



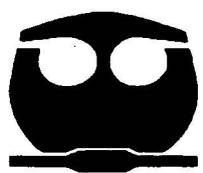
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE RECUBRIMIENTOS
FORMULADOS CON QUITOSANO, CERA DE ABEJA
Y CERA DE CANDELILLA EN LA CONSERVACIÓN
EN FRESCO DE LIMÓN MEXICANO
(*Citrus aurantifolia* Swingle)**



T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS
P R E S E N T A
ROSA MARÍA AVILA OTAMENDI



MÉXICO, D.F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

AÑO 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.

Paginación

Discontinua

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	Prof. Marco Antonio León Félix
VOCAL	Prof. María de Lourdes Gómez Ríos
SECRETARIO	Prof. Elsa Bosquez Molina
1er SUPLENTE	Prof. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
2do SUPLENTE	Prof. Carlos Manuel Shelly Alvarez-Tostado

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Fisiología Postcosecha de Frutas y Hortalizas. Departamento de Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.


M en C. Elsa Bosquez Molina
ASESOR


M en B. Julieta Domínguez Soberanes
SUPERVISOR TÉCNICO


Rosa María Avila Otamendi
SUSTENTANTE

Agradecimientos

A **Dios** por mi existencia y por permitirme culminar esta etapa de mi vida.

A mis padres **Ma. de la Luz Otamendi Herrera** y **Francisco Avila Valdovinos (†)** por la guía, por el apoyo y por el amor recibido durante todos estos años, aprovecho este momento para expresarles mi más sincero y profundo agradecimiento.

A mis asesoras **M. en C. Elsa Bosquez Molina** y **M. en B. Julieta Domínguez Soberanes** por su experiencia, paciencia y ayuda para dirigir y concluir esta tesis. A la profesora Elsa le admiro mucho la fortaleza que ha mostrado todo este tiempo, ya que no existen en el mundo palabras que describan o consuelen los hechos críticos e irreversibles que sufrió.

A aquellas personas que estuvieron de alguna u otra forma a mi lado durante toda la carrera y en la realización de este proyecto, en especial a **Ignacio, Roberto** y **Leticia** por compartir conmigo los mejores y peores momentos y darme ánimos cuando yo más lo necesitaba, brindándome en todo momento su desinteresada ayuda y sobre todo su valioso tiempo.

A **Martín** por su cariño y por su ayuda en el diseño y formato de este escrito.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por mi formación profesional y académica, la cual considero única e invaluable.

A la **Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa**, por todas las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

Dedico esta tesis

A mi madre:

Por todos los valores que me ha inculcado, por su apoyo incondicional, por todos esos años de angustias, preocupaciones y desvelos; por enseñarme a ser mujer, por ser mi mejor amiga, la cual siempre me ha regalado una sonrisa y me ha mostrado su mejor lado (aún en los momentos más difíciles) y porque siempre tuvo la confianza de que algún día podría brindarle esta satisfacción. A ti mamita por ser tan linda y tan buena conmigo dedico este logro que también es tuyo.

A la memoria de mi padre:

A pesar de haber tenido una visión diferente de la escuela, me permitió llegar a la conclusión de esta meta, ya que siempre me mostró paciencia hasta el final de sus días. Él casi siempre me brindo su aprobación y cariño en una forma muy especial, sin que yo le expresara abiertamente mis sentimientos, mis temores y mis sueños, pero muy en el fondo creo que llegará el momento en el podamos compartir todo lo que nos hizo falta en esta vida.

A mi hermana:

Por su cariño, por ser mi compañera de toda la vida y también una de mis mejores amigas y confidentes, a ti Esther te dedico esto que hoy finalizo, esperando que siempre estemos unidas.

Tabla de Contenido

<i>Agradecimientos</i>		<i>iii</i>
<i>Dedicatoria</i>		<i>iv</i>
<i>Tabla de Contenido</i>		<i>v</i>
<i>Índice de Figuras</i>		<i>viii</i>
<i>Índice de Tablas</i>		<i>x</i>
Capítulo I	INTRODUCCIÓN	1
Capítulo II	JUSTIFICACIÓN	3
Capítulo III	ANTECEDENTES	5
3.1	Antecedentes Económicos	5
3.1.1	Producción y situación mundial	5
3.1.2	Situación Nacional	7
•	Producción e historia del limón mexicano	7
•	Estados productores	9

	•	Importancia económica y atributos de calidad del limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	12
	•	Problemática	14
3.2		Antecedentes Técnico-Científicos	16
3.2.1		Botánica del limón Mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	16
3.2.2		Características y composición química	17
3.2.3		Morfología del limón mexicano	18
3.2.4		Métodos para conservar en fresco el limón mexicano	19
3.2.5		Recubrimientos	21
	•	Materiales y propiedades	21
	•	Polisacáridos (Quitosa)	22
	•	Lípidos (Cera de abeja y Cera de candelilla)	24
	•	Uso potencial de la combinación de polisacáridos y lípidos en la conservación postcosecha de frutas y hortalizas	27
Capítulo IV		OBJETIVOS	28
Capítulo V		HIPÓTESIS	29
Capítulo VI		METODOLOGÍA	30
6.1		Metodología para la primera etapa	31
6.2		Metodología para la segunda etapa	32

6.3	Parámetros fisiológicos	34
6.4	Parámetros de calidad	36
6.5	Análisis estadístico	38
Capítulo VII	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
7.1	Primera etapa	39
7.1.1	Parámetros fisiológicos	40
7.1.2	Parámetros de calidad	44
7.2	Segunda etapa	50
7.2.1	Parámetros fisiológicos	50
7.2.2	Parámetros de calidad	54
Capítulo VIII	CONCLUSIONES	58
	BIBLIOGRAFÍA	59
	ANEXOS	

Índice de Figuras

Figura 1.	Países productores de limas y limones a nivel mundial	7
Figura 2.	Situación nacional del limón mexicano	10
Figura 3.	Tendencia de los rendimientos del limón mexicano	11
Figura 4.	Tendencia de los precios reales del limón mexicano	11
Figura 5.	Morfología del limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	19
Figura 6.	Estructura Molecular de la Quitina	23
Figura 7.	Estructura Molecular del Quitosano	24
Figura 8.	Carta de color del limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle)	36
Figura 9.	Comparación de porcentajes de PFP (en base al control) en limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) y tratado con las formulaciones quitosano: abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla a la fecha del último muestreo	40
Figura 10.	Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de abeja sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	44
Figura 11.	Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de candelilla sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	45

- Figura 12.** Efecto de los recubrimientos a base de quitosano, cera de abeja y cera de candelilla sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) 46
- Figura 13.** Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de abeja sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) a la fecha del último muestreo 49
- Figura 14.** Efecto de los recubrimientos (quitosano-cera de candelilla y quitosano-cera de abeja/candelilla) sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) a la fecha del último muestreo 49
- Figura 15.** Comparación de porcentajes de PFP (en base al control) en limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93.0% H.R.) y tratado con las formulaciones a base de quitosano : cera de abeja-candelilla=1:0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) a la fecha del último muestreo 52
- Figura 16.** Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla = 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93% H.R.) 55
- Figura 17.** Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla = 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93%HR) a la fecha del último muestreo 57

Índice de Tablas

Tabla 1.	Evolución de la producción de limones a nivel mundial	5
Tabla 2.	Principales países productores de limón a nivel mundial	6
Tabla 3.	Evolución de la producción de limón mexicano en México	9
Tabla 4.	Clasificación de los frutos de limón mexicano	13
Tabla 5.	Escala de evaluación del daño por frío	34
Tabla 6.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la pérdida fisiológica de peso (%PFP) en limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	41
Tabla 7.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la frecuencia e intensidad de daño por frío en limón mexicano (<i>Citrus aurantifolia</i> Swingle) almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	43
Tabla 8.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre el porcentaje de jugo en limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	47
Tabla 9.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja y cera de candelilla) sobre la relación $^{\circ}\text{Brix}$ /acidez titulable en limón mexicano a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)	48

Tabla 10.	Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja cera de candelilla= 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre la pérdida fisiológica de peso en limón mexicano almacenado a $8C \pm 1^{\circ}C$ (87-93% H.R.)	51
Tabla 11.	Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla= 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre la frecuencia e intensidad de daño por frío en limón mexicano almacenado a $8C \pm 1^{\circ}C$ (87-93% H.R.)	54
Tabla 12.	Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla= 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre el porcentaje de jugo en limón mexicano almacenado a $8 \pm 1^{\circ}C$ (87-93% H.R.)	56
Tabla 13.	Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla = 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre la relación °Brix/acidez titulable en limón mexicano almacenado a $8 \pm 1^{\circ}C$ (87-93% H.R.)	56
Anexo 1.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre los °Brix en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^{\circ}C$ (93.0% H.R.)	
Anexo 2.	Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la acidez titulable en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^{\circ}C$ (93.0% H.R.)	
Anexo 3.	Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre °Brix y acidez titulable en limón mexicano almacenado a $8 \pm 1^{\circ}C$ (87-93% H.R.)	

Capítulo I

Introducción

El uso de recubrimientos para frutas y hortalizas es una práctica antigua que se desarrolló para imitar las cubiertas naturales de los productos vegetales. Actualmente las películas y cubiertas comestibles se usan en el empaqueo de alimentos frescos, congelados y procesados por su versatilidad como materiales de protección para la conservación de los mismos con una calidad estable (Bosquez *et al.*, 2000).

Este tipo de películas y recubrimientos además de constituir una alternativa de grandes alcances para sustituir a las películas sintéticas por su amplia variedad de aplicaciones a un menor costo, tienen la capacidad de regular el flujo de agua, oxígeno, y dióxido de carbono (Greener y Fennema, 1994). Su aplicación en la agricultura se ha vuelto popular debido a que estas propiedades controlan la fisiología postcosecha de los productos vegetales frescos al modificar su atmósfera interna y reducir su actividad respiratoria que trae como consecuencia la cinética de su deterioro. Por otra parte pueden prevenir o controlar el crecimiento microbiano y fisiopatías, mejorando incluso la estética, la textura y su resistencia al manejo (Bosquez *et al.*, 2000).

Estos recubrimientos son emulsiones formuladas a base de materiales naturales tales como hidrocoloides (polisacáridos o proteínas) y lípidos aislados de plantas, frutas o animales. Las películas cubrientes que se utilizan para la conservación de frutas y hortalizas se formulan con materiales céreos, como la cera de candelilla, cera de carnaúba, parafina, cera de abeja y lecitina, entre otros, las cuales son efectivas barreras contra la humedad donde además de ser altamente permeables a oxígeno, y dióxido de carbono se aplican con el propósito de mejorar el aspecto, evitar la pérdida de agua, reducir el ritmo de envejecimiento y pudrición; aumentando de este modo su vida de anaquel. Por otro lado, las cubiertas formuladas con polisacáridos (almidón, celulosa, pectina, almidones

químicamente modificados, alginatos, quitosano, carragenina y gomas) ofrecen una excelente barrera contra los gases. Sin embargo, su funcionalidad como barrera contra la pérdida de humedad es pobre debido a su naturaleza hidrofílica (Baldwin *et al.*, 1995). El quitosano es un polisacárido desacetilado derivado de la quitina, no tóxico y biodegradable que tiene la habilidad de formar películas semipermeables y posee propiedades antifúngicas que pueden controlar enfermedades postcosecha de los productos vegetales frescos, modificar su atmósfera interna y reducir la cinética de los procesos biológicos vitales tales como la tasa de transpiración y respiración. (El Ghaouth¹ *et al.*, 1991; Knorr, 1991; Sandford, 1989; Zhang, 1998). Existen estudios de formulaciones a base de quitosano en algunos productos hortofrutícolas, pero no hay reportes del uso de este polisacárido en combinación con ceras ni aplicaciones en cítricos, de ahí que resulte de interés explorar esta posibilidad de su aplicación con la intención de aprovechar sus propiedades, ya que las cubiertas comestibles utilizadas para cubrir los productos vegetales enteros o mínimamente procesados están elaboradas con distintas combinaciones de los materiales antes mencionados, para incrementar su vida de anaquel.

Por otra parte México produce un alto volumen de cosecha anual de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) y es considerado como el principal productor a nivel mundial (Durón, 2001; SAGARPA, 2002). El 96.0% de esta producción se destina para consumo interno y únicamente un 4.0% se exporta por no reunir características de apariencia aceptable para su comercialización en los mercados extranjeros potenciales debido su carácter altamente perecedero y presentar un cambio de color en un tiempo relativamente corto de almacenamiento (Cajuste, 2001; Pelayo y Siade, 1978; Sánchez *et al.*, 2001). Dado que la demanda de este cítrico es limitada, es necesaria la búsqueda o adecuación de tecnologías postcosecha que permitan conseguir su conservación por un tiempo más prolongado con calidad estable. Dentro las tecnologías de conservación existentes, se encuentran los recubrimientos elaborados con materiales naturales donde el principal reto a enfrentar, en este caso en particular, consiste en reducir la pérdida de humedad, ofrecer una apropiada permeabilidad a gases y dar brillo al producto sobre el que se aplique.

El objetivo de este estudio fue elaborar y evaluar el efecto de recubrimientos formulados a base de quitosano, en combinación con cera de candelilla y abeja como materiales en la formación de películas, en la conservación en fresco del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) determinando las condiciones de adecuación requeridas para este caso en particular, de tal manera que el producto pueda llegar al consumidor en buenas condiciones de calidad.

Capítulo II

Justificación

El cultivo de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) constituye el 70% del limón producido en México y su situación postcosecha queda definida principalmente por la falta de métodos de conservación que impidan su rápido deterioro. Su vida de anaquel, bajo condiciones ambientales, es de 4 a 7 días, después de lo cual se generan considerables pérdidas por el ataque de hongos o marchitamiento natural; además, los frutos comienzan a cambiar de color tornándose a amarillos lo que dificulta su comercialización, ya que el verde se asocia con un estado de frescura; estimándose que por esta razón se destine casi el 70% de la producción a la industria y el resto se consuma en fresco.

La calidad debe producirse en el campo y ser preservada después de la cosecha. El uso de recubrimientos ofrece una alternativa de grandes alcances en el control de la fisiología postcosecha de los productos vegetales frescos a un menor costo que la refrigeración y las atmósferas controladas. El desarrollo de películas y recubrimientos comestibles o funcionales podrían reemplazar a las películas sintéticas, satisfaciendo la preferencia de los consumidores por productos sanos y naturales en lugar de los productos derivados del petróleo. Dentro de los materiales que se han venido experimentando están los lípidos (de origen vegetal o animal) gomas, polisacáridos, proteínas, etc. El quitosano es un material natural que ha mostrado tener potencial como recubrimiento además de propiedades antifugales para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas. Es un polisacárido que puede ser obtenido a partir de alimentos de desecho como la cabeza de camarón la cual es desaprovechada casi en su totalidad y se tira en ultramar o en zonas aledañas a los lugares de cultivo ocasionando serios problemas ecológicos.

Con base en lo anterior, en el presente estudio se evaluó el efecto de recubrimientos emulsionados formulados a base de quitosano, cera de candelilla y

cera de abeja (quitosano-abeja, quitosano-candelilla y quitosano-abeja/candelilla) aplicados por inmersión en la conservación en fresco de frutos de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle), bajo los siguientes indicadores: porcentaje de pérdida de peso, color, porcentaje de jugo, acidez titulable, grados brix e incidencia de daño por frío, con la finalidad de determinar el potencial de cada uno de los diferentes recubrimientos sobre la conservación de la calidad de los frutos durante su almacenamiento.

Capítulo III

Antecedentes

3.1 Antecedentes económicos

3.1.1 Producción y situación mundial

De 1990 a 2000 la producción de limones se elevó de 7,297,004 a 10,882,114 toneladas con una tasa anual de crecimiento de 9.3% (FAOSTAT, 2001) (Tabla 1).

Tabla 1. Evolución de la producción de limones a nivel mundial 1991/2001 (1000 ton.)

Periodo	Cítricos total	Limones	% de limones dentro los cítricos
91	74,986	7.876	8.8
92	80,994	7.982	8.9
93	86,368	8.288	9.0
94	86,835	8.375	9.0
95	87,562	8.489	8.6
96	89,093	9.047	9.5
97	89,135	9.730	9.3
98	91,549	9.925	9.7
99	93,964	10.264	9.3
00	96,665	10.882	9.2
01	96,665	10.912	9.2

Fuente: FAO, Frutos cítricos, frescos y elaborados. Estadísticas anuales. FAOSTAT 2001

Actualmente la producción de limas y limones supera al de los otros cítricos (toronjas y pomelos) estimándose en 10,912,840 toneladas y estadísticamente

participando con un 9.6% en la producción a nivel mundial, dentro del grupo de los cítricos (FAOSTAT, 2001).

Se proyecta que este volumen se vea incrementado en los próximos 5 años debido a que el mercado de EUA prácticamente es el principal consumidor, por la cada vez mayor afluencia en este país de la población latina que habita en este país y que tiene preferencia de consumo por este tipo de frutos (Angulo y Velasco, 1997).

A nivel mundial existen 72 países que alcanzan una producción por arriba de 1000 toneladas al año. En América la FAO registra 24 países con una producción comercial importante que en conjunto contribuyen con más del 40% del limón a nivel mundial (FAOSTAT, 2001). Sin embargo, son solamente 4 los países que predominan en el mercado mundial; México, Argentina, India e Irán cada uno aportando el 10% del total en el promedio de los años 1990 a 2000 de acuerdo con esto, se tiene que junto con España y Argentina concentran el 60% del total de la producción mundial (FAOSTAT, 2001; Gómez *et al*, 1994) (Tabla 2 y Figura 1).

Tabla 2. Principales países productores de limón a nivel mundial (2001)

País	Producción (Mt)	Superficie cultivada (ha)	Rendimiento (hg/ha)
México	1,650,000	125,700	131,265
Argentina	1,115,000	42,000	265,476
India	1,312,000	110,000	122,000
Irán	850,000	50,000	170,000
España	915,000	43,500	210,345
EUA	875,430	26,500	330,351
Italia	707,551	34,613	204,418
Brasil	520,000	46,000	113,043
Turquía	520,000	17,265	101,264
Perú	224,300	22,150	101,264
Total	10,912,840	749,088	145,682

ha = hectáreas

Mt = tonelada métrica

hg = hectogramos = 100 gramos

Fuente: FAO, Frutos cítricos, frescos y elaborados. Estadísticas anuales (FAOSTAT 2001)

Estos países se distinguen por su dinamismo en el desarrollo de la variedad de limón que producen; Italia, España, EUA y Argentina, son productores de limón italiano. En Brasil tienen importancia los tres tipos de limón; el italiano, el persa (*Citrus latifolia* Tanaka) y el mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) (Gómez *et al.*, 1994).

México es líder mundial de las variedades mexicano y persa; con una producción de 1,650,000 ton, que equivale al 15% del total mundial que hoy en día se comercializa (CEA, 2000). Por otro lado nuestro país ocupa el primer lugar mundial en cuanto a superficie cosechada, (125,700 hectáreas), sexto sitio en valor de producción y tercero por lo que a volúmenes exportados se refiere (FAOSTAT, 2001; ASERCA, 1996).

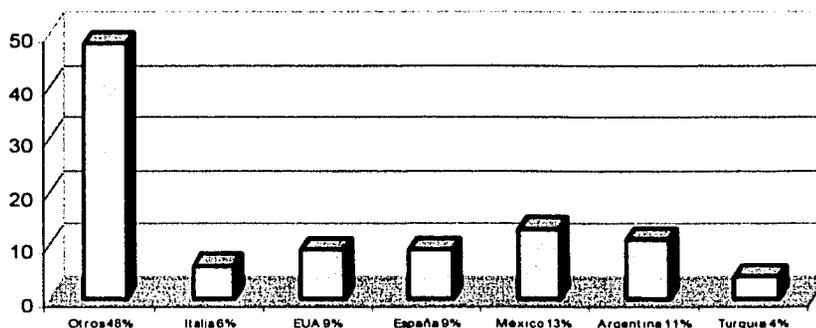


Figura 1. Países productores de limas y limones a nivel mundial (porcentaje promedio)

3.1.2 Situación Nacional

- *Producción e historia del limón mexicano*

El limón mexicano es originario de la India (Wardoski *et al.*, 1986), después de su expansión por Europa; con la conquista española fue introducido a América. Las características climáticas de México permitieron su establecimiento y diseminación en muchos estados de la República. Así el cultivo de este fruto llegó a formar parte del desarrollo de la agricultura mexicana ocupando un papel importante en la cultura alimenticia nacional en las distintas épocas históricas; de hecho, en las haciendas de Michoacán se inició su explotación comercial, este evento está correlacionado con la demanda del limón fresco del mercado estadounidense (Calderón, 1989).

La información disponible permite precisar que en 1912 se establecieron las primeras plantaciones comerciales en el Valle de Apatzingan, Michoacán, en 1917 en Tecomán Colima, en 1938 en Guerrero y en Oaxaca hasta 1945 (Rodríguez, 1988).

De acuerdo a información de la FAO (1952) entre los años de 1934 a 1938 México obtuvo una producción de 24,000 toneladas en promedio, y en menos de 25 años ésta se multiplicó cinco veces, hasta llegar a 115,000 toneladas en 1960. En el periodo de 1950 a 1993 la producción de limón creció a una tasa anual de 5.66% de 70,000 a 745,743 toneladas. Este índice fue similar en las dos décadas siguientes, de 5.64% pero se observa un fuerte incremento de 1970 a 1980, de 199,000 toneladas a 564,972 a una tasa anual de 11.0%. En la década de 1980 a 1990 bajó sensiblemente el ritmo de crecimiento de los volúmenes de producción de limón, pues la tasa media anual de crecimiento fue de 1.95% y la producción se elevó de 564,972 toneladas a sólo 685,350. Finalmente entre 1990 y 1995 el incremento ha llegado a 745,793 toneladas a un ritmo de 2.88%, observándose que no se recupera el dinamismo de las primeras cinco décadas (Cobarrubias, 1994). A nivel nacional, los rendimientos muestran una tendencia anual ligeramente creciente. Entre 1990 y 2000, el rendimiento promedio nacional pasó de 9.5 ton/ha a 13.3 ton/ha (Tabla 3), un aumento del 40 % (INEGI² 2001).

El mercado internacional de limón incentivó el establecimiento de plantaciones comerciales, en un principio por las ventas de limón fresco y casi en seguida por la demanda de aceite esencial en 1920 en Michoacán y en los años 30 en Colima (Calderón, 1989; Muench, 1992). Además el proceso de desarrollo industrial de México y el fenómeno de urbanización que se dio. A partir de 1950 fue constituyendo un mercado interno importante para el limón en fresco. Los dos factores han sido el estímulo que incentivó el crecimiento observado hasta 1980. A partir de 1980 tanto la crisis interna de la economía de México como la internacional del mercado de derivados, han determinado un decremento en la producción, aunado a que en 1982 se detectó en los estados de Colima y Michoacán el problema de "bacteriosis de los cítricos" razón por la cual EUA determinó establecer medidas cuarentenarias para este fruto (Espinosa, 1992; Cobarrubias, 1994).

Tabla 3. Evolución de la producción de limón mexicano en México (1950-2000)

Año	Superficie cosechada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
1950	10,527	70,000	6.7
1960	14,162	115,000	7.1
1970	22,698	210,714	9.3
1980	57,311	564,972	9.8
1990	72,216	685,350	9.5
1991	73,503	716,530	9.7
1992	78,923	777,474	9.8
1993	81,191	725,152	8.9
1994	81,614	813,331	9.9
1995	87,317	947,483	10.8
1996	82,231	916,831	11.1
1997	83,819	936,930	11.2
1998	85,915	972,844	11.32
1999	88,960	984,086	11.06
2000	120,341	1,598,070	13.28

Fuente: Cobarrubias, 1994 e INEGI² (2001), "El sector alimentario en México"

La producción de cítricos en México fue prevista en 4.6 millones de toneladas en el periodo 2000-2001 (aproximadamente 3% debajo del rendimiento del último año). La producción del cítrico nacional en este periodo se calculó de acuerdo al buen tiempo que se dio durante el periodo anterior y a las oportunas lluvias durante todo el año (SAGARPA, 2001).

- *Estados productores*

En México se cultivan más de 500,000 ha de cítricos en 16 estados. La SARH (1993) distingue dos grandes regiones productoras de limón: la vertiente del Golfo de México, especializada en la producción de limón persa, donde aparecen los estados de Veracruz y Tabasco como los más importantes productores, concentrando el 50% de citricultura del país y la vertiente del Océano Pacífico, con Colima, Michoacán, Oaxaca y Guerrero especializados en la producción de limón mexicano; los cuales concentran más del 90% de la superficie nacional cosechada de esta especie (Durón, 2001; Rodríguez *et al*, 2001).

Entre 1990 y 2000, el promedio anual de superficie cosechada de limón mexicano fue de 85,094 hectáreas, con un promedio anual de producción de 915,856 toneladas (Figura 2). Los estados de Colima y Michoacán aportan el 70% del volumen total y poseen la mayor superficie sembrada (29,700 y 18.76 ha respectivamente), siendo el estado de Colima el poseedor de uno de los mejores rendimientos por hectárea (18.76 ton/ha) junto con el mayor volumen de producción (557,222 toneladas); comparado con el estado de Michoacán el cual produce un volumen de 334,248 toneladas (INEGI¹, 2001; SAGARPA, 2001).

La producción de limón mexicano dentro del estado de Colima, la generan 3,598 productores, 83.7% ejidatarios y 16.3% privados. La propiedad ejidal tiene una superficie promedio de 5ha, mientras que la propiedad privada tiene una superficie promedio de 29ha, del tal manera que el 46.8% de la superficie cultivada es propiedad ejidal y el restante es propiedad privada, siendo el principal municipio productor Tecomán, donde se ubica alrededor del 63% de la superficie de cultivo y se localiza la mayor parte de la infraestructura de empaque e industrial (ASERCA, 2002).

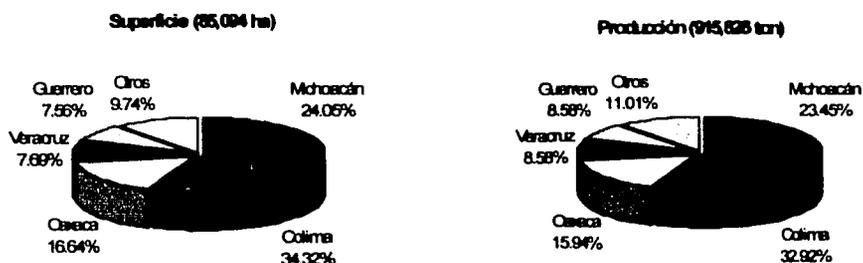


Figura 2. Situación nacional del limón mexicano (Promedio anual 1990-2000)

A pesar de que a nivel nacional los rendimientos muestran una ligera tendencia anual creciente, la tendencia del crecimiento de los rendimientos en los estados de Colima y Guerrero es diferente, aumentando de manera importante en el primero y disminuyendo de manera significativa en el segundo (Figura 3).

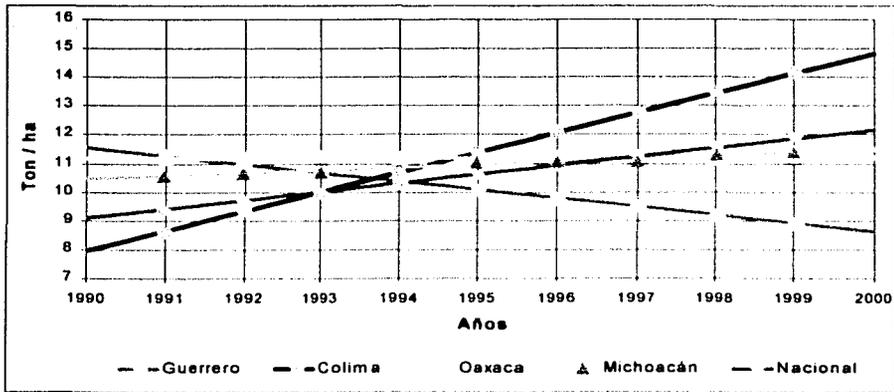


Figura 3. Tendencia de los rendimientos del limón mexicano (Promedio anual 1990-2000)

Por el contrario, la tendencia de los precios reales del limón han mostrado una tendencia ligeramente decreciente (Figura 4), con una mayor disminución de los precios del limón de Guerrero y Colima. Entre 1990 y 2000, el precio real del limón (precios de 1990) disminuyó de Mex\$ 497/ton a Mex\$ 431/ton, una disminución del 13.3% (INEGI², 2001; ASERCA, 2002).

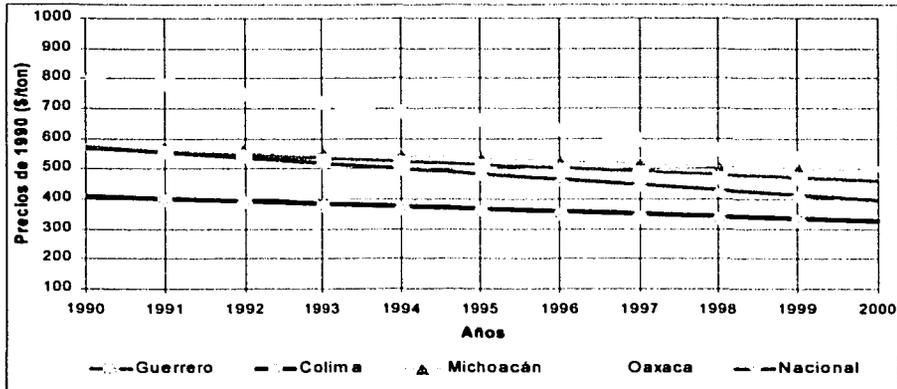


Figura 4. Tendencia de los precios reales del limón mexicano (Promedio anual 1990-2000)

- *Importancia económica y atributos de calidad del limón mexicano*

El limón mexicano es una especie de gran importancia en México, ya que nuestro país ocupa el primer lugar a nivel mundial en producción a pesar de que el comercio de la fruta se lleve a cabo en el mercado doméstico tanto como fruta fresca como en forma de aceite esencial y pectinas para la industria (Duron, 2001; Gómez *et al.*, 1994; SAGARPA, 2001).

Por otra parte el mercado nacional de limón fresco está regido por el limón mexicano, donde en términos de superficie y producción de cítricos, este ocupa el segundo lugar, después de la naranja (ASERCA, 1996; Gómez *et al.*, 1994).

México no figura en la lista de exportadores por no cumplir con las especificaciones y estándares de calidad internacionales que compitan con el de otros países como Israel, España, Italia y Sudáfrica, debido a que en la práctica comercial, se consideran como atributos de calidad el tamaño, integridad de fruto, el porcentaje de la superficie verde, y el estado de madurez relacionado con el porcentaje de jugo (Espinosa, 1992; Pelayo y Siade, 1978).

Debido a lo anterior y a pesar de existir un amplio nicho de mercado en la comunidad mexicana de los Estados Unidos, en los estados fronterizos, el mercado de exportación es casi nulo y el volumen exportado representa menos del 4% del producido; por otro lado este país limitó sus importaciones como una medida proteccionista para su propio producto volviéndose desde entonces necesaria la apertura de otros mercados externos como Europa y Japón. Estos últimos establecieron estándares más exigentes considerando entre otras características el contenido de aceite esencial (el cual debe ser igual o mayor de 42.7%) y la retención del color verde del flavedo en términos de porcentaje de área del fruto (Japón 95%, Europa 75% y EUA 50 60%) (Espinosa, 1992; ASERCA, 2002).

Los deterioros ocasionados por el manejo, hongos o insectos son causa de rechazo en productos de exportación, aunque en época de escasez se tolera discrecionalmente un mínimo de daños (Espinosa, 1992). Los frutos que no reúnen satisfactoriamente las características para exportación se destinan al mercado nacional, de ahí que prácticamente la producción del limón mexicano es básicamente para autoconsumo, siendo las empacadoras las más importantes en la

comercialización, pues por este medio se envía el producto a las diferentes centrales de abasto del país, estimándose un volumen anual de 10,000 toneladas (SAGARPA, 2001; ASERCA, 2002).

El empaque selecciona y vende limón fresco de calidad al mercado (70%), y otros limones (alimonado, No. 2 y amarillo). El precio ponderado resultante de estos frutos (en sus diferentes calidades) fue superior al precio pagado al productor (ASERCA, 2002).

Los tamaños mas comunes del fruto que sirven de base para la clasificación según la norma se muestran enseguida:

Tabla 4. Clasificación de los frutos de limón mexicano

Tamaño	Diámetro (mm)
1	30-32
2	33-35
3	36-38
4	39-41
5	42-44
6	45-47
7	>47

Fuente: NOM-FF-331-A-1981. Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) en estado fresco.

La aportación más notoria como generador de divisas al país, lo hacen los derivados o subproductos industriales (como aceites esenciales y pectinas), que el limón como fruta fresca propiamente. Para el primer caso contribuyó con el 0.72% del valor de las exportaciones de la industria manufacturera de alimentos, bebidas y tabaco y el 16% de los jugos de frutas no especificados, mientras que para el segundo tan sólo aportó el 0.01% de las exportaciones totales de la agricultura y el 0.06% de las frutas frescas no especificadas en el año de 1999. Dentro de estos subproductos la industria adquiere 43,000 toneladas de limón para producir 1,000 tambores (de 400 lb) de aceite esencial destilado y como producto secundario obtiene 12,900 toneladas de cáscara fresca para la producción de pectinas. El aceite destilado se exporta a través de grandes comercializadoras internacionales para su venta a las grandes refresqueras de cola que lo utilizan como saborizante en sus productos (INEGI², 2001; ASERCA, 2002).

- ***Problemática***

El limón mexicano como fruta fresca, tiene una vida útil corta bajo condiciones ambientales (4 a 7 días con flavedo verde y de 12 a 15 días considerando el cambio de color amarillo). Lo anterior genera un grave problema a los productores en lo que se refiere a la conservación de la fruta. Desde hace ya varios años la comercialización del limón mexicano enfrenta serios problemas, de los cuales destacan los siguientes:

- ***La marcada estacionalidad de su producción.*** La cual incluye excedentes y problemática de la alta y baja de costos debido a que se presentan dos épocas de cosecha bien definidas: Una en los meses de Mayo a Septiembre donde se cosecha alrededor del 60% de la producción (época alta) y otra de Octubre a Abril donde se cosecha el restante 40% (época baja) lo que trae consigo una gran variabilidad de precios en el mercado provocando una variación notable y definida de la oferta, en tanto que la demanda permanece constante durante todo del año. Se ha registrado que a medida que la producción comienza a aumentar en el mes de abril los precios comienzan a disminuir. La producción alcanza su máximo en los meses de junio y julio, y los precios su mínimo. Por otro lado se ha estimado que los precios obtenidos en la época de baja producción llegan a incrementarse hasta en un 300% en la época de escasez. (SAGARPA, 2001; ASERCA, 2002).
- ***Desconocimiento de los factores precosecha.*** Tratamiento de riego, manejo de plagas, patrones de crecimiento y nutrición del árbol en sus fases productivas (incluyendo sus enfermedades), portainjertos que resulten en variedades en limón "mexicano" con mejores atributos comerciales para competir en mercados de exportación y que afectan el rendimiento y la calidad de la fruta incrementando los costos de producción (Bosquez, 2001; SAGARPA,2001).
- ***Desconocimiento de los factores postcosecha.*** Condiciones ambientales al momento de la cosecha ya que se recomienda su recolección en horas de baja temperatura (por la mañana y por la tarde) lo cual disminuye su metabolismo contribuyendo a una mas larga vida, considerando por otro lado un grado de madurez fisiológico adecuado (cuando el contenido de jugo no es menor a 45% en peso y su pigmentación de las cáscara es todavía de color verde oscuro y brillante). En lo que respecta al manejo de la fruta

bajo almacenamiento a largo plazo este se practica a escala muy reducida, pues aunque actualmente parte de los productores cuentan con instalaciones frigoríficas de diferentes capacidades, estas son poco utilizadas por el desconocimiento de las condiciones óptimas de conservación, o bien porque las condiciones seleccionadas para el almacenamiento se establecen en forma arbitraria con la consecuente aparición de daños tanto de tipo fisiológico (daño por frío) como microbiológico, lo cual se traduce en pérdidas para los productores de este cítrico; además de la falta de la tecnología adecuada para el manejo y conservación de fruta en el empaque la cual podría favorecer a los frutos en su vida de anaquel postcosecha (Bosquez, 2001; Pelayo y Siade, 1978; SAGARPA, 2001; Saucedo, 1979).

- *La característica de ser altamente perecederos.* Los empacadores refieren la vida de anaquel de los frutos de limón muy corta bajo condiciones de refrigeración o ambientales, ya que después 10 a 15 días de almacenamiento sufren pérdidas por el ataque de hongos o marchitamiento natural debido al mal manejo de la fruta durante la cosecha, provocando también pérdidas por eliminación de fruta deteriorada durante el proceso de selección en el empaque, al presentar lesiones de manchado por "oleocelosis" en cáscara y pudriciones por enfermedades debidas a golpes, rozaduras, picaduras, humedad excesiva, etc., así como pérdida de peso de la fruta empacada para su envío al mercado. Por otro lado, después de 5 días de almacenamiento los frutos comienzan a cambiar de color prefiriéndose en consecuencia aquellos de color verde, debido a que el color amarillo se asocia con un estado de madurez avanzado el cual pierde su valor comercial al ser difícil de vender tanto en el mercado nacional como de exportación (Bosquez, 2001; Cajuste, 2001; Sánchez *et al.*, 2001; Saucedo, 1979)

Por ser frutos amarillos, de tamaño pequeño, tener daños físicos, bióticos y presentar problemas fitosanitarios el 66% de la producción nacional se destina a la industria de derivados, el volumen restante (correspondiente al 34%) reúne características de apariencia para su comercialización y se empaca para su consumo en fresco, dentro del cual prácticamente en su totalidad se consume en el país (264,000 toneladas por año) con exportaciones marginales menores al 4%, dando como resultado un potencial de comercialización limitado, que afecta la rentabilidad de las plantaciones y con ello la economía de los productores (Bosquez, 2001; SAGARPA, 2001; ASERCA, 2002).

3.2 Antecedentes técnico científicos

3.2.1 Botánica del limón Mexicano

De acuerdo a la siguiente clasificación taxonómica el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) pertenece a la familia de las Rutaceas, al género *Citrus* y a la especie *aurantifolia* (Gravina, 1985):

- Reino: Vegetal
- Orden: Geraniales
- Familia: Rutaceae
- Subfamilia: Aurantioideae
- Tribu: Citrinae
- Subtribu: Citrinae
- Género: Citrus
- Subgénero: Eucitrus
- Especie: *aurantifolia*

Botánicamente, el limón mexicano es una lima ácida o amarga (variedad mexicana). Se distingue del limón persa por su menor tamaño y presencia de semillas, además tiene una composición química diferente que le hace más ácido y con un contenido de vitamina C ligeramente menor (Muñoz, 1993). A su vez existe diferencia entre la fisonomía de los árboles, el limón mexicano es más pequeño, sus hojas son menores y las ramas poseen mas espinas (Gómez *et al.*, 1994).

Las características botánicas del genero *Citrus* son las siguientes: hojas dotadas de glándulas, persistentes, aparentemente simples (en realidad compuestas de hojas unifoliadas) insertadas sobre pedúnculos que se articulan a las hojas y al tallo; las espinas por lo general presentes, nacen solitarias en las axilas de las yemas foliáceas; las flores son blancas o con manchas purpúreas en los botones y por lo general poseen cinco pétalos (raramente cuatro o seis) gruesos, alargados en forma de cinta o correa, contienen numerosos estambres 16 a 60 (aunque generalmente de 20 a 40); por regla general el número de pétalos unidos cerca de la base, forman algunas haces; crecen en racimos o raramente solitarias en las axilas de las hojas laterales o terminales, el fruto es globuloso, oval u oblonga esferoidal; los gajos llenos de una pulpa jugosa, se componen de sacos de 6.3 a 18.8 mm de largo (Columba y Figueroa, 1987).

La especie *aurantifolia* se reconoce por lo siguiente: frutos ovales, a menudo con una punta estilar pequeña, de 25 a 37 mm., de diámetro en su eje

menor, de color amarillo verdoso cuando están maduros; de cáscara delgada y lisa, flores pequeñas y blancas o de color verde pálido en el haz, más o menos terminadas en punta, obtusa y con espinas muy cortas y puntiagudas (Columba y Figueroa, 1987).

3.2.2 Características y composición química

La lima (*Citrus aurantifolia* Swingle) es una de las especies de agrios más delicadas, por lo que es muy propensa a sufrir daños por heladas. Sus usos (además de consumirse en fresco), son múltiples, utilizándose tanto la corteza como el jugo para la obtención de aceite esencial y pectinas de alta calidad muy cotizadas en la industria farmacéutica, alimenticia y perfumería. Del mismo modo, sus frutos son ácidos y muy aromáticos, con una acidez en el jugo que alcanza valores promedio tan elevados como 7.7%, y con un bajo contenido de sólidos solubles totales (0.3%) principalmente representados por el ácido cítrico (5-7%) y en menor proporción carbohidratos que incluyen sacarosa, glucosa, fructosa, más trazas de azúcares (Columba y Figueroa, 1987; Wardowki *et al*, 1986; Sanlunkhe, 1995).

El agua se encuentra en el fruto en una proporción del 89%. La principal vitamina contenida es la vitamina C y conforme avanza el estado de madurez el contenido de ésta decrece. El jugo también contiene vitamina B, provitamina A (carotenoides), biotina, ácido fólico, piridoxina, inositol, riboflavina, tiamina y niacina; además de contener un alto contenido de potasio (100-350 mg/100g y bajo contenido de sodio (01-100 mg/100g). Las proteínas son relativamente insolubles y se encuentran asociadas con las porciones sólidas del fruto (semillas, flavedo, albedo y pulpa). Los carbohidratos insolubles (celulosa y pectina) proveen el material estructural. La cáscara es particularmente rica en pectina (Sanlunkhe, 1995).

La acidez característica está dada principalmente por el ácido cítrico, aunque existen también el ácido málico, oxálico, benzoico, succínico y malónico en pequeñas proporciones (Sanlunkhe, 1995)

Sin embargo, la acidez representa también ciertos problemas que limitan la dosificación de sus productos a escala industrial, como la gran facilidad con que se alteran sus cualidades sensoriales ante cualquier tratamiento y el contenido en principios amargos (flavonoides) que pueden interferir en su característico sabor fresco (Angulo y Velazco, 1987; Reyó, 1990).

3.2.3 Morfología del limón mexicano

Muchos estudios y revisiones bibliográficas, describen la morfología del limón de diversas formas, pero en específico los cítricos están constituidos principalmente de tres partes: el *epicarpio*, el *mesocarpio* y el *endocarpio* (Safina, 1979). Comúnmente, epicarpio y el mesocarpio en conjunto, son denominados cáscara o corteza (Figura 5) (Angulo y Velazco, 1987).

Al epicarpio, (parte coloreada de la cáscara), se le denomina flavedo, y está compuesto por el epicarpio, hipodermis y mesocarpio exterior. En ésta parte se encuentran los pigmentos (cloroplastos y cromoplastos). Estas células con plastidios, inicialmente contienen clorofila y gradualmente se transforman en cromoplastos cuando la fruta pierde el color verde (Sinclair, 1984; Taylor, 1993; Wardowski *et al*, 1986).

Las capas de células sin color, llamada hipodermis y mesocarpio externo, están inmediatamente abajo del epicarpio y contiene las glándulas de aceite. El aceite es altamente fitotóxico, el cual causa necrosis de las células del epicarpio si las glándulas son rotas por abrasión o por un golpe, la lesión característica se llama "oleocelosis" con la consecuente aparición de manchas que revelan la oxidación del tejido (Wardowski *et al*, 1986).

El mesocarpio, llamado comúnmente albedo, es la fracción interna de la cáscara blanca, constituida principalmente de celulosa, carbohidratos, sustancias pécticas (protopectina y pectina), flavonoides, aminoácidos y vitaminas, mientras el endocarpio o pulpa, que es la parte comestible del cítrico, está compuesta de segmentos triangulares no muy permeables, (gajos o carpelos) que en su interior contienen las vesículas o sacos de jugo y las semillas (Sinclair, 1984).

Las vesículas están compuestas de celulosa, hemicelulosa, protopectina, pectina, azúcares, flavonoides, aminoácidos, vitamina C, sales minerales entre otros (Sinclair, 1984).

El jugo se localiza dentro de las vesículas y esencialmente contiene todos los ácidos titulables (incluyendo la vitamina C) y otros materiales solubles como aminoácidos, carbohidratos (glucosa, fructosa y sacarosa), ácidos orgánicos, sales minerales, cristales de oxalato de calcio y limonina (triterpenoide dilactónico que contribuye al sabor amargo del jugo) (Taylor, 1993; Rey, 1990).

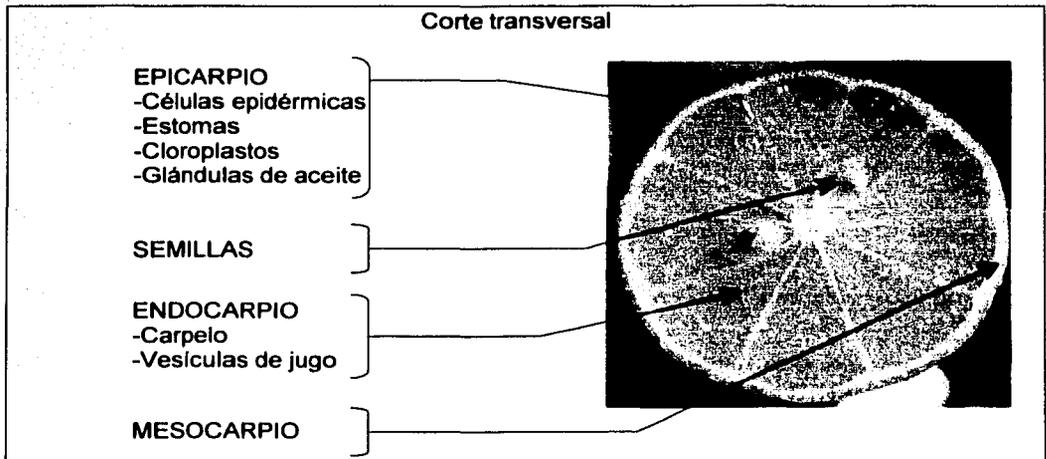


Figura 5. Morfología del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) (Safina, 1979).

3.2.4 Métodos para conservar en fresco el limón mexicano

Es ampliamente conocido que los productos vegetales continúan vivos después de la cosecha y que por consiguiente su actividad metabólica (respiración, transpiración, maduración) los conducirá a alcanzar la madurez comestible (si son climatéricos) o la senescencia (si son no climatéricos) como en el caso de los cítricos, lo cual ocurrirá en corto tiempo a menos que se apliquen las tecnologías adecuadas para retardar estos procesos (Bosquez *et al.*, 2000).

Con el objetivo de retardar estas reacciones, se han desarrollado diversas tecnologías para la conservación en fresco de los cítricos, entre las que destacan la refrigeración, el almacenamiento bajo atmósferas controladas y el encerado (el más común y económico), debido a que los dos primeros implican gastos de instalación, operación, consumo energético y mantenimiento, lo cual también incluye el transporte del producto durante su distribución a los diferentes canales de comercialización (Pelayo y Siade, 1978).

El empleo de las temperaturas de refrigeración consigue atenuar la velocidad de los procesos metabólicos y las reacciones catalizadas por enzimas, ya que por cada aumento de temperatura, se produce un aumento de la velocidad de reacción que lleva a la maduración y/o senescencia de los frutos (Jay, 1992), estos

procesos y reacciones se reducen a la mitad cuando la temperatura de conservación desciende 10°C; lo anterior incluye la velocidad de las respuestas fisiológicas y las reacciones bioquímicas inherentes a la respiración, biosíntesis y acción del etileno, degradación de la clorofila, así como los cambios en los constituyentes químicos con el consecuente aumento de la vida útil del producto y preservación de su calidad (Pelayo y Siade, 1978). De este modo las pérdidas de peso y daños por marchitamiento debidas a la transpiración son menores conforme se reduce la temperatura y aumenta la humedad relativa (H.R.) del aire circundante. Por otro lado la germinación de esporas y desarrollo de microorganismos causantes de pudriciones, resultan tanto menores conforme más baja es la temperatura de almacenamiento (Jay, 1992).

Sin embargo, no todas las variedades de cítricos presentan una misma respuesta a las bajas temperaturas, existiendo en cada caso una temperatura considerada como crítica, en la cual el fruto puede ser almacenado el mayor periodo de tiempo sin perder las características correspondientes de buena calidad en el aspecto general, textura, color y sabor. Se ha reportado que la temperatura crítica para el limón Mexicano es a 10°C con 85-90% de HR; estableciéndose como periodo máximo de conservación 30 días (Saucedo *et al.* 1979); debajo de esta temperatura se presentan alteraciones fisiológicas por el rompimiento del equilibrio de los procesos metabólicos conocidas como daños por frío (en inglés, *chilling injury*) que ocasionan una significativa pérdida de la calidad comercial, que incluye manchas de color marrón constituidas por pequeñas depresiones en la superficie del flavedo, y/o manchas de color pardo irregulares y difusas que se extienden a la superficie del fruto. Cuando el daño es severo, el fruto se torna muy blando debido al incremento en la actividad en la enzima peptinesterasa que produce la solubilización de la pectina alterándose la integridad y permeabilidad de la membrana biológica. A medida que la temperatura desciende parece establecerse una relación entre la sensibilidad de la membrana y su permeabilidad (Morris, 1982; Yi, 1994)

La manifestación de este fenómeno puede darse en la propia cámara de conservación, siempre después de un cierto tiempo de permanencia en frío. La aparición de los síntomas se manifiestan totalmente cuando el fruto es transferido a temperatura ambiente y el riesgo es tanto mayor, cuanto más es el tiempo de permanencia del fruto en la cámara y menor sea la temperatura (Elhadí, 1992; Martínez-Jávega, 1986).

Lo anterior permite establecer la importancia de la selección de las temperaturas y tiempos de conservación específicas, puesto que diversos factores de carácter agroclimatológico, de manejo de la plantación y de cosecha, pueden cambiar las condiciones de almacenamiento requeridas (Saucedo y Arana, 1993). En el caso de los cítricos cuando se almacenan en condiciones adecuadas de temperatura, humedad y composición de la atmósfera y son comercializados en un periodo razonable de tiempo, la calidad de los frutos después del periodo de almacenamiento refrigerado no difiere significativamente del que poseían al ser cosechados (Anaya y Escalona, 2000).

Por otra parte, la aplicación de recubrimientos eficaces para reducir la actividad respiratoria en productos vegetales frescos, de una manera análoga al almacenamiento en atmósferas controladas, sería altamente deseable, tomando en cuenta el efecto que la temperatura puede tener en la funcionalidad del recubrimiento, ya que la modificación de las composición atmosférica interna sería mayor conforme se eleve la temperatura de almacenamiento (Bosquez *et al.*, 2000).

3.2.5 Recubrimientos

Las películas o recubrimientos comestibles representan una alternativa a los materiales comerciales de empaque que se emplean en los productos alimentarios ya que son menos costosos que los plásticos. Por otra parte incrementan la conservación de alimentos frescos (frutas y hortalizas), congelados y procesados y pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en su comercialización, como el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad (al extender su vida de anaquel) y economía, al realizar una o más funciones como las siguientes:

- Barreras a gases y vapor de agua
- Vehículos de otros ingredientes
- Efecto en la apariencia, textura y manejo
- Efecto en la calidad sensorial

- *Materiales y propiedades*

Dentro de los principales materiales que constituyen a las películas o recubrimientos comestibles se encuentran, los hidrocoloides (polisacáridos o proteínas) y los lípidos así como la combinación de ambos (compuestos combinados o multicomponentes) (Greener y Fennema, 1984).

- **Polisacáridos (Quitosano)**

Las cubiertas formuladas con polisacáridos (celulosa, pectina, almidón, alginatos, quitosano, carragenina y gomas) ofrecen una buena barrera a los gases (O₂ y CO₂) y se adhieren bien a las superficies cortadas de frutas y hortalizas. Sin embargo, su funcionalidad como barrera contra la pérdida de humedad es pobre debido a su naturaleza hidrofílica (Baldwin *et al*, 1995).

El quitosano por su potencial como recubrimiento para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas es un polisacárido que está adquiriendo popularidad, ya que además de poseer propiedades antifugales y capacidad para formar películas, reduce la cinética de procesos biológicos vitales de los tejidos vegetales como la tasa de transpiración y respiración aumentando de este modo su vida de anaquel (El Ghaouth *et al*, 1992; Zhang, 1998). Utilizando este polímero como formador de películas y preservativo natural, se ha desarrollado comercialmente una cubierta para frutas diferencialmente permeable llamada Nutri-Save (Bosquez *et al*, 2000).

Existen varias investigaciones acerca de su uso con este fin (El Ghaouth, 1991 y 1992; Hernández, 2001; Zhang, 1998). En todos los tratamientos se observó un efecto significativo en la tolerancia de las infecciones causadas por hongos, reducción de la respiración, producción de etileno y pérdidas de peso por transpiración, dando como resultado una mejor apariencia y firmeza en los productos en que se aplicó.

El quitosano es un sólido blanco en forma de hojuelas que en ocasiones posee algún grado de pureza (Knorr, 1991). Es insoluble en agua y soluble en soluciones al 1% de ácidos orgánicos después de agitación y calentamiento moderado prolongado, es biocompatible, toxicológicamente inócuo y biodegradable (Sandford, 1989) además tiene la propiedad de protección contra agentes patógenos al fortalecer las defensas naturales de los tejidos vegetales en que se aplique, interfiriendo directamente sobre el desarrollo de hongos, ya que funciona como una cubierta antimicrobiana en las superficies de las frutas y hortalizas. El efecto es directo al inhibir el crecimiento microbiano, e indirecto al reducir la velocidad del proceso de maduración y crear una microatmósfera inconveniente para su desarrollo (El Ghaouth² *et al*, 1991; Zhang, 1998).

El quitosano se obtiene de la quitina, compuesto que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, constituyendo el segundo polímero más

abundante, después de la celulosa (Knorr, 1984; Mathur, 1990). La quitina esta presente en la gran mayoría plantas, hongos y levaduras (*Aspergillus niger* 45%, *Mucor rouxi* 45%, *Penicillium natatum* 20% y *Saccccharomices cerevisiae* 3%) como el principal polímero fibrilar responsable de la rigidez y la forma a la pared celular; (Knorr, 1984; Roller, 1999). Las fuentes marinas como crustáceos, moluscos (almejas y ostiones) y esqueletos de calamar contienen cantidades significativas de este polímero, y han sido la mejor opción para la producción comercial por la gran abundancia de desperdicios de sus caparazones con un valor estimado en 1.2×10^5 toneladas métricas anuales (Shirai, 1996).

Estructuralmente la quitina (Figura 6) es un polisacárido lineal de alto peso molecular constituido de unidades de N-acetil-D-glucosamina (N-acetil-2-amino-2-deoxi-D-glucosa), unidas por enlaces β (1-4). Este polímero es similar a la celulosa con la diferencia del grupo 2-OH en cada unidad de glucosa el cual se encuentra sustituido por un grupo amino acetilado (-NHCOCH₃) (Mathur, 1990).

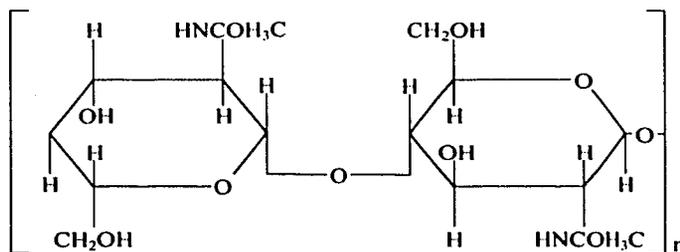


Figura 6. Estructura Molecular de la quitina

Su nombre proviene de la palabra griega “Chiton” que significa “protector” porque su función es como cubierta protectora de los invertebrados (Mathur, 1990).

Las unidades celulares contienen dos cadenas intra e intermolecular de quitina con enlaces de hidrógeno que hacen que tenga una conformación torcida similar a la de la celulosa (Knorr, 1991).

Su peso molecular varía con la fuente, sin embargo se calcula un promedio de 1.036×10^6 daltons a pesar de que se encuentre parcialmente desacetilada en su forma natural (Mathur, 1990).

El quitosano por su parte (Figura 7) es la forma desacetilada (>70%) de la quitina (aunque la diferencia entre la quitina y el quitosano es arbitraria, ya que las

formas totalmente acetiladas no existen, al polímero que presenta mayor acetilación se le denomina quitina y al más desacetilado quitosano). Se obtiene por medio de un tratamiento en el que se remueven parcial o totalmente los grupos acetilos unidos al grupo amino, resultando un polelectrolito catiónico, de alto peso molecular (1.2×10^5 daltons), el cual está formado por unidades de 2-desoxi-2-aminoglucosa con enlaces $\beta(1-4)$. La desacetilación se realiza con álcalis concentrados (NaOH) a altas temperaturas para hidrolizar el enlace N-acetil y obtener así el quitosano (Knorr, 1984; Roller, 1999).

Se puede comparar con un derivado de la celulosa, en el cual, cada C-2 tiene un grupo amino en lugar de un grupo hidroxilo (OH). Este polisacárido es soluble en soluciones ácidas diluidas y el grupo amino está libre haciéndolo una amida primaria (Butler, 1996).

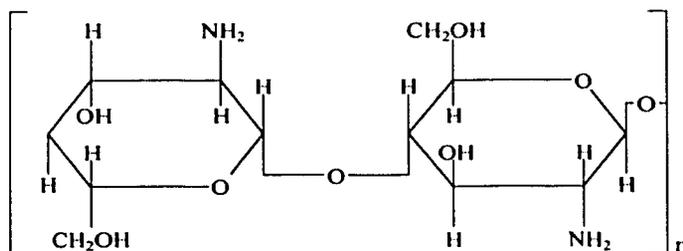


Figura 7. Estructura molecular del Quitosano

- *Lípidos (Cera de abeja y Cera de candelilla)*

Los recubrimientos a base de lípidos como ingredientes mayoritarios se han empleado en productos vegetales perecederos para retardar la deshidratación y alargamiento de vida de anaquel y se elaboran con ceras y aceites como la parafina, cera de abejas, cera de carnauba, cera de candelilla, aceite mineral, aceite vegetal, monoglicéridos acetilados entre otros (Kaplan, 1986). Generalmente estas cubiertas son significativamente más resistentes contra la humedad y se han utilizado en frutas y hortalizas para extender su vida postcosecha, pero frecuentemente tienen limitaciones por el hecho de que desarrollan sabores no deseables y generan condiciones anaeróbicas por sus características de baja permeabilidad a gases (Baldwin *et al*, 1997). Por otra parte, las ceras naturales tienen mejor efecto que las resinas ya que inhiben la producción de etanol el cual en altas cantidades también da lugar a un proceso anaerobio (Greener y Fennema, 1994).

La aplicación de una capa lipídica sobre la superficie de frutas y hortalizas restituye la cera natural de la cutícula que ha sido removida parcialmente durante el lavado. La remoción de la cera superficial natural incrementa la tasa de transpiración y puede también aumentar la de respiración, acelerando la senescencia acortando la vida de anaquel, donde la reducción de la tasa de transpiración es particularmente importante en frutas y hortalizas no-climatéricas (Bosquez *et al.*, 1993).

Existen evidencias del potencial protector que pueden conferir estos recubrimientos para reducir o evitar el desarrollo de fisiopatías por efecto de una menor transpiración, tal es el caso de la aplicación del encerado por Broocks y McCulloch (1936) en toronjas antes de almacenarlas a temperaturas y humedades bajas lo que disminuyó en los frutos el desarrollo del daño por frío, por su parte Morris y Platenius (1938) reportaron el mismo efecto junto con una menor tasa de transpiración al cubrir pepinos con una película delgada de parafina y cera carnauba después de 13 días de almacenamiento a 0.5°C. Más recientemente y de nuevo en toronja la aplicación de una cubierta con aceite vegetal o emulsión de aceite vegetal-agua antes del almacenamiento a 3°C demostró retardar y reducir notablemente el desarrollo de los síntomas del daño por frío incluyendo melones gota de miel almacenados a la misma temperatura (Edwards y Blennrhassett, 1994).

En el caso de los cítricos el empleo comercial de formulaciones de cera está mucho más extendido. La emulsión se asperja sobre el producto limpio y seco mientras que éste va pasando por debajo de un juego de espreas fijas o móviles que voltean la fruta conforme se va aplicando el recubrimiento sobre una banda de cepillos enceradores rotatorios (Bosquez *et al.*, 2000). La mayoría de los recubrimientos que se emplean actualmente son muy similares a los que se aplicaban en el pasado (Baldwin, 1997). Las llamadas “ceras acuosas” que son las más empleadas están elaboradas principalmente con agua, shellac y/o rocín de madera, una pequeña cantidad de morfolina, ácido oleico y frecuentemente una cera polietilénica. También se encuentran disponibles a nivel comercial las “ceras en solventes”, pero ya no son tan populares en la industria debido a que el éter de petróleo es costoso y se requiere de sistemas de ventilación especiales que permitan la evaporación del solvente y los sólidos depositados sobre la superficie del fruto, alterando el ambiente (Kaplan, 1986).

La cera de abeja, es de origen animal y es obtenida de forma “cruda” a partir de la secreción abdominal de las colmenas (*Genus apis*) al construir sus panales y ser éstos fundidos en agua a ebullición para extraer la fase oleosa (Bennett, 1975).

Su color varía de amarillo pardo a café y blanco en su forma más pura, tiene un aroma característico similar al de la miel (Bennett, 1975). Es quebradiza y tiene la propiedad de no adherirse a los dientes al ser masticada (Warth, 1956).

Químicamente es una mezcla de esteroides, ácidos grasos, alcoholes superiores e hidrocarburos de alto peso molecular, siendo los esteroides más comunes los derivados del miricilo combinados con ácido palmítico y ácido cérico como el éster, miricil palmitato el cual tiene la composición $C_{15} H_{31} CO-O-C_{30} H_{61}$ (Warth, 1956).

Por su parte la cera de candelilla es de origen vegetal y se obtiene a partir de la capa superior de los tallos de *Euphorbia antisiphilitica*, la cual crece en terrenos cálidos, secos o desérticos, al suroeste de los Estados Unidos y norte de México en altitudes que varían entre los 900 y 1800 metros sobre el nivel del mar (Hagenmaier y Baker, 1996).

De estructura amorfa, es compatible con todas las ceras vegetales y animales, con una gran variedad de resinas sintéticas y naturales así como con ácidos grasos hidrocarburos (en ciertas proporciones). No emulsifica o saponifica tan fácilmente. La cera de candelilla no es tóxica, es de dura textura y de aspecto transparente y limpio al encontrarse fundida. Es insoluble en agua y soluble en disolventes orgánicos como: acetona, cloroformo, tetracloruro de carbono y benceno (Hagenmaier y Baker, 1996).

Ha sido utilizada como cubierta de frutas cítricas desde 1974. Se ha reportado que posee un mayor control sobre la permeabilidad al vapor de agua que la cera de carnauba y de abeja en un 55% y 31% respectivamente. Su principal propiedad al aplicarse en cítricos, es su alta capacidad de regular el flujo de O_2 y CO_2 , lo cual permite una reducción del CO_2 interno en el fruto, elevando el O_2 presente y evitando así la tendencia a desarrollar otros sabores como con las cubiertas de shellac y resinas de madera, proporcionando el sabor y la frescura de las frutas con una baja pérdida de peso a pesar de que estéticamente muestren un bajo brillo (Hagenmaier y Baker, 1996).

Estudios indican que la calidad de limones, naranjas y toronjas se mantuvo durante 2-4 meses con la aplicación de una formulación a base de cera de candelilla al almacenarse a temperatura ambiente ($20^{\circ}C$, 65-75% HR) (Lakshaminarayana *et al.*, 1974; Paredes-Lopez *et al.*, 1974; Siade *et al.*, 1975).

En limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) varios autores han probado esta cera para prolongar su vida postcosecha. En todos los tratamientos se observó un efecto significativo en la reducción de las pérdidas de peso por transpiración junto con los daños por frío, (Lakshminarayana *et al.*, 1974; Chavez, *et al.*, 1993; Saucedo *et al.*, 1978) lo cual también incluye la extensión de vida de almacenamiento del fruto bajo condiciones ambientales por 45 días sin que se haya controlado la degradación de clorofila, a diferencia de Chávez *et al.*, (1993) los cuales reportaron que la combinación de esta cera, tiabendazol (TBZ) 500 ppm y ácido giberélico (GA3) 250 ppm a 10°C, 85-90% H.R. mantiene una mayor calidad en limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) almacenado durante 4 semanas conservando su color verde fresco. No obstante advierten que la respuesta fisiológica de los frutos bajo condiciones de almacenamiento y tratamientos postcosecha dependen en gran medida del periodo de cosecha. (Chávez *et al.*, 1993). Un estudio análogo en la toronja indica que la aplicación de TBZ en la cera reduce hasta un 50% el daño por frío (Chalutz *et al.*, 1985).

- *Uso potencial de la combinación de polisacáridos y lípidos en la conservación postcosecha de frutas y hortalizas*

Con la intención de aprovechar las propiedades de los polisacáridos y lípidos (ceras y aceites), muchas de las formulaciones desarrolladas recientemente están elaboradas con distintas combinaciones de los materiales mencionados. En estas cubiertas, el uso de 2 ó más materiales simplemente combinados ofrecen una barrera semipermeable a gases y vapor de agua, que reduce la velocidad de los procesos naturales como la deshidratación y la respiración que dan como resultado una mejor textura, al mantener la turgencia y las características de frescura en vegetales enteros o productos mínimamente procesados (Gontard, 1992).

Este tipo de recubrimientos se han utilizado para reducir la velocidad de degradación de la clorofila del flavedo de limas y limones (ya que el color verde en estos productos se asocia con una condición de fresco). En este caso el retardo en la degradación de la clorofila se atribuye a la creación de la atmósfera modificada interna. Los recubrimientos más eficaces para este propósito han resultado ser aquellos que contienen un polisacárido con aceite de soya para limas y aceite mineral para limones (McHugh *et al.*, 1993).

Capítulo IV

Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto de recubrimientos formulados a base de quitosano combinado con dos ceras de origen natural (candelilla y abeja) en diferentes proporciones, sobre la calidad postcosecha del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) almacenado a 10 y 8°C.

Objetivos particulares

- Evaluar la eficacia de cada uno de los recubrimientos formulados (quitosano-abeja, quitosano-candelilla y quitosano-abeja/candelilla) en la conservación en fresco del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) en función de los parámetros de pérdida fisiológica de peso (PFP), color, daño por frío, contenido de sólidos solubles totales, porcentaje de jugo y acidez titulable.
- Establecer cual de los recubrimientos estudiados y en que proporción, conserva mejor la calidad del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle).

Capítulo V

Hipótesis

Los recubrimientos aplicados en el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) a base de quitosano y las dos ceras conservará la calidad postcosecha del producto con un mayor tiempo de vida útil comparado con los frutos que no recibieron este tratamiento.

Capítulo VI

Metodología

La metodología se dividió en dos etapas:

Etapa 1. En esta etapa se evaluó el efecto de recubrimientos emulsionados formulados a base cera de abeja y cera de candelilla en combinación con quitosano, (quitosano-abeja, quitosano-candelilla y quitosano-abeja/candelilla) sobre los frutos de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) almacenados a 10°C (93.0% HR)*, durante 24 días. A su vez esta etapa se dividió en tres partes:

- Aplicación de recubrimientos a base de quitosano-abeja
- Aplicación de recubrimientos a base de quitosano-candelilla
- Aplicación de recubrimientos a base de quitosano-abeja/candelilla

* *Se ha reportado como temperatura crítica para limón mexicano 10°C con 85-90% HR (Saucedo et al, 1979)*

Etapa 2. Durante esta parte se evaluó el efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano, cera de abeja y cera de candelilla en una proporción variable dentro de las dos últimas, pero manteniendo la relación constante polisacárido-material lipídico de 1:0.2 en toda la formulación, debido a que la mezcla de las dos ceras en una relación de 0.2 con respecto al quitosano demostró en la anterior etapa un efecto significativo sobre el control de la transpiración de los frutos y cambio de color. Por otro lado se propuso que los recubrimientos formulados a base de estos materiales se compararan contra la cera comercial aplicada en la región, almacenándose a una menor temperatura (8°C, 87-93% HR).

6.1 Metodología para la primera etapa

a) Material biológico

Se utilizó limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) proveniente de la región de Tecomán (Colima, México), cosechado durante los meses de julio y agosto de 2001.

Se adquirió un total de 180 kg del fruto (números 3 y 4) de los cuales se seleccionaron un total de 1680 limones, tomando en cuenta su color (verde oscuro), su tamaño (uniforme) y sin ningún tipo de deterioro visual como pudieran ser manchas, heridas, hundimientos o algún tipo de daño. Los frutos se dividieron en lotes de 140 frutos cada uno para la aplicación por inmersión de los siguientes tratamientos:

b) Tratamientos

- 1.- Control (sin recubrimiento)*
- 2.- Formulación quitosano : cera de abeja = 1 : 0.2
- 3.- Formulación quitosano : cera de abeja = 1 : 0.4
- 4.- Formulación quitosano : cera de abeja = 1 : 0.6
- 5.- Formulación quitosano : cera de candelilla = 1 : 0.2
- 6.- Formulación quitosano : cera de candelilla = 1 : 0.4
- 7.- Formulación quitosano : cera de candelilla = 1 : 0.6
- 8.- Formulación quitosano : cera de abeja y cera de candelilla = 1 : 0.2
- 9.- Formulación quitosano : cera de abeja y cera de candelilla = 1 : 0.4
- 10.- Formulación quitosano : cera de abeja y cera de candelilla = 1 : 0.6

* Cada juego de formulaciones (quitosano/abeja y quitosano/candelilla quitosano/abeja-candelilla) contó con su respectivo control

c) Condiciones de almacenamiento

Los frutos se almacenaron a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% HR), durante 24 días. Los muestreos se realizaron a los 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 días del experimento.

6.2 Metodología seguida para la segunda etapa

a) Material biológico

Se utilizó limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) proveniente de la región de Tecomán (Colima, México), cosechado el mes de octubre 2001.

Se adquirieron 80 kg del fruto (número 3 y 4) de los cuales se seleccionó una cantidad de 980 limones, tomando en cuenta las mismas características de la anterior etapa. Los frutos se dividieron en 7 lotes de 140 frutos cada uno para la aplicación por inmersión de los siguientes tratamientos:

b) Tratamientos

- 1- Control (sin recubrimiento)
- 2- Cera comercial (la que se aplica en la región)
- 3- Formulación quitosano : cera de abeja y candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1 abeja-candelilla)
- 4- Formulación quitosano : cera de abeja y candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:0.5 abeja-candelilla)
- 5- Formulación quitosano : cera de abeja y candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:0.25 abeja-candelilla)
- 6- Formulación quitosano : cera de abeja y candelilla = 1 : 0.2 (relación 0.5:1 abeja-candelilla)
- 7- Formulación quitosano : cera de abeja y candelilla = 1 : 0.2 (relación 0.25:1 abeja-candelilla)

c) Condiciones de almacenamiento

Los frutos se refrigeraron a 8°C (87-93% HR), durante 24 días. Los muestreos se realizaron a los 0, 4, 8, 12, 16, 20 y 24 días del almacenamiento.

- *Análisis inicial*

Se realizó seleccionando al azar 15 limones con el objetivo de determinar los parámetros de calidad de los frutos con los que se inició el experimento en lo que se refiere a su estado de madurez y calidad inicial.

- *Análisis durante el almacenamiento*

Se determinaron en las dos etapas, a lo largo del muestreo. Los parámetros fisiológicos evaluados fueron: daño por frío (DPF) (en términos de frecuencia e intensidad) y pérdida fisiológica de peso (PFP), mientras que los parámetros de calidad evaluados fueron: color, porcentaje de jugo, grados brix y acidez titulable.

Nota: En esta última etapa, el muestreo de los parámetros fisiológicos se realizaron en los días ya antes mencionados, mientras que análisis físicoquímicos (exceptuando color) se hicieron al inicio, a la mitad y al final del experimento, debido a que no se encontró una gran variación entre tratamientos a lo largo del almacenamiento, durante la primer parte.

6.3 Parámetros fisiológicos

a) Pérdida fisiológica de peso (PFP)

La pérdida de agua en estado de vapor de los tejidos vivos es conocida como transpiración. La pérdida de peso durante un almacenamiento ordinario es causada principalmente por la pérdida de agua en la fruta que se vaporiza de las células en los espacios intercelulares. En productos hortofrutícolas cosechados y almacenados, lo anterior se traduce físicamente en una pérdida de peso real y definitiva, por lo que se le denomina pérdida fisiológica de peso (Bosquez, 1992).

Esta PFP se determinó por triplicado, registrando los cambios de peso en los periodos establecidos en lotes de cinco limones cada uno, los cuales permanecieron constantes durante todo el experimento, utilizándose una balanza analítica OHAUS EXPLORER de precisión 4100x0.01g. Reportándose como porcentaje de pérdida fisiológica de peso de la siguiente forma:

$$\%PFP = 100 * \left[1 - \frac{P_a}{P_i} \right]$$

Donde: % PFP= Porcentaje de pérdida fisiológica de peso
Pa = Peso promedio de los frutos a lo largo del almacenamiento
Pi = Peso promedio inicial de los frutos

b) Daño por frío

Al tomar de manera aleatoria 5 limones por tratamiento para cada día de muestreo se calculó un porcentaje de aquellos frutos dañados (frecuencia) evaluándose la severidad del daño al medir el área afectada del fruto (intensidad), utilizando una escala subjetiva de cuatro niveles (Tabla 5):

Tabla 5. Escala de evaluación del daño por frío

Índice de DPF*	Severidad de DPF	% superficie dañada
0	Ausencia	0
1	Ligero	1-10
2	Moderado	11-25
3	Severo	26-100

Las evaluaciones se realizaron 24 horas después de extraer los frutos de las cámara de refrigeración y colocarlos a temperatura ambiente, debido a que la aparición de los síntomas se manifiestan totalmente cuando el fruto es transferido a esta temperatura (Elhadí, 1992; Martínez Jávega et al, 1986).

La evaluación cuantitativa del DPF se efectuó midiendo el diámetro ecuatorial del fruto, marcando su área dañada en papel celofán para su cuantificación al transferirse en papel milimétrico, obteniéndose finalmente el porcentaje de daño mediante los siguientes cálculos:

$$S_i = D^2 * \pi \quad \text{ó} \quad S_i = 4\pi r^2$$

Donde: D= Diámetro ecuatorial La anterior fórmula corresponde al área de una esfera.
 $\pi = 3.1415$
S_i= Superficie total del fruto Superficie total (S_i) ----- 100%
r= Radio Superficie dañada ----- X

6.4 Parámetros de calidad

a) Color

Se determinó por triplicado en lotes de 5 frutos utilizando una carta de color elaborada en el laboratorio de Fisiología y Tecnología postcosecha de Frutas y Hortalizas de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa para limones con la siguiente escala (Figura 8):

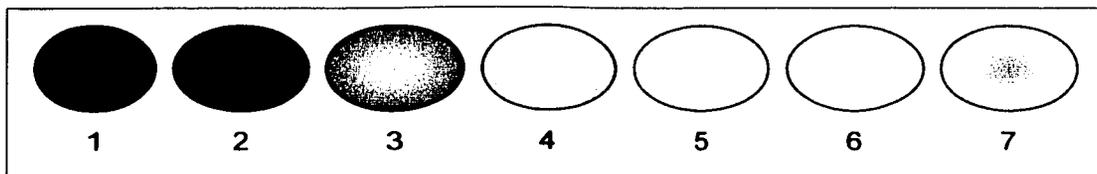


Figura 8. Carta de color del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle)

Esta carta de color se construyó en base a la tonalidad exhibida en estos frutos bajo los diferentes estados de maduración, asignándose valores de 1 a 7. Para clasificar a los limones dentro de esta carta, se requirió que el color predominara en una área del 75%, debido a que el color externo es uno de los factores más apreciables de calidad en los frutos cítricos y éstos alcanzan su madurez interna mientras que el color verde externo tiende a degradarse (Bosquez, 1992).

b) Porcentaje de jugo

Se determinó midiendo el volumen del jugo extraído por diferencia de peso con respecto a los frutos enteros por triplicado en lotes de cinco limones, de acuerdo a la norma (NOM-FF-331-A-1981). El jugo de las muestras se obtuvo mediante un extractor eléctrico Philips vitesse HR 2796 el cual se filtro y se peso en una probeta previamente tarada calculándose entonces el porcentaje de jugo de la siguiente forma:

$$\%P_j = \left[\frac{P_j * 100}{P_l} \right]$$

c) Grados Brix y acidez titulable

°Brix.- Se utilizó un refractómetro de mano Erma de 0-32% No. 14952, depositando una gota del jugo de limón extraído de cada uno de 3 los lotes correspondientes sobre la superficie del prisma del instrumento previamente calibrado con agua destilada realizando posteriormente la lectura directamente por triplicado. Se reportó como *°Brix*.

Acidez titulable (AOAC, 1995).- Se midió neutralizando el jugo o extracto de fruta con NaOH 0.1N usando fenoftaleína como indicador. Se reportó como % de ácido cítrico de acuerdo a lo siguiente

$$\% \text{ de ácido cítrico} = \left[\frac{V_{\text{NaOH}} * N_{\text{NaOH}} * \text{meq} * \text{fd} * 100}{V_{\text{aliquota}}} \right]$$

Donde:

V_{NaOH} = Volumen de sosa gastada

N_{NaOH} = Normalidad de la sosa

meq = Millequivalentes del ácido cítrico (0.064)

fd = Factor de dilución (volumen final / volumen inicial)

V_{aliquota} = 10mL de muestra analizada

6.5 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se trataron estadísticamente utilizando el análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia de $\alpha \leq 0.05$ a través del programa "Statistical Analysis System"(SAS). Los casos que mostraron tener diferencias significativas entre tratamientos se les aplicó la Prueba de Duncan (comparación de medias de tratamiento).

Capítulo VII

Resultados y discusión

El desarrollo experimental se dividió en dos etapas. Durante la primer etapa se evaluó el efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano en combinación con cera de abeja y cera de candelilla: (quitosano:abeja 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6; quitosano:candelilla 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6; y quitosano:abeja-candelilla 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6) sobre los frutos de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle). En la segunda etapa con base a la información obtenida se evaluó una serie de recubrimientos reformulados a partir del que mostró el mayor efecto sobre la fisiología postcosecha de los frutos en términos de pérdida fisiológica de peso, y color, evaluando los mismos parámetros, pero bajo condiciones más extremas (temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$).

7.1 Primera etapa

Evaluación del efecto de recubrimientos emulsionados formulados a base cera de abeja y cera de candelilla en combinación con quitosano, (quitosano-abeja, quitosano-candelilla y quitosano-abeja/candelilla)

Se presentan los resultados del efecto comparativo de los siguientes recubrimientos: quitosano:abeja 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6; quitosano:candelilla 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6; y quitosano:abeja-candelilla 1:0.2, 1:0.4, 1:0.6. Los parámetros en los que se observaron efectos significativos ($\alpha \leq 0.05$) fueron los de PFP y color; mientras que en composición química no se registraron diferencias dentro los tratamientos aplicados.

7.1.1 Parámetros fisiológicos

- a) *Pérdida fisiológica de peso (PFP).*

Los recubrimientos aplicados controlaron la PFP ($\alpha \leq 0.05$); sin embargo, entre tratamientos se observaron diferencias significativas (Tabla 6). De las formulaciones comparadas, la que controló mejor la PFP fue la de quitosano:abeja-candelilla seguida por la de quitosano:abeja y la de quitosano:candelilla, determinándose al final del almacenamiento pérdidas de peso del orden de: 24.80% 20.96% y 20.77%, respectivamente. De las proporciones del material lipídico utilizadas en cada formulación, se encontró que la relación quitosano-material céreo 0.2:1.0 en los 3 casos resultó ser la más eficaz (Figura 9). Lo anterior revela que a menores concentraciones de material lipídico (cera de abeja, candelilla o ambas) se forma una barrera más eficiente contra la pérdida de humedad. Observándose además, que la combinación de estas ceras dentro de la formulación actúan de manera sinérgica (mayor efecto juntas), siendo la formulación quitosano:abeja-candelilla 1:0.2 la más eficaz sobre el control de la transpiración de los frutos.

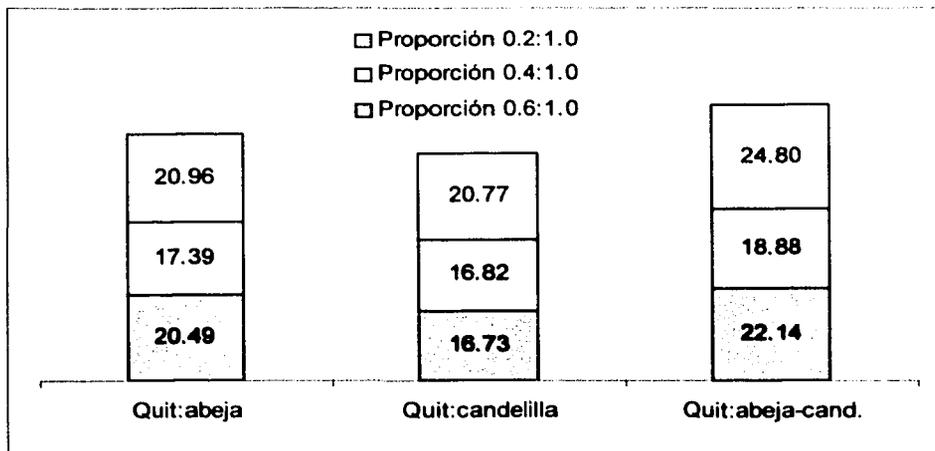


Figura 9. Comparación de porcentajes de PFP (en base al control) en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% H.R.) y tratado con las formulaciones quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla a la fecha del último muestreo

En los limones control, fue posible observar valores de PFP próximos, ya que se registraron porcentajes que iban desde un 11.0 a 11.65% hacia el final del almacenamiento, lo que demuestra un comportamiento consistente en todos los

frutos recolectados en los diferentes tiempos de cosecha durante el experimento y almacenados bajo estas condiciones ($10\pm 1^{\circ}\text{C}$, 93.0% HR).

Por otro lado, no se observó un control proporcional de la PFP entre los limones tratados con los recubrimientos que contenían la mezcla de las dos ceras a medida que aumentaba su proporción dentro de la formulación, ya que los frutos tratados con la proporción 1:0.4 (quitosano:abeja-candelilla) mostraron una mayor pérdida de humedad ($\alpha\leq 0.05$) a diferencia de los demás recubrimientos en los que se encontraba mezclado el material lipídico.

Tabla 6. Efecto de los recubrimientos (quitosano: abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la pérdida fisiológica de peso (%PFP) en limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)

Recubrimiento	Proporción	Días de almacenamiento					
		4	8	12	16	20	24
Quitosano: Abeja	Control	2.10±0.13 a	3.89±0.32 a	6.20±0.08 a	7.92±0.06 a	9.45±0.12 a	12.59±0.05 a
	1:0.2	1.71±0.62 a	3.85±0.08 a	5.58±0.10 bc	7.19±0.34 b	8.85±0.52 a	9.95±0.22 b
	1:0.4	2.09±0.18 a	3.71±0.25 a	5.84±0.26 ab	7.63±0.63 ab	9.01±0.34 a	10.40±0.46 b
	1:0.6	1.90±0.17 a	3.73±0.29 a	5.31±0.59 c	7.52±0.32 ab	8.80±0.73 a	10.01±1.17 b
Quitosano: Candelilla	Control	2.44±0.37 a	4.81±0.74 a	6.86±0.98 a	8.62±0.91 a	9.61±0.52 a	11.65±0.65 a
	1:0.2	1.68±0.15 a	3.66±0.02 bc	5.53±0.20 bc	7.30±0.04 b	8.27±0.04 bc	9.23±0.20 b
	1:0.4	1.66±0.04 c	4.06±0.23 b	5.84±0.20 b	7.24±0.20 b	8.45±0.23 b	9.69±0.20 b
	1:0.6	1.65±0.04 b	4.10±0.23 b	5.69±0.20 bc	7.36±0.04 b	8.33±0.23 bc	9.70±0.20 b
Quitosano: abeja- candelilla	Control	2.44±0.37 a	4.81±0.74 a	6.86±0.98 a	8.62±0.91 a	9.61±0.52 a	11.65±0.65 a
	1:0.2	1.72±0.04 c	3.35±0.23 c	4.87±0.20 c	6.78±0.04 b	7.68±0.20 c	8.76±0.20 c
	1:0.4	1.98±0.04 bc	3.78±0.23 bc	5.58±0.20 bc	6.94±0.04 b	8.23±0.23 bc	9.45±0.20 cb
	1:0.6	2.24±0.04 ab	3.86±0.23 cb	5.50±0.20 cb	6.68±0.04 b	7.64±0.23 c	9.07±0.20 cb

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar. Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha\leq 0.05$).

A lo largo del almacenamiento se controló y mantuvo una HR alta (93%), ya que como factor externo puede propiciar una mayor cantidad de vapor de agua eliminada a través de la superficie si la atmósfera circundante es más seca que el medio interno (el cual ha sido reportado de entre 80 y 90% en cítricos) lo que traería como consecuencia una pérdida de peso real y definitiva debido a que el flavedo es delgado, permeable y está expuesto al medio ambiente (Chavez, *et al*, 1993; Saucedo *et al*, 1979).

- *b) Daño por frío*

Bajo estas condiciones de almacenamiento ($10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ (93%HR), no se observó una significativa pérdida de la calidad comercial debida a esta fisiopatía que se manifiesta como grandes depresiones de color pardo o notorias manchas irregulares y difusas extendidas en la superficie de los frutos afectados.

Los limones control (sin recubrimiento) presentaron daño por frío a partir de los 8 y 20 días de almacenamiento, mientras que los limones tratados con las formulaciones de quitosano con cera de abeja, cera de candelilla y la mezcla de ambas, presentaron los síntomas a los 8, 12 y 20 días, respectivamente (Tabla 7). En este último caso es importante señalar que esta fisiopatía solo se vio ligeramente atenuada en las muestras protegidas con la formulación en la que se mezclan las dos ceras, ya que el daño se manifestó hacia los últimos muestreos (día 20 y 24) con una intensidad calificada como ligera. Pudiéndose entonces establecer una relación entre PFP y DPF, ya que como se pudo apreciar, los limones cubiertos con esta formulación fueron los que registraron de manera significativa el menor porcentaje de PFP a lo largo y al final del almacenamiento, debido a que se asocia la transpiración de cítricos con la aparición y desarrollo de este tipo de lesiones (rompimiento celular e integridad de la membrana) ocasionados por la pérdida de humedad del flavedo (Markhart, 1986; McDonald, 1986).

Por otro lado, los frutos protegidos con los recubrimientos quitosano:candelilla 1:0.4 y quitosano:abeja-candelilla 1:0.4 y 1:0.6 manifestaron la mayor frecuencia (100%) e intensidad de muestras dañadas, siendo las muestras protegidas con la formulación quitosano:candelilla (1:0.4) las más afectadas sobre los demás tratamientos (Figura 10).

Tabla 7. Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la frecuencia e intensidad de daño por frío en limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) almacenado a 10±1°C (93.0% H.R.)

Tratamiento	Proporción	Días de almacenamiento														
		8			12			16			20			24		
		F	I	C	F	I	C	F	I	C	F	I	C	F	I	C
Quitosano: Abeja	Control	40	1.09	l	60	0.09	l	20	1.44	l	60	0.16	l	60	0.91	l
	1:0.2	60	0.32	l	60	0.38	l	0	0.00	a	0	0.00	a	60	1.28	l
	1:0.4	20	0.13	l	20	0.58	l	60	0.35	l	40	0.82	l	80	0.48	l
	1:0.6	40	3.41	l	20	0.17	l	0	0.00	a	60	1.92	l	60	2.23	l
Quitosano: Candelilla	Control	0	0.00	a	0	0.00	a	0	0.00	a	20	0.25	l	40	2.68	l
	1:0.2	0	0.00	a	20	0.21	l	40	0.10	l	40	1.23	l	60	4.69	l
	1:0.4	0	0.00	a	20	0.09	l	20	0.17	l	40	2.62	l	100	5.53	l
	1:0.6	0	0.00	a	20	0.22	l	20	0.31	l	20	0.70	l	80	1.04	l
Quitosano: Abeja- candelilla	Control	0	0.00	a	0	0.00	a	0	0.00	a	20	0.25	l	40	2.68	l
	1:0.2	0	0.00	a	0	0.00	a	0	0.00	a	60	0.90	l	80	2.03	l
	1:0.4	20	0.18	l	20	0.64	l	20	0.97	l	40	8.52	l	100	2.33	l
	1:0.6	0	0.00	a	20	0.64	l	20	1.45	l	60	15.26	m	100	1.44	l

F = Frecuencia (número de frutos dañados %)

I = Intensidad de daño (Porcentaje de intensidad de daño por frío tomando en cuenta la superficie dañada con respecto al área total de los frutos)

C = Categoría (a = ausencia, l = ligero, m = moderado, s = severo)

Lo anterior sugiere que las lesiones causadas por el DPF pudieron deberse a que se observó (a pesar de haberse realizado una selección) una considerable cantidad de limones dañados mecánicamente, en los cuales, pudo verse favorecida la pérdida de humedad a través las superficies dañadas por el colapso de la epidermis y las células subyacentes en el tejido del exocarpio que en conjunto se relacionan con el desarrollo de esta fisiopatía la cual hace que se acentúe y favorezca su desarrollo (Markhart, 1986; McDonald, 1986), donde la aparición de estos síntomas fue tanto mayor, cuanto más fue el tiempo de permanencia en la cámara de refrigeración, ya que a mayor tiempo de almacenamiento, mayor es la frecuencia e intensidad de daño debido a que la severidad de las lesiones se incrementa conforme aumenta el tiempo de exposición por ser el DPF acumulativo (Thompson, 1999). Por otra parte, diversos factores de carácter agroclimatológico,

como la época de lluvias en la cual se realizó el experimento pudieron influir sobre la aparición de estos síntomas. en los frutos.

7.1.2 Parámetros de calidad

- a) *Color*

De manera general se observó el aumento de tonalidades amarillas a partir de los 12 y 16 días de almacenamiento como respuesta natural de los limones bajo estas condiciones de almacenamiento ($10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; 93% HR).

Los frutos sin recubrir y los tratados con la formulación abeja-quitosano, no registraron de manera estadística diferencias significativas hacia el final del muestreo ($\alpha \leq 0.05$), ya que al igual que el control, los limones tratados exhibieron en la misma proporción y velocidad, disminución del color verde, llegando en la escala a valores de entre 4 y 5 (verde claro con tonalidades amarillas del 20 a 70%) (Figura 10).

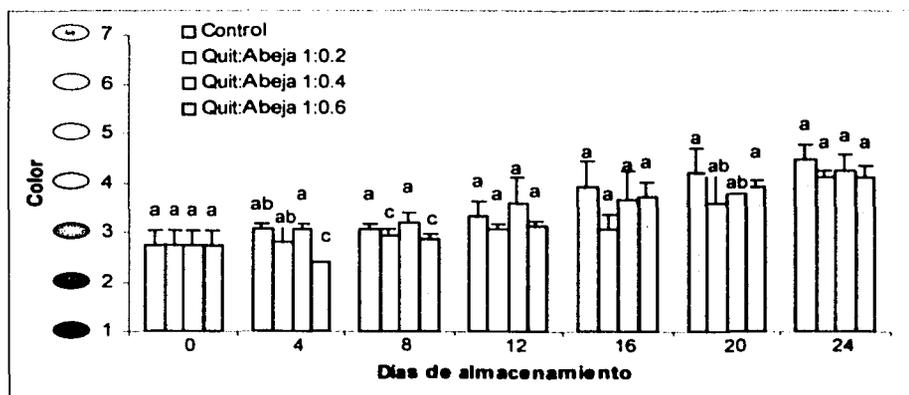


Figura 10. Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de abeja sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)

Los recubrimientos de quitosano que contenían cera de candelilla y la combinación de los dos componentes lipídicos (abeja-candelilla) en la formulación, retardaron de forma significativa la degradación del color verde en el flavedo ($\alpha \leq 0.05$). En la figuras 11 y 12 se aprecia este efecto. Los limones testigo en ambos casos desarrollaron el mayor aumento de tonalidades amarillas ($\alpha \leq 0.05$),

al alcanzar un valor final de 5.0 (correspondiente a una área del 25% que retiene el color verde externo) en contraste con las muestras tratadas con las formulaciones quitosano:candelilla 1:0.2 y quitosano:abeja-candelilla 1:0.4 las cuales registraron los menores valores. Este comportamiento se dio de manera más acelerada comparado con los frutos tratados con la formulación quitosano:abeja a pesar de que en el análisis inicial, estos se encontraron ligeramente mas verdes.

Al parecer, los factores precosecha, condiciones climatológicas (mayor número de lluvias) y manejo postcosecha (frutos dañados mecánicamente) favorecieron la degradación del color verde durante el tiempo de almacenamiento (Chavez, *et al*, 1993; Saucedo *et al*, 1979).

La eficacia del uso de recubrimientos que contienen cera de candelilla en su formulación se relaciona con lo reportado por Saucedo *et al* (1979) al retardar la degradación de la clorofila por medio de la aplicación de emulsiones a base de cera de candelilla en frutos de limón mexicano bajo refrigeración (10°C, 85-90% HR) durante 60 días, donde en este caso en particular la retención del color verde fue controlado con el empleo de los recubrimientos formulados a base de quitosano y este material lipídico.

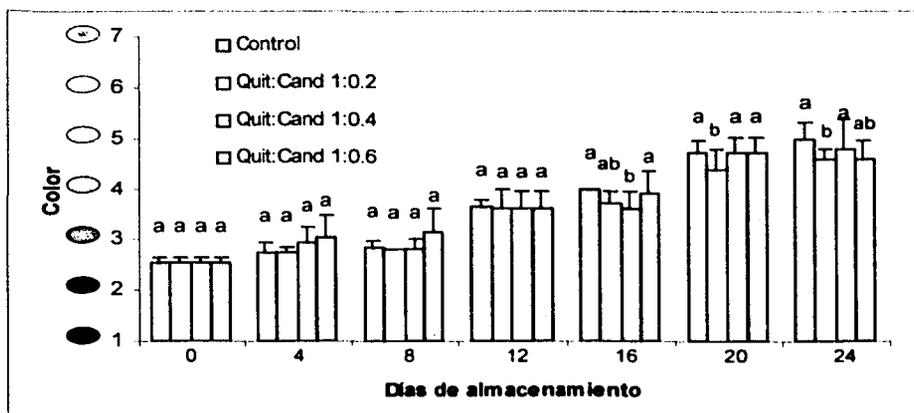


Figura 11. Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de candelilla sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% H.R.)

El uso de estos recubrimientos puede ser considerado como una opción al problema referido por los empacadores en cuanto la vida muy corta de anaquel de los frutos bajo condiciones de refrigeración o ambientales, donde después de 5 días

de almacenamiento los frutos comienzan a cambiar de color drásticamente y pierden su valor comercial.

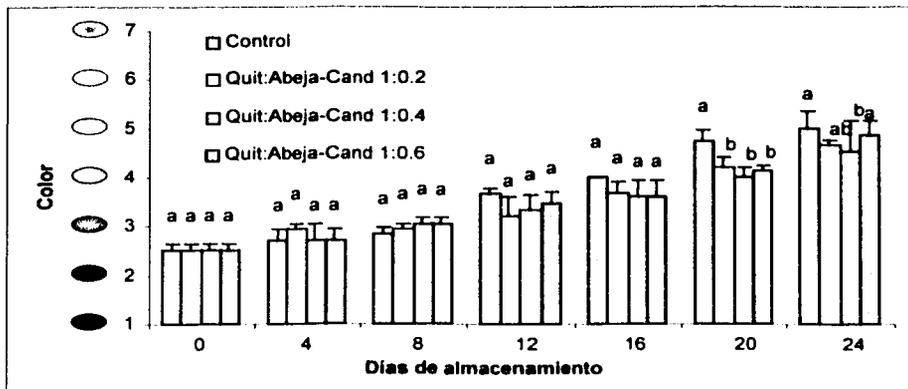


Figura 12. Efecto de los recubrimientos a base de quitosano, cera de abeja y cera de candelilla sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)

- b) Porcentaje de jugo*

El contenido de jugo registrado en los frutos de limón mexicano no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha\leq 0.05$) por efecto de la formulación o de las concentraciones (Tabla 8).

El porcentaje de jugo osciló en un rango de 42.95 a 57.91 y se ha reportado que un contenido de jugo no menor a 45% es el propicio en el momento de la cosecha, debido a que los frutos alcanzan el grado de madurez fisiológico adecuado (Pelayo y Siade, 1978; SAGARPA, 2001; Saucedo, 1979). Durante el experimento y en todos los casos, se observó el incremento característico en los valores al final del almacenamiento (Tabla 8). Esta tendencia ascendente, indica el grado de madurez de los frutos relacionado con el contenido de jugo a medida que avanza su senescencia, debido a que las vesículas se vuelven más jugosas con respecto al flavedo el cual pierde agua al volverse este más delgado, menos firme y más permeable (Bosquez, 1992). Lo anterior demuestra que la transpiración se lleva a cabo principalmente en el exocarpio y no en la pulpa, resultando una disminución de peso en la cáscara (PFP) y no en su interior lo que trae como

consecuencia un aumento de tamaño en las vesículas de jugo, el cual se vuelve mas disponible para ser extraído (Sinclair, 1984).

Al haberse registrado durante el análisis inicial un mayor porcentaje de jugo en los frutos tratados con la formulación quitosano:abeja y una tonalidad más amarilla que la exhibida por que el resto de los limones, es posible confirmar que estos presentaron un grado de madurez fisiológico más avanzado al comenzar el experimento. Sin embargo, al final de almacenamiento estos valores fueron muy similares o hasta menores que los alcanzados por los demás frutos tratados.

Tabla 8. Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre el porcentaje de jugo en limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.)

Rec.	Tratam.	Días de almacenamiento						
		0	4	8	12	16	20	24
Quitosano: Abeja	Control	48.69 \pm 1.57 a	44.39 \pm 1.83 b	51.02 \pm 1.64 a	48.67 \pm 3.87 ab	52.01 \pm 1.74 a	52.51 \pm 2.30 a	52.37 \pm 2.49 a
	1:0.2	48.69 \pm 1.57 a	42.95 \pm 2.16 b	44.45 \pm 3.59 b	46.18 \pm 4.55 b	48.60 \pm 6.65 a	52.47 \pm 2.02 a	53.81 \pm 3.23 a
	1:0.4	48.69 \pm 1.57 a	48.44 \pm 0.10 a	48.57 \pm 0.89 ab	49.69 \pm 0.62 b	51.85 \pm 2.80 a	51.24 \pm 5.56 a	55.28 \pm 0.56 a
	1:0.6	48.69 \pm 1.57 a	44.20 \pm 1.03 b	49.85 \pm 1.92 a	53.38 \pm 6.76 a	52.71 \pm 1.85 a	53.33 \pm 3.05 a	53.37 \pm 2.67 a
Quitosano: Candelilla	Control	44.49 \pm 4.57 a	51.86 \pm 2.54 a	53.40 \pm 1.55 a	50.94 \pm 6.66 a	48.81 \pm 3.53 b	54.25 \pm 1.33 a	52.20 \pm 8.71 a
	1:0.2	44.49 \pm 4.57 a	49.36 \pm 1.00 ab	51.57 \pm 5.02 a	51.65 \pm 1.27 a	57.91 \pm 2.91 a	48.59 \pm 0.54 ab	49.93 \pm 3.30 a
	1:0.4	44.49 \pm 4.57 a	48.07 \pm 2.73 b	50.82 \pm 3.79 a	51.80 \pm 5.39 a	53.32 \pm 4.79 ab	48.36 \pm 1.58 ab	52.58 \pm 3.42 a
	1:0.6	44.49 \pm 4.57 a	53.09 \pm 2.22 a	51.96 \pm 0.20 a	52.68 \pm 1.87 a	51.46 \pm 8.58 ab	46.37 \pm 2.95 b	53.99 \pm 0.20 a
Quitosano:abeja- Candelilla	Control	44.49 \pm 4.57 a	51.86 \pm 2.54 a	53.40 \pm 1.55 a	50.94 \pm 6.66 a	48.81 \pm 3.53 b	54.25 \pm 1.33 a	52.20 \pm 8.71 a
	1:0.2	45.94 \pm 5.56 a	48.74 \pm 6.07 ab	51.93 \pm 3.82 a	49.75 \pm 1.62 a	59.95 \pm 5.04 a	55.02 \pm 2.96 a	52.57 \pm 1.29 a
	1:0.4	45.94 \pm 5.56 a	52.46 \pm 2.30 a	49.07 \pm 2.67 a	50.49 \pm 2.94 a	53.66 \pm 1.12 ab	52.59 \pm 1.20 ab	52.27 \pm 2.47 a
	1:0.6	45.94 \pm 5.56 a	46.56 \pm 3.49 b	50.43 \pm 5.36 a	53.66 \pm 6.59 a	53.22 \pm 0.92 ab	52.37 \pm 4.60 b	54.14 \pm 2.07 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar. Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha\leq 0.05$).

- *c) Relación grados brix-acidez titulable*

Cabe señalar que debido a que los cítricos son frutos no climatéricos, existen muy pocos cambios metabólicos que lleven a notorias variaciones en el contenido de sólidos solubles y ácidos orgánicos, donde las reacciones bioquímicas son lentas y graduales (Sinclair, 1984). Estadísticamente la relación de grados brix-acidez reportados no presentaron diferencias significativas entre tratamientos a lo largo y al final del almacenamiento ($\alpha \leq 0.05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la relación °Brix/acidez titulable en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% H.R.)

Recubrimiento	Proporción	Días de almacenamiento						
		0	4	8	12	16	20	24
Quitosano: Abeja	Control	0.85	0.92	0.99	0.90	0.92	0.84	0.91
	1:0.2	0.85	0.85	0.92	0.89	0.87	0.88	0.87
	1:0.4	0.85	0.87	0.94	0.92	0.81	0.87	0.88
	1:0.6	0.85	0.82	0.93	0.84	0.84	0.84	0.94
Quitosano: candelilla	Control	0.90	0.87	0.84	0.91	0.89	0.87	0.86
	1:0.2	0.90	0.84	0.89	0.86	0.81	0.80	0.88
	1:0.4	0.90	0.87	0.83	0.88	0.94	0.80	0.85
	1:0.6	0.90	0.86	0.86	0.90	0.89	0.79	0.82
Quitosano: abeja-candelilla	Control	0.90	0.87	0.84	0.91	0.89	0.87	0.86
	1:0.2	0.91	0.88	0.88	0.89	0.83	0.90	0.81
	1:0.4	0.91	0.86	0.89	0.87	0.85	0.84	0.86
	1:0.6	0.91	0.86	0.86	0.87	0.83	0.90	0.82

Nota: Los resultados de los parámetros de grados brix y acidez titulable se muestran en el anexo 1

- *d) Apariencia*

La presencia de la cera de abeja en cualquier relación dentro la formulación mejoró la apariencia de los frutos tratados al impartir un ligero brillo en el momento de su aplicación y durante el almacenamiento, a diferencia de los recubiertos a base de quitosano-candelilla, los cuales exhibieron una apariencia quebradiza y opaca (Figuras 13 y 14).

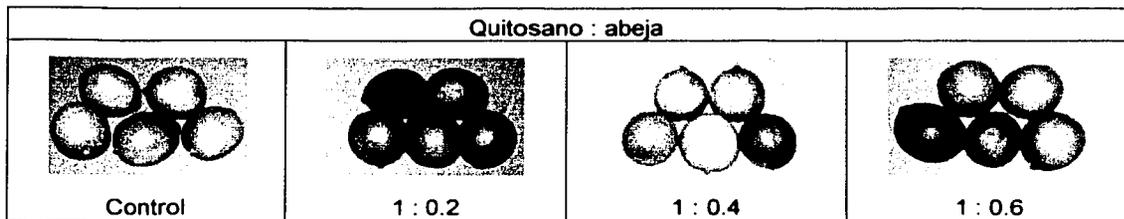


Figura 13. Efecto de los recubrimientos a base de quitosano y cera de abeja sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) a la fecha del último muestreo

La cera de abeja brinda como recubrimiento una mejor apariencia que la cera de candelilla al dar brillo, sin embargo su uso en la prevención de la deshidratación, es menos eficiente al reportar una mayor permeabilidad al vapor de agua que la cera de candelilla (31%) que trae como consecuencia una mayor pérdida de peso en los alimentos en que se aplica (Bennett, 1975; Hagenmaier y Baker, 1996).

Por otro lado la cera de candelilla al ser combinada con la cera de abeja, forma una estructura más flexible, que se traduce en una mejor apariencia (figura 14), posiblemente debida a que esta última posee una mayor cantidad de ácidos grasos, largas cadenas de alcoholes y ésteres que la cera de candelilla, la cual tiene más hidrocarburos (Bennett, 1975; Hagenmaier y Baker, 1996).

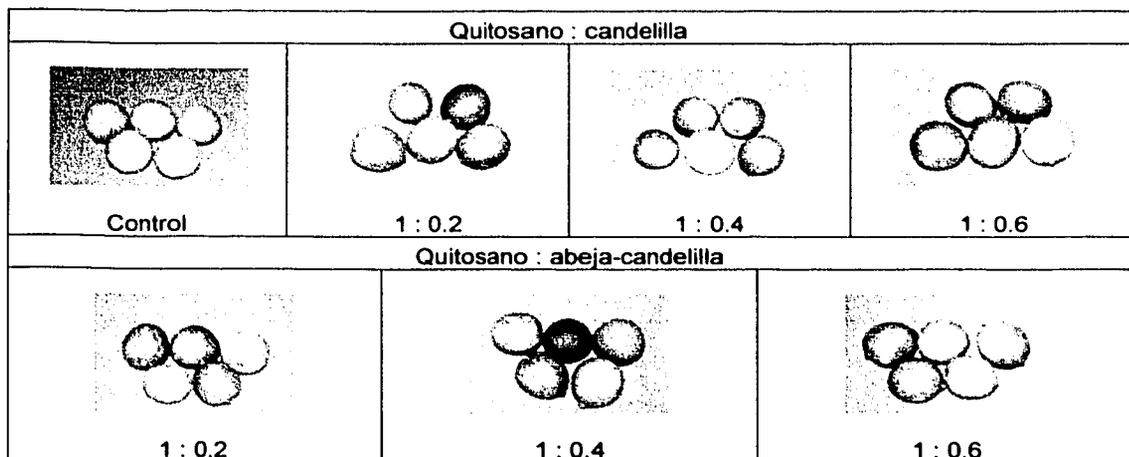


Figura 14. Efecto de los recubrimientos (quitosano-cera de candelilla y quitosano-cera de abeja/candelilla) sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (93.0% H.R.) a la fecha del último muestreo

7.2 Segunda etapa

Evaluación del efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano, cera de abeja y cera de candelilla en una relación variable dentro del material lipídico.

Dado que los resultados de la etapa anterior mostraron que la combinación en la menor proporción de material lipídico (quitosano:abeja-candelilla 1:0.2) fue la que logró el mayor control sobre los parámetros de PFP y color se planteó evaluar esta formulación variando únicamente la proporción entre los dos materiales lipídicos (1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1 y 0.25:1), bajo condiciones de refrigeración más severas ($8^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, 87-93.0% H.R.) y se comparó contra la cera comercial aplicada en la región.

7.2.1 Parámetros fisiológicos

- *a) Pérdida fisiológica de peso (PFP)*

Los porcentajes de PFP registrados en el último día de muestreo no fueron muy alejados entre sí, ya que se reportaron valores que iban desde 8.22 (cera comercial) a 8.93 en frutos tratados con la formulación abeja-candelilla (0.5:1.0), sin observarse diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha\leq 0.05$). A lo largo del almacenamiento los limones tratados con el recubrimiento abeja:candelilla (1:1) exhibieron los valores de PFP más próximos a los registrados por la cera comercial, arrojando un valor final de 8.25% muy cercano al de los frutos cubiertos con la cera de la región (8.22%) (Tabla 10). Al comparar los porcentajes de PFP controlado con respecto al control (Figura 15), los valores obtenidos tampoco variaron, al ser de 5.73 y 5.38% respectivamente. Esto indica que la proporción material lipídico (cera de abeja-candelilla) debe ser equitativa dentro de la formulación para formar una barrera más eficiente contra la pérdida de humedad.

Las formulaciones abeja:candelilla (0.5:1 y 0.25:1) no controlaron la pérdida de peso en los frutos recubiertos, al registrarse durante los últimos días, los más altos valores de PFP ($\alpha\leq 0.05$) (Tabla 10) lo cual pudo atribuirse a las bajas concentraciones manejadas de cera de abeja, donde ésta posiblemente no pudo interaccionar de forma adecuada con la cera de candelilla al formar una estructura mas abierta que favoreció la pérdida de humedad por las propiedades químicas que

posee al impartir flexibilidad en el recubrimiento (Bennett, 1975). Por su parte las muestras protegidas con los recubrimientos abeja-candelilla en una relación (1:0.5 y 1:0.25) reportaron valores medios ($\alpha \leq 0.05$).

Es posible apreciar un decremento de la PFP conforme disminuye la concentración de la cera de abeja y/o candelilla en la formulación, lo que indica una relación directa, al disminuir la concentración del material lipídico sobre el control de la PFP. Por esto, se recomienda realizar estudios posteriores para determinar la proporción óptima de ambas ceras en la formulación, para aprovechar sus propiedades y obtener así una barrera más efectiva contra la transpiración de los frutos.

Tabla 10. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-cand.) sobre la pérdida fisiológica de peso en limón mexicano almacenado a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ (87-93% H.R.)

Tratamiento	Días de almacenamiento					
	4	8	12	16	20	24
Control	1.98±0.35 a	3.30±0.20 a	4.67±0.26 ab	5.98±0.13 ab	7.34±0.04 ab	8.72±0.20 a
Cera Comercial	1.51±0.34 b	2.78±0.03 b	4.16±0.15 c	5.46±0.20 b	6.86±0.31 b	8.22±0.34 a
Abeja-candelilla (relación 1:1)	1.66±0.05 ab	2.98±0.11 ab	4.41±0.13 bc	5.67±0.10 ab	6.93±0.13 b	8.25±0.19 a
Abeja-candelilla (relación 1:0.5)	1.75±0.01 ab	3.33±0.24 a	4.65±0.10 abc	5.96±0.30 ab	7.33±0.39 ab	8.63±0.43 a
Abeja-candelilla (relación 1:0.25)	1.71±0.19 ab	3.10±0.28 ab	4.93±0.24 abc	5.85±0.50 ab	7.20±0.44 ab	8.52±0.56 a
Abeja-candelilla (relación 0.5:1)	1.76±0.09 ab	3.37±0.20 a	4.93±0.24 a	6.23±0.24 a	7.69±0.30 a	8.93±0.41 a
Abeja-candelilla (relación 0.25:1)	1.75±0.10 ab	3.09±0.19 ab	4.61±0.24 abc	6.09±0.36 a	7.26±0.04 ab	8.83±0.42 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar. Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$).

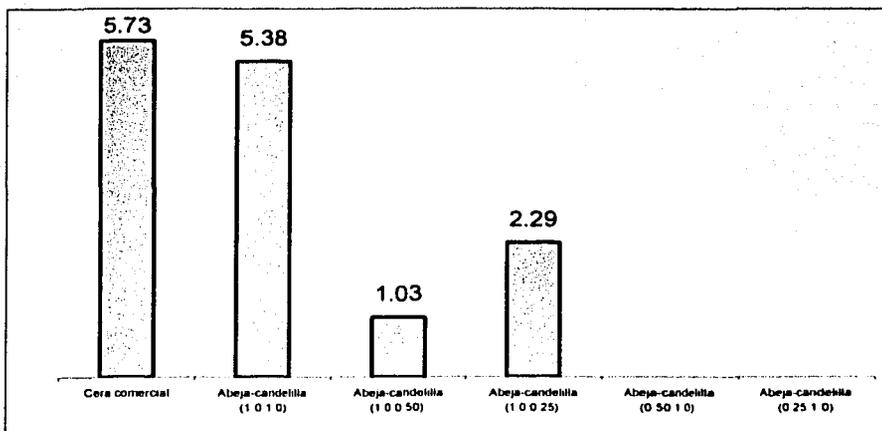


Figura 15. Comparación de porcentajes de PFP (en base al control) en limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93.0% H.R.) y tratado con las formulaciones a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) a la fecha del último muestreo

- *b) Daño por frío*

A pesar de que la temperatura reportada como crítica para el limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) es de 10°C (85-90% de H.R.) con condiciones óptimas para almacenamiento hasta de 12°C en un periodo máximo de 30 días (Saucedo *et al.*, 1978), se propuso someter a los limones a una menor temperatura ($8\pm 1^{\circ}\text{C}$) para evaluar el efecto de los diferentes recubrimientos sobre este factor fisiológico que es determinante sobre la calidad de los frutos.

El DPF se manifestó a partir del 4to día de almacenamiento en muestras tratadas con cera comercial y las formulaciones quitosano : abeja-candelilla 1:0.2, relaciones: abeja:candelilla (1:1), abeja:candelilla (1:0.5) y abeja:candelilla (0.25:1) (Tabla 11). Dentro de lo cuales, los limones protegidos con el recubrimiento aplicado en la región (cera comercial) manifestaron la mayor incidencia y frecuencia de daño, a partir de los 16 días de almacenamiento, ya que a pesar de haber exhibido una intensidad de daño calificada como moderada en una

frecuencia de apenas el 6.66% (día 16) esta aumentó conforme avanzó el tiempo de almacenamiento alcanzando una frecuencia del doble (13.33%) e intensidad severa (días 20 y 24).

Se observa que una disminución en la concentración de cera de abeja dentro de la formulación, aumenta la tolerancia al daño por frío bajo estas condiciones de almacenamiento ($8\pm 1^{\circ}\text{C}$, 87-93% H.R.). El mayor efecto (protección) sobre la aparición de estos síntomas, fue registrado por parte de los frutos recubiertos con la formulación abeja:candelilla en una relación 0.25:1, debido a que los limones presentaron estas lesiones en sólo 2 muestreos (días 4 y 20) con una frecuencia del 13.33% y una intensidad calificada como ligera.

El resto de las muestras cubiertas con las demás formulaciones a base de quitosano y los dos materiales lipídicos (relaciones abeja:candelilla, 1:1, 1:0.5, 1:0.25 y 0.5:1) presentaron una ligera intensidad de daño, la cual puede ser despreciable si se compara con los frutos tratados con el recubrimiento comercial (Tabla 11). En la figura 16 se muestran las lesiones sobre la superficie de los frutos afectados en el último día de muestreo y cubiertos esta cera.

Por su parte los frutos control exhibieron una baja cantidad de frutos dañados (frecuencia de 13.33%) con una intensidad calificada como ligera, la cual no rebasó una superficie de daño mayor al 2% (Tabla 11).

No se observó ninguna relación de esta fisiopatía con respecto a la pérdida fisiológica de peso, ya que los frutos más afectados (los tratados con cera comercial) registraron el menor porcentaje de PFP al final del muestreo. La pérdida de humedad no se vio favorecida con la aparición y desarrollo de las lesiones ocasionadas bajo esta temperatura de almacenamiento ($8\pm 1^{\circ}\text{C}$).

Tabla 11. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja-candelilla = 1:0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) sobre la frecuencia e intensidad de daño por frío en limón mexicano almacenado a $8 \pm 1^\circ\text{C}$ (87-93% H.R.)

Tratamiento	Días de almacenamiento																	
	4			8			12			16			20			24		
	F	I	C	F	I	C	F	I	C	F	I	C	F	I	C	F	I	C
Control	60	1.23	l	6.6	0.87	l	0	0.0	a	13.3	0.32	l	13.3	0.42	l	13.3	0.30	l
Cera Comercial	6.6	2.22	l	13.3	0.31	l	13.3	4.19	l	40.0 6.6	3.60 10.87	l m	26.6 6.6	1.02 26.25	l s	26.6 13.3	0.79 49.41	l s
Abeja-candelilla (relación 1:1)	13.3	0.97	l	0	0.0	a	0	0.0	a	13.3	1.16	l	6.6	0.46	l	20.0	0.64	l
Abeja-candelilla (relación 1:0.5.)	13.3	1.30	l	6.6	3.89	l	6.6	0.16	l	13.3	2.70	l	13.3	0.24	l	6.6	0.54	l
Abeja-candelilla (relación 1:0.25)	0	0.0	a	0	0.0	a	13.3	1.81	l	13.3	1.53	l	6.6	0.10	l	13.3	4.07	l
Abeja-candelilla (relación 0.5:1)	0	0.0	a	0	0.0	a	6.6	0.60	l	13.3	4.14	l	6.6	1.40	l	26.6	0.96	l
Abeja-candelilla (relación 0.25:1.)	6.6	0.65	l	0	0.0	a	0	0.0	a	0	0.0	a	13.3	1.24	l	0	0.0	a

F = Frecuencia (número de frutos dañados %)

I = Intensidad de daño (Porcentaje de intensidad de daño por frío tomando en cuenta la superficie dañada con respecto al área total de los frutos)

C = Categoría (a = ausencia, l = ligero, m = moderado, s = severo)

7.2.2 Parámetros de calidad

• a) Color

En el último muestreo, se pudieron observar diferencias significativas entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$). La aplicación de la formulación abeja-candelilla (1.0:0.5)/quitosano reportó la mayor retención de color verde en el flavedo ($\alpha \leq 0.05$) a los 24 días de almacenamiento mientras que las muestras tratadas con el

recubrimiento quitosano : abeja-candelilla 1:0.2, (relación 1 0.25), exhibieron la mayor degradación de clorofila ($\alpha \leq 0.05$) observándose que la variación de la cera de candelilla dentro de la formulación influye de manera significativa sobre este parámetro al presentarse diversas tonalidades entre los frutos tratados con estos recubrimientos, bajo estas condiciones de refrigeración (Figura 16).

El almacenamiento a una menor temperatura (8°C) tuvo mayor efecto sobre este parámetro, al presentarse una mayor retención de color al final del muestreo, con valores de alrededor de 3.0; correspondientes a un verde semiclaro o verde con ligeras tonalidades amarillas en un 25 % comparado con los frutos sometidos a 10°C (93% H.R.) los cuales llegaron a exhibir una disminución de área verde hasta en un 75% (5.0 en nuestra escala) (Figuras 10, 11, 12, y 16).

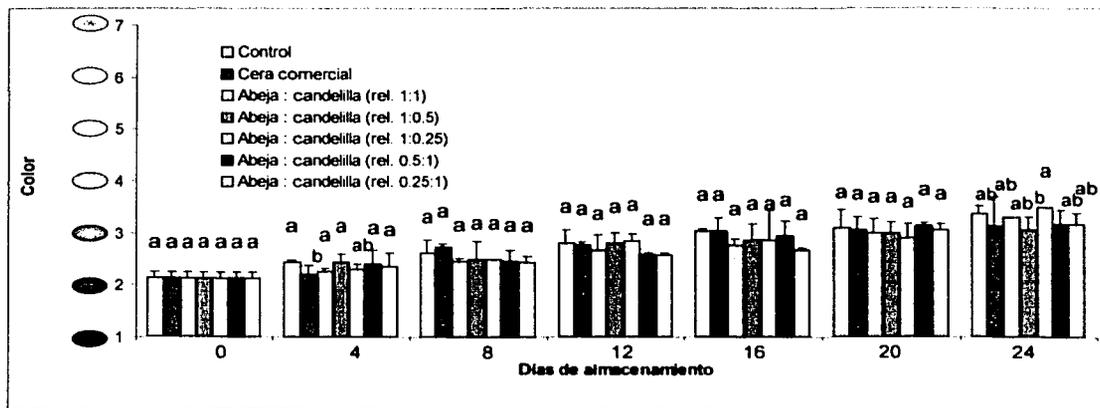


Figura 16. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) sobre el cambio de color del limón mexicano almacenado a 8°C±1C (87-93% H.R.)

- b) Porcentaje de jugo, Grados Brix y Acidez titulable*

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con respecto al porcentaje de jugo ($\alpha \leq 0.05$) ni en la relación °Brix y acidez titulable (Tablas 12 y 13) que definieran un comportamiento particular a lo largo del almacenamiento.

Tabla 12. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) sobre el porcentaje de jugo en limón mexicano almacenado a 8°C±1C (87-93% H.R.)

Día	Control	Cera Comercial	Abeja:cand. 1:1	Abeja:cand. 1:0.5	Abeja:cand. 1:0.25	Abeja:cand. 0.5:1	Abeja:cand. 0.25:1
0	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a	45.69±1.16 a
12	46.66±2.7 a	47.53±0.42 a	46.05±1.37 a	46.77±1.73 a	48.86±9.66 a	52.45±0.95 a	48.54±2.60 a
24	48.79±4.09 a	50.17±1.43 a	48.71±2.11 a	53.05±0.29 a	49.73±4.88 a	53.45±0.79 a	50.77±0.16 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar. Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$).

Tabla 13. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) sobre la relación °Brix /acidez titulable en limón mexicano almacenado a 8°C±1C (87-93% H.R.)

Día	Control	Cera Comercial	Abeja:cand. 1:1	Abeja:cand. 1:0.5	Abeja:cand. 1:0.25	Abeja:cand. 0.5:1	Abeja:cand. 0.25:1
0	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23	1.23
12	1.14	1.21	1.13	1.09	1.13	1.09	1.19
24	1.24	1.33	1.22	1.16	1.19	1.18	1.19

Nota: Los resultados de los parámetros de grados brix y acidez titulable se muestran en el anexo 1

- *d) Apariencia*

Bajo cualquier proporción, la variación del material lipídico dentro de la formulación no vario sobre la apariencia de los frutos, ya que se observó un ligero brillo en el momento de su aplicación y a lo largo del almacenamiento debido a la presencia de la cera de abeja.

De lo anterior se concluye que la presencia de la cera de abeja es necesaria, no importando la cantidad de esta última por las propiedades químicas que posee (Bennett, 1975; Hagenmaier, 1996;) las cuales confieren una mejor apariencia en los frutos en que se aplique.

En la figura 17 se aprecia el efecto de estos recubrimientos sobre la apariencia de los frutos del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) a los 24 días de almacenamiento, observándose (a pesar del daño por frío desarrollado) un mayor brillo en los frutos recubiertos con cera comercial.

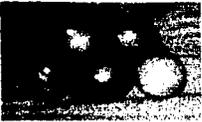
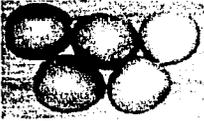
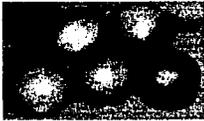
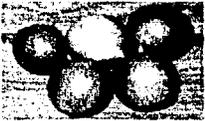
Tratamientos		Quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2	
			
Control	Cera comercial	Abeja:candelilla 1:1	Abeja:candelilla 1:0.5
Quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2			
			
Abeja:candelilla 1:0.25	Abeja:candelilla 0.5:1	Abeja:candelilla 0.25:1	

Figura 17. Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano:cera de abeja y cera de candelilla = 1:0.2 (relación 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1 abeja-candelilla) sobre la apariencia del limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93%HR) a la fecha del último muestreo

Capítulo VIII

Conclusiones

- De los materiales lipídicos evaluados (cera de abeja, cera de candelilla y la mezcla de ambas) que representan el 0.2% total de la formulación; la combinación de los dos materiales lipídicos con el quitosano resultó ser el recubrimiento con mayor potencial para la conservación de limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle).
- De las proporciones cera de abeja y cera de candelilla estudiadas (1:1, 1:0.5, 1:0.25, 0.5:1, 0.25:1), la relación 1:1 fue la más eficaz.
- El recubrimiento quitosano:[cera de abeja-cera de candelilla] 1:0.2 [1:1] resultó ser más efectivo que el comercial comparado.
- Los frutos de limón mexicano tratados con el recubrimiento (quitosano:[cera de abeja-cera de candelilla] 1:0.2 [1:1]) y sometidos a 10°C (93%H.R.) lograron reportar a los 24 días almacenamiento un contenido de jugo, grados brix y acidez titulable no afectado adversamente, obteniéndose además una reducción de la PFP del 24.8% con respecto al control y una mayor retención del color verde.

Bibliografía

1. AOAC Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis of AOAC International. Official Method 942.15. Acidity (Titatable)of Fruits Products. Cap. 37, Fruits an fruits Products. Vol. II 16Th Edition EUA, 1995.
2. Anaya, J.N. y Escalona M.J. Efecto de tratamientos previos al almacenamiento refrigerado en la tolerancia al daño por frío en limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka). Tesis Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México, D.F., pág. 34, 2001.
3. Angulo, S.J. y Velazco V.I. El cultivo del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle). Un análisis de caso para el municipio de Tecomán Colima. Tesis de licenciatura. UACH. Chapingo, Estado de México, 1997.
4. Anuarios estadísticos del Edo. de Michoacán y Colima, Edic. 2001, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI¹), Octubre 2001.
5. Anuario estadístico Nacional, "El Sector Alimentario en México", Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI²), 2001.
6. ASERCA. Claridades Agropecuarias. El limón persa y el limón mexicano; la complementariedad en el mercado; Núm. 30, pág. 3-17. Febrero 1996.
7. ASERCA. Claridades Agropecuarias. La competitividad de la cadena productiva del Limón Mexicano; Núm. 104, pág. 3-33, Abril 2002.
8. Baldwin, E.A., Nisperos, R.D. y Baker. R.A. Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. HortScience, 30(1):35-36, 1995.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

9. Baldwin, E. A. , Nisperos-Carriedo, M. O. Hagenmaier. R.D. Baker R.A. Use of Lipids in coatings for Food Products. *Food & technology* , 51(6):56-62, 1997.
10. Bennett, H. *Industrial Waxes*. Ed. Van Nostrand Reinhold. pp. 191-194, EUA, 1975.
11. Bosquez, M.E. *Manual de prácticas de laboratorio de fisiología postcosecha de frutas y hortalizas*. UAM-I, México, D.F., pág., 57-65, 1992.
12. Bosquez *et al.* "Encerado de frutas y Hortalizas Recubrimientos comerciales en México" (Reporte técnico) *Hortalizas, frutas y flores* 9:10-30, 1993.
13. Bosquez, M.E., Vernon C.J., Pérez., F.L., Guerrero L.I. *Películas y Cubiertas Comestibles para la Conservación en fresco de Frutas y Hortalizas*. *Industria alimentaria*. Enero- Febrero, 14-36, 2000.
14. Bosquez, M.E. Proyecto de investigación. INIFAP-CP-UAM. Eficacia de diferentes tratamientos de refrigeración sobre la conservación de calidad, vida útil e incidencia del daño por frío en limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle). Documento de descripción del problema, 2001.
15. Butler, B.L., Vergano B.L., Testin R.F., Bunn J.M., Wiles J.L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of food science*. 51(5):653-955, 1996.
16. Cajuste, J. y Valdez A. Limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) calidad y preferencias del consumidor. *Memorias IX Congreso Somech, XLVII ISTH., VIII AMEHOAC*. Oaxtepec, Morelos, 200 p, 2001.
17. Calderón, S. *México Hispano*. Edit. Castilla. México, D. F. México, 1989.
18. CEA (Centro de estadística Agropecuaria). *Estadística Básica Agropecuaria. Avance de Producción Agropecuaria por producto. Situación octubre 2000*. Perennes-limón pág. 97.
19. Cobarrubias, I. *Sistema Producto Limón Mexicano*. Edit. CIESTAAM. UACH. Chapingo, Estado de México, 1994.

20. Columba R. y Figueroa A. El jugo de limón Mexicano, Factores de calidad y perspectivas de desarrollo. Tesis Licenciatura. Facultad de Química. UNAM. México, D.F., 1987.
21. Chalutz, E., Walks, J y Shiffmann- Nadel M. Reducing susceptibility of grapefruit to chilling injury during cold treatment. HortScience. 20(2): 226-228, 1985.
22. Chavéz S., Bosquez M., Madrid R. & Pelayo Z. Effect of Harvesting season and Postharvest treatments on storage life of mexican limes (*Citrus aurantifolia* Swingle). Journal of Food Quality, 16:339-354, 1993.
23. Durón, N. L y Valdes, G.B. Tratamiento productivo de limón mexicano sin espinas en condiciones áridas del noroeste de México. Memorias IX Congreso Somech, XLVII ISTH., VIII AMEHOAC. Oaxtepec, Morelos, 298 p., 2001.
24. Edwards, M.Y. & Blennerhassett, R. Evaluation of wax to extend the postharvest storage life of Honeydew melons (*Cucumis melo* L. var *inodorus* Naud.) Aust. Journal Exp. Agriculture 34:427-429, 1994.
25. El Ghaouth¹, A., Arul, J., & Asselin, A. Potential use of chitosan in postharvest preservation of fruits and vegetables. Advances in Chitin and Chitosan, 34(8):440-451. 1991.
26. El Ghaouth², A., Arul, J.; Ponnampalam, R.; & Boulet, M. Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. J. Food Science 56(6):1618-1631, 1991.
27. El Ghaouth, A., Ponnampalam, R., Castaigne, F. & Arul, J. Chitosan Coating to Extend the Storage Life of Tomatoes. HortScience, 27(9):1016-1018, 1992.
28. Elhadí, M.Y. Fisiología y tecnología postcosecha de productos hortícolas. Ed. Limusa. México, pág 185-189, 1992.
29. Espinosa, S.T. y Santoyo, C.V. El mercado del limón persa en México. Universidad Autónoma Chapingo. México, pág. 18, 1992.

30. FAOSTAT (Food and agriculture Organization of the United Nations Statistical Data bases) Datos agrícolas. 1991-2001. Datos de producción e índices. <http://fao.org>, 2002.
31. Gómez C.M., Schwentesius R. y Barrera A. El limón persa en México (una opción para el trópico). Estructura y dinámica de los sistemas agroindustriales. Ed. Mario García Sordo, S.A. Universidad Autónoma Chapingo. Centro de Investigaciones Economicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM). Chapingo, México, pág. 29, 1994.
32. Gontard, N. Edible Wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. *J. Food Science* 57:190, 1992.
33. Gravina, Alfredo. Citricultura. Depto. de Fitotecnia. UACH, Chapingo, Estado de México, pag. 26, 1985.
34. Greener, ID. Y Fennema O. Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions, and Testing methods. En: edible coatings and films to improve food quality (Eds.) Krochta, Baldwin. & Nisperos-Carriedo, 1994.
35. Hagenmaier, R.D. & Baker, R.A. Edible Coatings from Candelilla Wax Microemulsions. *Journal of Food Science* 61(3):562-565, 1996.
36. Hernández L.M. Bautista B.S., Montes B.R., Bravo L.L y Bosquez M.E. Evaluación del quitosano para el control *in vitro* de *Fusarium oxysporum*, agente causal de pudriciones postcosecha en la papaya. Memorias XXVIII Congreso Nacional de Fitopatología, ITESM Querétaro, Qro F-5, 2001.
37. Jay, M.J. Microbiología moderna de los alimentos. Edit. Acribia, Zaragoza, España. Pág. 373, 1992.
38. Kaplan, H. J. Washing, Waxing and Color-Adding. En: Fresh fruits. (Eds.) W.F Wardowski, s. Nagy and W. Grierson. Westport, C.T: AVI Publishing Co., 379 397. 1986.
39. Knorr. D. Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste Management. *Food Technology* .45(1):114-122. 1991.

40. Knorr, D. Use of Chitinous Polymers in Food. *Food Technology*. 38(1):85-97, 1984.
41. Lakshminarayana, S., Sarmiento, LL., Ortiz, R.J. y Siade, B.G. Extension of storage life of Citrus fruits by application of candelilla wax emulsion and comparison of its efficiency whit tag and flavorseal. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* (11) 325-330. 1974.
42. Martínez-Jávega, J.M. Alteraciones en la postrecolección de frutos cítricos. *Notas técnicas del I.V.I.A. Valencia, España.*, pág. 14, 1986.
43. Markhart III, A. H. Chilling injury: A review of possible Causes. *HortScience*. 21(6):1329-1333, 1986.
44. Mathur, N.K., y C.K. Narang. Products of Chemistry (Chitin and Chitosan, Versatile Polysaccharides from Marine Animals. *Journal of Chemical Education*. 67(11):938-942, 1990.
45. McDonald, R.E.; Effects of vegetable Oils, CO₂ and Film Wrapping on chilling injury and decay of lemons. *Hortscience*. 24(3):475-477, 1986.
46. McHugh, T.H., Avena-Bustillos, R., and Krochata. J.M. Hydrophilic Edible films modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*. 58(4):899-903, 1993.
47. Muench, P. La producción Agrícola en el Estado de Colima. Edit. Centros Regionales. UACH. Chapingo, Estado de México, 1992.
48. Muñoz, M. Valores Nutricionales. Edit. C.e.c.s.a. México, pág. 76. 1993.
49. Morris, L.L. Chilling injury of horticultural crops: an Overview. *HortScience* 17:161-162, 1982.
50. NOM-FF-331-A-1981. Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) en estado fresco. *Diario Oficial*. pág. 27-33, 1981.
51. Paredes-Lopez, O. Camargo-Rubio, E. y Gallardo-Navarro, Y. Use of coatings of candelilla wax for the preservation of limes. *Journal Science of food Agriculture* 25:1207-1210, 1974.

52. Pelayo C. y Siade G. Retardo de la degradación de clorofila en limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) mediante la aplicación en postcosecha de reguladores del crecimiento. Memorias del Simposium "La investigación y el desarrollo experimental en CONAFRUT durante 1977" Tomo 2, 1978.
53. Reyo, A. y Saval, S. Los flavonoides en la tecnología de cítricos (Flavonoids in citrus technology). Tecnología de alimentos, 25(4):5-11, 1990.
54. Rodríguez, Domingo. Historia de los cultivos en México. T.6. Edit. Málaga México, 1988.
55. Rodríguez M.; Curti S., Rocha M., Ruiz P., Padrón J. Evaluación de patrones tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos en tabasco y Veracruz . Memorias IX Congreso Somech, XLVII ISTH., VIII AMEHOAC. Oaxtepec, Morelos, 168 p., 2001.
56. Roller, S., Covill N. The Antifungal Properties of chitosan in laboratory media and apple juice. International Journal of Food Microbiology. 47:67-77, 1999.
57. Safina, T. Tecnología de Productos Alimenticios. Edit. Alambra. Valencia España pág. 81, 1979.
58. SAGARPA (Sistema de Información Agropecuaria, Pesquera y Forestal del Gobierno Federal). Agroindustrias Subsector agrícola- limón <http://www.sicap.sagarpa.gob.mx>, 2002.
59. Salunkhe, D.K. y Kadam, S.S. Handbook of Fruit Science and Technology. Marcel Dekker Inc. EUA, 39-53, 1995.
60. Sanford, P.A. Chitosan: Commercial uses and Potential Applications, Chitin and chitosan, Gudmund S. B., Elsevier applied science. pp. 51-69, 1989.
61. Sánchez G., Medina V., Orozco J. Efecto de métodos de cosecha sobre la conservación de la fruta de limón mexicano en postcosecha. Memorias IX Congreso Somech, XLVII ISTH., VIII AMEHOAC. Oaxtepec, Morelos, 225 p., 2001.

62. Saucedo-Veloz, C., Moreno R., y Lakshminarayana, S. Efecto de las temperaturas y recubrimientos de ceras en la incidencia de daños por frío y degradación de clorofila en limón mexicano (*Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle). Chapingo, Nueva Época, No. 11-12. pág. 13-25. 1978.
63. Saucedo-Veloz, C. Influencia del ácido giberélico y emulsiones de ceras en la conservación de limón mexicano por refrigeración. Tesis Maestría. Colegio de postgraduados. Universidad Autónoma Chapingo; México. pág. 18-19, 1979.
64. Saucedo-Veloz, C. y R. Arana. Manejo postcosecha de frutos cítricos. Memorias sobre sistemas de producción en cítricos. Universidad Autónoma Chapingo; México. pág. 156-167, 1993.
65. Shirai S. K., Guerrero L. I. y Hall G. La quitina: ocurrencia, propiedades y aplicaciones. Ciencia. pág. 317-328. 1996.
66. Siade, B. G., Ruiz, G.J. y Alcaraz, O. Conservación de naranja (*Citrus sinensis* L.) Utilizando cubrientes de cera de candelilla. Memorias del Primer ciclo de Conferencias sobre Conservación de hortalizas y frutas frescas UNAM / CONACyT. México, 1975.
67. Sinclair, W.B. The biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruits. Ed. University of California Div.of Agriculture and Natural Resources. USA. pp. 509-511, 570, 1984.
68. Taylor, T. Biochemistry of Fruit Ripening. Citrus Fruit . Citrus Fruit. Baldwin, E. A. Chapman and Hall, Cambrige, G. B. Cap 4. pp. 107-135, 1993.
69. Thompson, J.F., Mitchell F.G., Rumsey, T.R., Kasmire, R.F. y Crisosto, C.H. El enfriamiento comercial de frutas, hortalizas y flores. Universidad de California. División de agricultura y recursos naturales publicación 21567.8. 1999.
70. Wardowski, W.F., Nagy, S., & Grierson, W. Fresh Citrus Fruits. AVI Publishing Company, Inc., EUA., pp. 361-362, 370-373, 480-482, 1986.
71. Warth Albin, H., The Chemistry and technology of waxes. Ed. W.H. Freeman and Compny, New York. pp. 76-93, 1956.

72. Yi, W. Ch. Chilling injury of tropical horticultural commodities. *Hortscience* 29:95-98, 1994.
73. Zhang, D. & Quantick. P.C. Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 73(6):763-767, 1998.

Anexos

Anexo 1.

Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre los °Brix en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% H.R.)

Recubrimiento	Proporción	Días de almacenamiento						
		0	4	8	12	16	20	24
Quitosano:Abeja	Control	7.44±0.33 a	7.23±0.15 b	6.97±0.04 a	7.22±0.20 bc	7.33±0.20 b	7.80±0.00 a	7.99±0.06 a
	1:0.2	7.44±0.33 a	7.55±0.04 ab	6.82±0.17 a	7.46±0.30 abc	7.46±0.11 b	7.57±0.16 a	7.91±0.06 ab
	1:0.4	7.44±0.33 a	7.42±0.33 ab	7.06±0.06 a	7.14±0.09 c	7.48±0.31 b	7.82±0.10 a	7.64±0.15 b
	1:0.6	7.44±0.33 a	7.75±0.08 a	7.23±0.49 a	7.60±0.00 a	7.95±0.05 a	7.84±0.07 a	7.33±0.23 c
Quitosano:Candelilla	Control	8.00±0.00 a	7.86±0.11 b	8.08±0.02 b	8.00±0.00 c	8.04±0.30 a	7.99±0.06 b	8.50±0.36 a
	1:0.2	8.00±0.00 a	8.13±0.11 a	7.97±0.16 b	8.08±0.14 bc	8.46±0.30 a	8.79±0.11 ab	8.41±0.21 a
	1:0.4	8.00±0.00 a	7.95±0.04 ab	8.26±0.06 a	8.26±0.34 b	8.35±0.26 a	8.82±0.10 ab	8.37±0.38 a
	1:0.6	8.00±0.00 a	8.04±0.07 ab	8.22±0.03 a	8.64±0.20 a	8.13±0.11 b	8.97±0.04 a	8.64±0.20 a
Quitosano:abeja-candelilla	Control	8.00±0.00 a	7.86±0.11 b	8.08±0.02 b	8.00±0.00 c	8.04±0.30 a	7.99±0.06 b	8.50±0.36 a
	1:0.2	8.00±0.00 a	8.08±0.23 ab	7.92±0.11 c	8.17±0.04 bc	8.46±0.30 abc	8.13±0.11 b	8.57±0.36 ab
	1:0.4	8.00±0.00 a	8.06±0.11 ab	8.17±0.15 b	8.57±0.25 a	8.57±0.23 ab	8.20±0.00 ab	8.17±0.16 b
	1:0.6	8.00±0.00 a	8.19±0.17 a	8.20±0.00 a	8.57±0.25 a	8.75±0.13 a	8.33±0.30 ab	8.84±0.21 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar

Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$)

Anexo 2.

Efecto de los recubrimientos (quitosano:abeja, quitosano:candelilla y quitosano:abeja-candelilla) sobre la acidez titulable en limón mexicano almacenado a $10 \pm 1^\circ\text{C}$ (93.0% H.R.)

Recubrimiento	Proporción	Días de almacenamiento						
		0	4	8	12	16	20	24
Quitosano: Abeja	Control	6.39±0.08 a	6.72±0.15 a	6.91±0.32 a	6.55±0.16 a	6.76±0.16 a	6.60±0.05 a	7.34±0.04 a
	1:0.2	6.39±0.08 a	6.42±0.15 b	6.31±0.11 b	6.69±0.20 a	6.55±0.14 a	6.67±0.31 a	6.91±0.21 b
	1:0.4	6.39±0.08 a	6.47±0.25	6.67±0.12 ab	6.60±0.49 a	6.12±0.23 b	6.86±0.00 a	6.76±0.13 b
	1:0.6	6.39±0.08 a	6.42±0.08 b	6.74±0.07 a	6.41±0.87 a	6.69±0.05 a	6.65±0.11 a	6.89±0.13 b
Quitosano: Candelilla	Control	7.24±0.01 a	6.90±0.35 a	6.83±0.08 a	7.33±0.04 a	7.22±0.22 ab	6.97±0.31 a	7.31±0.31 ab
	1:0.2	7.24±0.01 a	6.90±0.16 a	7.14±0.17 a	7.01±0.21 b	6.91±0.48 b	7.08±0.24 a	7.48±0.34 a
	1:0.4	7.24±0.01 a	6.98±0.14 a	6.90±0.24 a	7.34±0.13 a	7.88±0.26 a	7.07±0.07 a	7.19±0.07 ab
	1:0.6	7.24±0.01 a	6.94±0.16 a	7.15±0.13 a	7.32±0.14 a	7.29±0.25 ab	7.10±0.12 a	7.12±0.11 b
Quitosano: abeja-candelilla	Control	7.24±0.01 a	6.90±0.35 a	6.83±0.08 a	7.33±0.04 a	7.22±0.22 ab	6.97±0.31 a	7.31±0.31 ab
	1:0.2	7.33±0.25 a	7.12±0.43 a	7.04±0.17 b	7.15±0.06 ab	7.09±0.14 a	7.39±0.14 ab	6.98±0.31 a
	1:0.4	7.33±0.25 a	6.98±0.30 a	7.28±0.16 a	7.52±0.20 a	7.31±0.16 a	6.90±0.33 b	7.08±0.10 a
	1:0.6	7.33±0.25 a	6.98±0.30 a	7.12±0.33 ab	7.08±0.06 b	7.29±0.06 a	7.52±0.21 a	7.28±0.25 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar.

Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$).

Anexo 3.

Efecto de los recubrimientos formulados a base de quitosano : cera de abeja-candelilla = 1 : 0.2 (relación 1:1,1:0.5,1:0.25,0.5:1,0.25:1 abeja-candelilla) sobre °Brix y acidez titulable en limón mexicano almacenado a $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ (87-93% H.R.)

Día	Control	Cera Comercial	Abeja:cand. 1:1	Abeja:cand. 1:0.5	Abeja:cand. 1:0.25	Abeja:cand. 0.5:1	Abeja:cand. 0.25:1
0	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a	7.91±0.07 a
12	7.96±0.04 a	8.06±0.09 a	8.00±0.00 a	8.03±0.04 a	8.00±0.00 a	7.97±0.04 a	8.00±0.00 a
24	8.08±0.15 a	8.60±0.20 a	8.00±0.00 a	8.02±0.03 a	8.00±0.00 a	8.00±0.00 a	8.04±0.07 a

Día	Control	Cera Comercial	Abeja:cand. 1:1	Abeja:cand. 1:0.5	Abeja:cand. 1:0.25	Abeja:cand. 0.5:1	Abeja:cand. 0.25:1
0	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a	6.39±0.23 a
12	6.97±0.32 a	6.64±0.04 a	7.06±0.04 a	7.33±0.46 a	7.03±0.62 a	7.27±0.38 a	6.71±0.14 a
24	6.51±0.23 a	6.45±0.50 a	6.51±0.04 a	6.91±0.04 a	6.70±0.35 a	6.74±0.09 a	6.71±0.14 a

Los resultados presentados son un promedio de las tres replicas con su respectiva desviación estándar.

Letras iguales indican que no hay diferencia significativa entre tratamientos ($\alpha \leq 0.05$).