

6.2 Especificaciones físicas.

6.2.1 Tamaño.

Las fresas deben presentar los tamaños de acuerdo al cuadro 2.

CUADRO 2. ESPECIFICACIONES DE TAMAÑO

TAMAÑO	CALIDAD		
	MEXICO EXTRA	MEXICO 1	MEXICO 2
A	X	X	X
B	X	X	X
C		X	X
D			X

6.3 Especificaciones de madurez.

Las fresas deben presentar una coloración roja que se extienda del ápice hacia la base del pedúnculo y cubra un mínimo del 50% de la superficie.

6.4 Especificaciones de defectos.

Las fresas deben estar exentas de defectos de acuerdo al cuadro 3

CUADRO 3. ESPECIFICACIONES DE DEFECTOS

TIPO DE DEFECTO	CALIDAD		
	MEXICO EXTRA	MEXICO 1	MEXICO 2
MANOR	exento	se permite	se permite
MAYOR	exento	exento	se permite
CRÍTICO	exento	exento	exento

6.5 Especificaciones de presentación.

Las fresas deben presentar un aspecto uniforme en cuanto a color y tamaño.

6.6 Tolerancias.

Para las especificaciones físicas y de defectos, en los distintos grados de calidad, las tolerancias permitidas se presentan en el cuadro 4.

CUADRO 4. TOLERANCIAS PARA LAS ESPECIFICACIONES FÍSICAS Y DE DEFECTOS

ESPECIFICACIONES	TOLERANCIA (%)					
	MEXICO EXTRA		MEXICO 1		MEXICO 2	
	p.e.	p.a.	p.e.	p.a.	p.e.	p.a.
Físicas (tamaño)	5	5	10	10	15	15
Defecto menor	10	12	-	-	-	-
Defecto mayor	6	7	10	12	-	-
Defecto crítico	4	5	6	7	10	12
Total de defectos permitidos	10	12	10	12	10	12

p.e: punto de embarque.

p.a: punto de arribo.

6.6.1 Pudrición.

En un lote de fresas se permite en punto de embarque de 0 a 1% de producto con pudrición visible y en punto de arribo un 2% de producto con pudrición.

6.6.2 En las tolerancias de las especificaciones físicas y de defectos, se da el porcentaje permitido para el lote. En la fresa el porcentaje permitido que corresponde a la designación declarada se evalúa por conteo.

NOTA.- Los residuos tóxicos están sujetos a las tolerancias establecidas por la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y la Secretaría de Salud, incluyendo aquellos correspondientes a los residuos de plaguicidas, productos mejorados de la apariencia y otros.

7. MUESTREO Y TOMA DE MUESTRA.

El muestreo del producto puede establecerse de común acuerdo entre vendedor y comprador, a falta de éste, debe llevarse a cabo, desacerdo con las descripciones indicadas en la NOM-Z-12.

8. MÉTODO DE PRUEBA.

Para verificar si un lote con las especificaciones físicas establecidas en esta Norma, las determinaciones correspondientes deben realizarse de acuerdo a los procedimientos establecidos en las Normas mencionadas en el capítulo 2.

9. MARCADO, ETIQUETADO, ENVASE Y EMBALAJE.

9.1 Marcado y Etiquetado.

Cada envase debe llevar en el exterior una etiqueta o impresión permanente, con caracteres legibles e indelebles detectadas en español, que tengan como mínimo los siguientes datos:

- Fresa en estado fresco y variedad.
- Identificación simbólica de la fresa en estado fresco
- Marca e identificador simbólica del producto o envasador.
- Nombre y dirección del productor, distribuidor o exportador, y cuando se requiera, la del importador.
- Zona regional del producción y la leyenda "Hecho en México".
- Fecha de envasado.
- Designación del producto.
- Contenido neto en kilogramos al envasar.

NOTA.- Todos los textos anteriores pueden figurar en otro idioma, cuando el producto es para exportación y el importador lo requiera.

9.2 Envase y Embalaje.

9.2.1 Envasado y presentación.

El acomodo de las fresas dentro de cada envase debe hacerse de acuerdo al Manual de Prácticas recomendadas para la cosecha, transporte, selección, clasificación, envasado y conservación de fresa en estado fresco.

9.2.2 Características de los envases

Las de los envases , establecidos en esta sección, son de carácter general.

9.2.2.1 Los envases deben reunir la calidad y resistencia que garanticen el estibado y la transportación al lugar de consumo.

9.2.2.2 Los envases pueden ser de madera, cartón, madera cartón u otro material aceptable y conveniente, de las dimensiones que se adapten a las necesidades de transportación nacional e internacional.

9.2.2 .3 Los envases deben reunir las condiciones de higiene, ventilación, resistencia a la humedad y temperatura, que garantice una adecuada conservación de la fruta.

9.2.2 .4 Los envases que se utilizan comúnmente para envasar fresa se enlistan en el cuadro siguiente.

ENVASE	MATERIAL	DIMENSIONES EXTERIORES (CM)			CANASTILLAS POR ENVASE	KG DE PRODUCTO POR ENVASE
		LONGITUD	ANCHURA	ALTURA		
Caja	Cartón	44.0	33.0	6.5	8	3.0
Caja	Cartón	48.0	31.0	10.5	12	3.0
Caja	Cartón	50.0	30.0	10.5	12	6.0
Canasta	Carrizo	24-39 cm de altura por 22-29 cm de diámetro			-	5.0-7.0

10. BIBLIOGRAFÍA.

- Aspectos genéricos de la fresa. C.N.F, Departamento de Normalización e Inspección de Calidad Frutícola, México, 1980.

- NOM-Z-13-1977, Guía para la redacción, estructuración y presentación de las Normas Oficiales Mexicanas, Secretaría de Comercio y Fomento Industrial, Dirección General de Normas.

APENDICE.

CLASIFICACIÓN DE DEFECTOS PARA FRESA FRESCA EN FUNCIÓN DE SU ORIGEN Y DE LA INCIDENCIA EN LA FRUTA.

Origen del defecto	Defecto menor	Defecto mayor	Defecto crítico
<i>Mecánico.</i> a) Magulladuras b) Raspaduras	a) Cuando la fruta presenta pérdida de firmeza y el área afectada está ligeramente reblandecida con respecto al resto de la superficie y ocupa hasta un 25%. b) Cuando la fruta se encuentra sin piel en una área hasta 50mm ² de la superficie.	a) Cuando el área afectada está sin firmeza y la piel presenta un color más oscuro y ocupa el 25% y hasta el 35% de la superficie. b) Cuando la fruta se encuentra sin piel en una área mayor de 50mm ² y hasta 120mm ² de la superficie.	a) Cuando la punta esta sin firmeza y la piel presenta un color oscuro y ocupa una área mayor del 35% de la superficie. b) Cuando la fruta se encuentra sin piel en una área mayor de 120mm ² de la superficie
<i>Meteorológico</i> a) Quemaduras por el sol	Cuando presenta un color más intenso en el área afectada y además es notable una ligera resequedad en esta zona y se encuentra afectando una área mayor de 25mm ² y hasta 100mm ² .	Cuando presenta una área afectada mayor de 100mm ² y hasta 250mm ² .	Cuando presenta una área afectada mayor de 250mm ²
<i>Genético-Fistológico.</i> a) Deformación	Cuando se altera ligeramente la forma característica y afecta a la apariencia.	Cuando se altera la forma característica y afecta seriamente la apariencia.	Cuando se altera la forma característica y se afecta muy seriamente la apariencia.
<i>Entomológico.</i> a) Fresa sin aquenio b) Picaduras	a) Cuando la fresa se encuentra sin Aquino y el área afectada es mayor del 10% y hasta el 18% de la superficie. b) Cuando presenta perforaciones ocupando en superficie de la fruta en una área de hasta 4mm ² .	a) Cuando el área afectada es mayor del 18% y hasta el 25% de la superficie. b) Cuando presenta perforaciones ocupando en la superficie de la fruta en una área mayor de 4mm ² y hasta de 25mm ² .	a) Cuando el área afectada es mayor del 25% de la superficie b) Cuando presenta perforaciones en la superficie de la fruta en una área de hasta 25 mm ² .
<i>Otros.</i> a) Fruta contaminada.	a) Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área hasta el 5% de la superficie.	a) Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área mayor del 5% hasta el 10% de la superficie.	a) Cuando la fruta presenta adherida materia extraña afectando un área hasta del 10% de la superficie.

ANEXO 11. Dispersión del quitosán.

Para preparar una solución 1.2% peso/volumen de Quitosán se realiza de la siguiente manera:

1. Pesarse en una balanza analítica la cantidad de 1.2 gr del polímero
2. En un vaso de precipitados adicionar 98.8ml de agua destilada.
3. Como el quitosán es insoluble a pH neutros es necesario darle condiciones de solubilidad y se logra adicionando poco a poco ácido acético concentrado hasta un pH de 4-4.2. y debe realizarse con agitación.

Nota:

Dependiendo del tamaño de la partícula será el tiempo en que se tarde en solubilizar (hay una relación directamente proporcional).

COMPARACION EN CUANTO A VISCOSIDAD.

La solución de quitosán al 1.2% p/v tiene una viscosidad semejante a la del aceite comercial.

Nota:

La viscosidad varía dependiendo del tipo de quitosán (origen), condiciones de extracción así como de solubilización.

TRATAMIENTO ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.

1. Para la selección del grado de madurez de la fresa con el que se trabajaría (objetivo 1) se aplicó el ANOVA y Prueba de Tuckey.
2. Para ver el efecto de la película sobre la pérdida de peso del fruto se realizó Análisis factorial.
3. En el caso de la evaluación de los parámetros de calidad de la fresa ya recubierta con el polímero se aplicó el ANOVA