



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

EFFECTOS EN UVAS DE MESA DEL RECUBRIMIENTO CON
PELÍCULAS DE QUITINA-QUITOSANA OBTENIDAS POR MEDIO
DE QUÍMICA VERDE EN SU APARIENCIA, pH, PORCENTAJE DE
ACIDEZ, CONTENIDO DE HUMEDAD Y VITAMINA C

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

JORGE ALBERTO VELÁZQUEZ SOLÍS



MÉXICO D.F.

2013



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: DRA. en ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA

VOCAL: M. en C. LUCÍA CORNEJO BARRERA

SECRETARIO: M. en A.I. LANDY IRENE RAMÍREZ BURGOS

1er. SUPLENTE: DRA. en ING. MARISELA BERNAL GONZÁLEZ

2° SUPLENTE: DRA. LILIANA ROCÍO GONZÁLEZ OSNAYA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Antiguo PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA AMBIENTAL Y QUÍMICA AMBIENTAL. LABORATORIOS 301-303, EDIFICIO E DE LA FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM, MÉXICO D.F.

Asesor del tema:

DRA. en ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ DE BAZÚA _____

Supervisor técnico:

Q.I. PAULINA SARABIA BAÑUELOS _____

Sustentante:

JORGE ALBERTO VELÁZQUEZ SOLÍS _____

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora de tesis: Dra. Carmen Durán de Bazúa por su apoyo

A Paulina Sarabia por su dirección

*A los miembros del jurado: Lucía Conejo Barrera,
Landy Ramírez Burgos, Marisela Bernal González,
Liliana González Osnaya*

*A mis maestros, compañeros y personal administrativo
de la Facultad de Química de la UNAM, en especial
a la Dra. María del Pilar Constanza Ortega Bernal*

*A mis padres Aurora Solís Sosa y
Jorge Velázquez González*

*A Arlene Malinatzin Macías González por su
invaluable ayuda*

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

a_w	Actividad acuosa
$^{\circ}\text{Bx}$	Grados Brix
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius
2,6-DI	2,6 diclorofenol indofenol
CaCl_2	Cloruro de calcio
CO_2	Dióxido de carbono
CPD	Cefalotórax de camarón parcialmente desproteínizado
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> de los EEUU
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> de los EEUU
g	Gramos
h	Horas
HTST	<i>High temperature, short time</i> : Proceso en el que los alimentos deben mantenerse a altas temperaturas durante tiempos breves
$-\log [\text{H}^+]$	Menos logaritmo de la concentración de iones hidrógeno
L	Litros
LTH	<i>Low temperature holding</i> : Proceso en el que los alimentos se mantienen a bajas temperaturas durante tiempos no tan breves
m_i	Masa inicial de la muestra (promedio de las 3 muestras al día cero)
$\%m_p$	Porcentaje de masa perdida
m_x	Masa reportada en el día “x (del 0 al 11)”
m/m	Relación masa-masa
m/v	Relación masa-volumen
MAC-141©	Disolvente a base de metanol-agua-cloruro de calcio, con una relación molar 1-4-1, respectivamente
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mEq	Miliequivalentes
NaOH	Hidróxido de sodio
O_2	Oxígeno gaseoso
pH	Potencial de hidrógeno
Pqtqs	Película de quitina-quitosana obtenida a partir de subproductos de camarón a escala de laboratorio
Pqt	Película de quitina grado analítico Sigma® disuelta con reactivo MAC-141©
Pqs	Película de quitosana grado analítico Sigma® disuelta con agua destilada acidulada con ácido acético
QA	Quitosana de alta masa ¹ molecular
QB	Quitosana de baja masa molecular

¹ El **peso**, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: es la cantidad de materia, esta no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 kg-fuerza; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo *erróneamente* como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg

QM	Quitosana de masa molecular media
®	Marca registrada
SO ₂	Anhídrido sulfuroso o dióxido de azufre
SST	Sólidos solubles totales
UHT	<i>Ultra high temperature</i> : Proceso en el que los alimentos deben mantenerse a temperaturas muy altas durante tiempos muy breves

LETRAS GRIEGAS

Δ	Indica una variación, diferencia o gradiente de una propiedad medida
---	--

GLOSARIO DE TÉRMINOS EMPLEADOS

Adyuvante	Sustancia que ayuda a controlar el desarrollo de los microorganismos en la uva
Agricultura sustentable	Agricultura viable económicamente, se apoya en un sistema de producción que tenga la aptitud de mantener su productividad, ser útil a la sociedad a largo plazo, cumplir los requisitos de la producción de alimentos y ser respetuosa con el ambiente
Agroquímicos	Sustancias químicas o mezclas de sustancias, destinadas a matar, repeler, atraer, regular o interrumpir el desarrollo y proliferación de seres vivos considerados plagas
Alta a _w	Se considera que el alimento dispone de gran cantidad de agua para el metabolismo de los microorganismos
Anticoagulante	Sustancia que interfiere o inhibe la coagulación de la sangre, creando un estado prohemorrágico
Antifúngica	Sustancia que tiene la capacidad de evitar el desarrollo de algunos tipos de hongos o incluso de provocar su muerte
Antioxidante	Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas
a _w	Se define como la relación que existe entre la presión de vapor de las moléculas de agua un alimento dado en relación con la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura después de alcanzar el equilibrio
Baja a _w	Se considera que el alimento no contiene una gran cantidad de agua disponible para el metabolismo de los microorganismos
Biodegradable	Producto o sustancia que puede descomponerse en sus elementos químicos que los conforman, debido a la acción de agentes biológicos, como plantas, animales, microorganismos y hongos, bajo condiciones ambientales naturales
°Bx	Los grados Brix miden la concentración total de sacarosa disuelta en un líquido, reportándose la concentración en %m/m. En esta investigación se consideró que el contenido de sólidos solubles totales, SST, es equivalente a los °Bx
Climatérico	Es un fruto que es capaz de seguir madurando después de haber sido recolectado, aumentando su tasa de respiración y su producción de

	etileno, principal hormona responsable del proceso de maduración y envejecimiento del fruto
Compuestos fenólicos	Son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol (un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional hidroxilo)
Condiciones extrínsecas	Se relacionan con el ambiente en donde se esté conservando el alimento (empaque, temperatura de almacenamiento, porcentaje de humedad, etc.)
Condiciones intrínsecas	Son los relacionados propiamente con el alimento (composición, pH, presencia y disponibilidad de agua, etc.)
Conservación frigorífica	El alimento se mantiene en una temperatura entre -1 y 8°C y prolonga unos días o semanas su vida útil
Contraión	Es el ión que acompaña una especie iónica y mantiene la neutralidad eléctrica (+, -)
Crecimiento micelial	Es el desarrollo de la masa de hifas que constituyen el cuerpo vegetativo de un hongo
Cromatografía	Es un método físico de separación, para la caracterización de mezclas complejas, la cual tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia y la física
Enzimas	Son moléculas de naturaleza proteínica que catalizan reacciones químicas, siempre que sean termodinámicamente posibles
Enzimas pectinolíticas	Enzimas capaces de degradar las pectinas
Equipo Millipore	Equipo de filtración al vacío de la marca Millipore®
Esporulación	En los hongos hace referencia a la liberación de esporas cuando se encuentran en condiciones extremas a las normales de crecimiento
Fenilalanina aminoliasa	Es una enzima reguladora de la síntesis y acumulación de fenilpropanoides en diferentes tejidos y especies de plantas. Muchos de estos productos sintetizados en las plantas poseen la característica de defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen soporte mecánico a la planta, otros atraen polinizadores o dispersores de frutos o algunos de ellos absorben la radiación ultravioleta
Fitoalexinas	Son compuestos antimicrobianos que se acumulan en algunas plantas en altas concentraciones, después de infecciones bacterianas o fúngicas y ayudan a limitar la dispersión del patógeno
Gluconato de calcio	Es una sal de calcio y ácido glucónico
Grado de desacetilación	Es el porcentaje del grupo funcional acetilo que ha perdido una molécula
Hidrolasas	Es una enzima capaz de hidrolizar un enlace químico
Hifas	Son elementos filamentosos cilíndricos característicos de la mayoría de los hongos. Están constituidos por una fila de células alargadas envueltas por la pared celular que reunidas, forman el micelio
Higroscópico	Son compuestos que atraen agua en forma de vapor o de líquido de su ambiente
Ligninas	Polímero presente en las paredes celulares de las plantas y también en las <i>Dinophytas</i> del reino <i>Chromalveolata</i> . Es importante destacar que es la única fibra no polisacárido que se conoce. Los tejidos con ligninas aumentan la resistencia al ataque de los microorganismos

Maceración	Ablandamiento del tejido celular debido a la hidrólisis de las pectinas
Microorganismos psicrófilos	Proliferan bien a 0°C y tienen una temperatura óptima de crecimiento de 15°C, o inferior; la máxima es de aproximadamente 20°C
Microorganismos psicrótrofos	Son microorganismos que pueden proliferar a 0°C, aunque su temperatura óptima de “crecimiento” ² sea de 20 a 30°C y la máxima de casi 35°C. Las bacterias y los hongos psicrótrofos son los agentes principales del deterioro de alimentos refrigerados
No climatérico	Es un fruto que no es capaz de seguir madurando después de haber sido recolectado, su tasa de respiración y su producción de etileno son reducidas al mínimo
Patógeno	Es toda aquella entidad biológica capaz de producir enfermedades o daños al huésped (humano, vegetal, etc.)
Pectinas	Son un grupo heterogéneo de polisacáridos de grados de polimerización y ramificación variables
Policatiónica	Es una molécula con dos o más cargas positivas distribuidas en toda la molécula
Polifenol oxidasa	Es una enzima (encontrada principalmente en plantas y hongos) que cataliza una reacción que transforma o-difenoles en o-quinonas. Las o-quinonas son muy reactivas y atacan a una gran variedad de componentes celulares, favoreciendo la formación de polímeros negro-marrón. Estos polímeros son los responsables del oscurecimiento de tejidos vegetales cuando se dañan físicamente
Postcosecha	Hace referencia a todo lo que sucede en el fruto después de ser cosechado
Precosecha	Hace referencia a todo lo que sucede en el fruto antes de ser cosechado
Productos hortofrutícolas	Frutas y hortalizas
Química verde	Filosofía química dirigida hacia el diseño de productos y procesos químicos que implica la reducción o eliminación de productos químicos peligrosos (para los materiales, las personas y el ambiente)
Quitina	Polímero de origen natural, segundo más abundante después de la celulosa
Quitosana	Derivado desacetilado de manera sintética de la quitina. En su forma natural, la quitina se presenta parcialmente desacetilada, la diferencia entre la quitina y la quitosana es, de hecho, arbitraria ya que las formas completamente acetiladas o desacetiladas no existen en la naturaleza ni como productos finales de un proceso. Por ello, en la práctica, al polímero que presenta mayor acetilación se le denomina quitina y al más desacetilado quitosana (Cartaya y col., 2009; Hansen y Llanes, 1994; tomado de Sarabia-Bañuelos, 2011)
Sonicación	Es la aplicación de la energía del sonido para agitar las partículas de una muestra
Sustentable	Aquel que satisface las necesidades actuales, sin poner en peligro la capacidad de las generaciones futuras para satisfacer sus propias

² *To grow* en inglés se ha traducido de manera muy pobre al español usando el verbo “crecer”, al referirse a microorganismos, cuando existen otros verbos como proliferar, reproducirse o desarrollarse que son más adecuados. En esta investigación no se usará el término “crecer”

	necesidades
Valor <i>L</i>	Mide la luminosidad, es una propiedad de los colores. Da una indicación sobre el aspecto luminoso del color estudiado: cuanto más oscuro es el color, la luminosidad es más débil
Vida de anaquel	Es el tiempo durante el cual un alimento es útil para el consumidor sin causar ningún riesgo a su salud y/o sin perder su funcionalidad o propiedades

Nota:

Esta tesis usa el punto decimal, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana respectiva (DOF, 2009)

ÍNDICE

	Página
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	4
LETRAS GRIEGAS	5
GLOSARIO DE TÉRMINOS EMPLEADOS	5
ÍNDICE DE FIGURAS, GRÁFICAS Y TABLAS	11
RESUMEN	14
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	15
1.1. PROBLEMÁTICA	15
1.2. JUSTIFICACIÓN	17
1.3. OBJETIVOS	17
1.3.1. Objetivo general	17
1.3.2. Objetivos específicos	18
CAPÍTULO 2: FUNDAMENTO TEÓRICO	19
2.1. DURABILIDAD DE LOS ALIMENTOS	19
2.2. CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS	19
2.3. CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS CON PELÍCULAS DE QUITOSANA Y QUITINA	20
2.3.1. Quitosana aplicada a tomates	20
2.3.2. Quitosana aplicada a fresas	21
2.3.3. Quitosana aplicada a cerezas	21
2.3.4. Quitosana aplicada a lechuga	21
2.3.5. Actividad bioquímica de la quitosana	22
2.3.6. Aplicación de la quitina como película en alimentos	22
2.4. CONSERVACIÓN DE LAS UVAS DE MESA	24
2.5. CONSERVACIÓN DE UVAS CON PELÍCULAS DE QUITINA Y QUITOSANA	25
CAPÍTULO 3: DESARROLLO EXPERIMENTAL	27
3.1. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITINA-QUITOSANA	27
3.2. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD PARA OBTENER PELÍCULAS DE QUITINA SIGMA® EN DISOLVENTE MAC-141©	27
3.3. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITINA SIGMA®	27
3.4. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITOSANA	28
3.5. APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE QUITINA Y QUITOSANA	28
3.6. FORMACIÓN DE LOS LOTES	28
3.7. DETERMINACIÓN DE LA PÉRDIDA DE HUMEDAD	29
3.8. MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (SST)	29
3.9. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE	30
3.10. DETERMINACIÓN DEL pH	30
3.11. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)	31
3.12. INSPECCIÓN VISUAL	32
3.13. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y MICROSCOPIA DE CONTRASTE	32
3.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	33

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1. PÉRDIDA DE HUMEDAD	35
4.2. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (°Bx)	39
4.3. PORCENTAJE DE ACIDEZ	42
4.4. VALOR DE pH	44
4.5. VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)	45
4.6. INSPECCIÓN VISUAL	47
4.7. MICROSCOPIA	48
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
5.1. CONCLUSIONES	55
5.1.1. Conclusiones generales	55
5.1.2. Conclusiones específicas	55
5.2. RECOMENDACIONES	56
ANEXOS	
<i>ANEXO I: ACERVO FOTOGRÁFICO</i>	57
<i>ANEXO II: DATOS CRUDOS</i>	68
<i>ANEXO III: TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS PRODUCIDOS</i>	74
<i>REFERENCIAS</i>	76

Índice de Figuras, Gráficas y Tablas

Figura	Título	Página
1.1	Uva con desarrollo de <i>Botrytis cinerea</i>	15
1.2	Estructura química de la quitina	16
1.3	Estructura química de la quitosana	16
4.1	Película de quitina parcialmente libre de Ca ⁺⁺ antes de ser homogeneizada	35
4.2a	Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 80x en alto vacío	52
4.2b	Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 350x en alto vacío	52
4.2c	Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 2500x en alto vacío	53
4.3a	Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 80x en alto vacío	53
4.3b	Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 350x en alto vacío	53
4.3c	Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 2500x en alto vacío	53
4.4	Uvas con película de quitosana el día cero de la investigación	65
4.5	Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 90x a bajo vacío	65
4.6	Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 230x a bajo vacío	65
4.7	Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 500x a bajo vacío	66
4.8	Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 90x a bajo vacío	66
4.9	Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 230x a bajo vacío	66
4.10	Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 500x a bajo vacío	67
Gráfica	Título	Página
4.1	Comparación en la pérdida de humedad por 11 días de los diferentes tratamientos con y sin película de quitina, quitosana, ácido acético y blanco	36
4.2	Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre la pérdida de humedad. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético	37
4.3	Comparación en el aumento de los SST por 10 días de los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, ácido acético y blanco	39
4.4	Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre el aumento de sólidos solubles totales. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético	41
4.5	Comparación en el aumento de mEq de ácido tartárico (%Acidez) por 10 días de los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, ácido acético y blanco (sin película)	42
4.6	Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre el aumento del %Acidez (mEq de ácido tartárico). A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético	43
4.7	Comparación de la variación en la disminución del pH por 10 días para los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, blanco (sin película) y ácido acético.	44
4.8	Comparación de los tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético para la determinación de la diferencia significativa entre la variación del pH: A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético	45
4.9	Comparación de la variación en la disminución de la vitamina C por 10 días de los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, blanco (sin película) y ácido	46

	acético	
4.10	Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para determinar diferencias significativas entre la pérdida de vitamina C. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético	47

Tabla	Título	Página
2.1	Solubilidad de la quitina	23
2.2	Producción agrícola; cíclicos y perennes 2012	26
3.1	Soluciones de quitosana a diferentes concentraciones	28
4.1	Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.1, para determinar la variabilidad de la pérdida de humedad de los diferentes tratamientos con película	35
4.2	Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.3, para determinar el aumento de los SST de los diferentes tratamientos de película	40
4.3	Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.5, para determinar el aumento de mEq de ácido tartárico de los diferentes tratamientos de película	43
4.4	Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.7, para determinar la variación del pH de los diferentes tratamientos de película	44
4.5	Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.9, para determinar la variabilidad de la vitamina C de los diferentes tratamientos de película	46
4.6	Inspección visual del desarrollo de microorganismos	48
4.7	Cambios en las uvas del lote A (Blanco) a nivel microscópico (día 1 y 11)	48
4.8	Cambios en las uvas del lote B (Quitosana 0.5%) a nivel microscópico (día 1 y 11)	49
4.9	Cambios en las uvas del lote C (Quitosana 1.0%) a nivel microscópico (día 1 y 11)	49
4.10	Cambios en las uvas del lote D (Quitosana 1.5%) a nivel microscópico (día 1 y 11)	49
4.11	Cambios en las uvas del lote E (Quitosana 2.0%) a nivel microscópico (día 1 y 11)	50
4.12	Cambios en las uvas del lote F (Quitina-quitosana) a nivel microscópico (día 1 y 11)	50
4.13	Cambios en las uvas del lote G (Quitina Sigma®) a nivel microscópico (día 1 y 11)	51
4.14	Cambios en las uvas del lote H (ácido acético) a nivel microscópico (día 1 y 11)	51
4.15	Cambios en las uvas del lote A (Blanco) a nivel microscópico	57
4.16	Cambios en las uvas del lote B (Quitosana 0.5%) a nivel microscópico	58
4.17	Cambios en las uvas del lote C (Quitosana 1.0%) a nivel microscópico	59
4.18	Cambios en las uvas del lote D (Quitosana 1.5%) a nivel microscópico	60
4.19	Cambios en las uvas del lote E (Quitosana 2.0%) a nivel microscópico	61
4.20	Cambios en las uvas del lote F (Quitina-quitosana) a nivel microscópico	62
4.21	Cambios en las uvas del lote G (Quitina Sigma®) a nivel microscópico	63
4.22	Cambios en las uvas del lote H (ácido acético) a nivel microscópico	64
4.23	Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de la pérdida de humedad entre los lotes	68
4.24	Porcentaje de masa perdida ($%m_p$). Datos graficados contra tiempo	68
4.25	Promedio de las masas (g) de la uva (m_x)	68
4.26	Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de los SST entre los lotes	69
4.27	$\Delta^\circ\text{Bx}$ de los lotes de uvas durante la investigación. Datos graficados contra tiempo	69
4.28	Determinaciones de $^\circ\text{Bx}$ de los lotes de uvas durante la investigación	69
4.29	Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones del % de acidez entre los lotes	69
4.30	Diferencia de acidez de los lotes de uvas durante la investigación, reportados en mEq de ácido tartárico. Datos graficados contra tiempo	70
4.31	Determinación de acidez en mEq de ácido tartárico	70
4.32	Promedio de las masas (g) de las muestras para la determinación de acidez	70
4.33	Volumen (mL) promedio gastado de NaOH [0.1000N] en la titulación de las muestras	70
4.34	Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones del pH entre los lotes.	71
4.35	Determinaciones del pH de los lotes de uva durante la investigación.	71
4.36	Descenso del pH con respecto al pH inicial en los lotes de uva.	71
4.37	Variación del pH inicial con respecto al tiempo en valor absoluto (datos empleados para realizar la Gráfica 4.7)	71
4.38	Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de la vitamina C entre los lotes.	72

4.39	Determinación de la vitamina C (mg) durante la investigación.	72
4.40	Pérdida de vitamina C (mg)	72
4.41	Masa de la muestra para la determinación de vitamina C (g)	72
4.42	Volumen promedio de 2,6 DI, gastado en la titulación de la muestra (mL)	73
4.43	Volumen de 2,6 DI gastado (mL), para la titulación de 1mg de ácido ascórbico	73

RESUMEN

La quitina es un biopolímero con gran dificultad para solubilizarse debido al grupo amida que tiene en su molécula que no es polar. Afortunadamente, en investigaciones pasadas en los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (LIQAyQA) se desarrolló un disolvente: MAC-141© (metanol-agua-cloruro de calcio 1:4:1) que puede solubilizar a la quitina. Una vez solubilizada es capaz de formar una película, de la cual se desconocen sus propiedades antimicrobianas, antioxidantes, para modificar la tasa de respiración de las frutas o alguna otra propiedad de las que han sido descritas en la literatura para su derivado desacetilado, la quitosana, gracias a su mayor solubilidad en soluciones acuosas ácidas. En esta investigación se obtuvo una película de quitina por el método de química verde desarrollado y una contraparte empleando quitina Sigma®, también disuelta en MAC-141©. Ambas películas se compararon con un lote blanco (sin película) y con películas de quitosana Sigma® disuelta en agua destilada acidulada con ácido acético con diferentes concentraciones (0.5, 0.1, 1.5 y 2%), con el fin de determinar si eran efectivas para la conservación de frutas no climatéricas, específicamente la uva (*Vitis vinifera* L.). Los lotes se mantuvieron a temperatura ambiente ($21\pm 1^\circ\text{C}$) durante 11 días. Los parámetros evaluados en las frutas de los diferentes lotes fueron: pérdida de humedad, acidez titulable, pH, sólidos solubles totales ($^\circ\text{Bx}$), vitamina C y apariencia visual de las uvas (verificando el inicio del desarrollo de microorganismos y la pérdida de turgencia a través de la presencia de cuarteaduras o arrugas en la piel). Se tomaron microfotografías de la piel. Los resultados obtenidos indicaron que los lotes de frutas cubiertas con las películas de quitosana a diferentes concentraciones y el blanco tuvieron parámetros favorables (pérdida de humedad, acidez titulable, pH y sólidos solubles totales de la uva) en comparación con las películas de quitina. La inspección visual permitió apreciar arrugas en la superficie de la piel de la uva, tanto con las películas de quitina como con las de quitosana con un 50% más de su superficie en comparación con el lote blanco. En ninguno de los lotes hubo desarrollo de microorganismos durante los días de prueba. La película de quitina mostró una mejoría estadísticamente significativa en la conservación de la vitamina C ($p < 0.05$). Puede concluirse de esta fase de la investigación que el lote con película de quitosana al 1.5% m/v tuvo el menor efecto en términos de pérdida de humedad de las uvas, mientras que la película de quitina favorece la conservación de la vitamina C, ambos temas interesantes para una futura investigación.

Palabras clave: Uvas de mesa (*Vitis vinifera* L.), recubrimiento con películas de quitina-quitosana, química verde, pH, porcentaje de acidez titulable, contenido de humedad, sólidos solubles totales ($^\circ\text{Bx}$), vitamina C

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1. PROBLEMÁTICA

Debido a que la cosecha de la uva solamente se realiza una vez al año, es de suma importancia poder alargar la vida de anaquel del fruto y que éste conserve sus características físico-químicas y sensoriales el mayor tiempo posible, así como evitar el desarrollo de microorganismos, principalmente de hongos como *Botrytis cinerea*, ya que éste provoca la muerte en las células de la piel de la uva (Figura 1.1). Con ello se acentúa la evaporación de agua y el jugo de la uva se concentra más. Otro hongo importante de inhibir es *Penicillium glaucum*, ya que provoca que en poco tiempo se tenga un racimo de una masa incolora y de desagradable olor (Vogt, 1986), por lo que son los causantes principales del deterioro de la uva.



Figura 1.1. Uva con desarrollo de *Botrytis cinerea* (Anónimo, 2013)

Los factores anteriores que provocan el deterioro de la uva, actualmente se controlan empleando fungicidas sintéticos; sin embargo, su uso excesivo ha ocasionado numerosas contraindicaciones, como son daños a la salud (Hernández-Lauzardo y col., 2005). El SO₂ es eficaz y reduce el desarrollo de moho gris durante el almacenamiento. Sin embargo, se buscan nuevas opciones al uso del SO₂ pues son necesarias ya que provoca daños a los racimos, a uvas de color y representan un riesgo para la salud humana (Romanazzi y col., 2002).

Una alternativa para procesar lo menos posible el alimento es la de hacer uso de películas, por lo que se busca emplear sustancias de origen natural con propiedades antimicrobianas. Un ejemplo

es la quitina (Figura 1.2) y su derivado desacetilado, la quitosana (Figura 1.3) (Lárez-Velásquez, 2006).

La quitina ha sido empleada en la liberación controlada de agroquímicos, en la corrección de sustratos de crecimiento, como inductor de mecanismo de defensas en soya (Lárez-Velásquez, 2008), también puede ser utilizada en medicina como agente cicatrizante y anticoagulante; en cromatografía como soporte y para la inmovilización de enzimas (Krajewska, 2004).

El uso de quitosana en frutas y hortalizas reduce el desarrollo de pudriciones durante el almacenamiento causadas por *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria alternata* y *Penicillium expansum* entre otras. Por otro lado, al formar una película semipermeable, la quitosana ocasiona cambios físico-químicos favorables en el metabolismo de las frutas u hortalizas alargando su vida de anaquel, en general; la síntesis de CO₂, etileno y la pérdida de agua se reducen. Otros cambios en el producto tratado con quitosana son el retraso en la pérdida de firmeza e incremento en el contenido de SST. La quitosana al ser un producto biodegradable y no tóxico ayudaría a alcanzar una agricultura sustentable (Bautista-Baños y col., 2005).

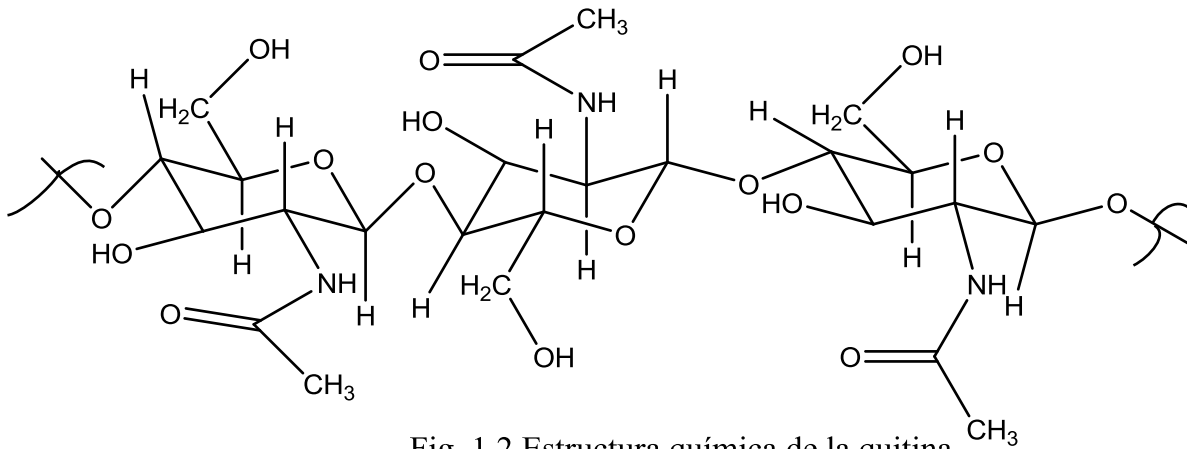


Fig. 1.2 Estructura química de la quitina

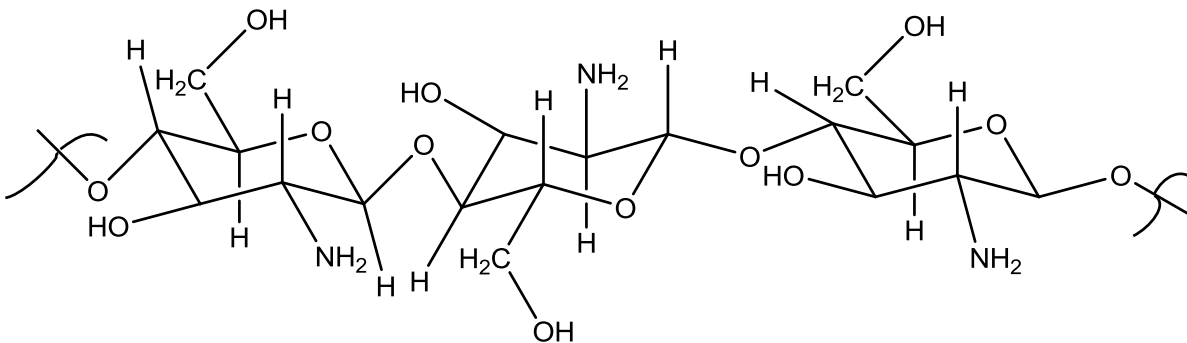


Fig. 1.3 Estructura química de la quitosana

La quitosana y la quitina tienen aplicabilidad en diferentes áreas (Flores-Ortega, 2004, 2008) y, siendo esta investigación orientada a los alimentos, se le dará un enfoque de la utilidad de estos polímeros, aplicándolos sobre un alimento no climatérico como las uvas (*Vitis vinifera* L.), determinando las diferencias durante un lapso dado de vida de anaquel de la uva con parámetros

como su contenido de sólidos, SST, vitamina C, acidez titulable, pH, determinación de pérdida de agua y desarrollo de hongos en la uva por inspección visual. Las películas a estudiar sobre lotes de uvas de mesa son:

1. Película de quitina-quitosana (pqtqs) obtenida a escala de laboratorio a partir de residuos de camarones disolviéndola con un disolvente patentado (MAC-141©) en los propios laboratorios
2. Película de quitina grado analítico Sigma® (pqt) disuelta en el mismo disolvente patentado en los propios laboratorios
3. Películas de quitosana grado analítico Sigma® disueltas en agua destilada acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

Éstas se comparan con un lote sin recubrimiento, blanco, midiendo las diferencias entre ellos con las variables mencionadas que son indicadores de la conservación óptima del alimento e importantes para que el consumidor final obtenga un producto adecuado para su consumo y que cumpla con las especificaciones que marca la norma mexicana de la uva, NMX-FF-026-SCFI-2006, “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera L.*). ESPECIFICACIONES” (DOF, 2006).

1.2. JUSTIFICACIÓN

Para alargar la vida de anaquel de la uva y asegurar sus características sensoriales, protegiéndola de los microorganismos sin hacer uso del SO₂, se propuso el uso de una película de quitina de la cual no se han encontrado datos reportados en la literatura sobre su actividad para la conservación de alimentos. Desde el año de 2004, en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Edificio E-3 (Conjunto E) de la Facultad de Química de la UNAM, se solicitó la patente de un procedimiento de química verde para extraer la quitina por métodos ecológicos (Durán-Domínguez-de-Bazúa y col., 2004) de subproductos de crustáceos, lo que permite hacer uso de un desarrollo sustentable en el que se aprovechan los residuos, por ejemplo, de la industria camaronera, se utilizan reactivos amigables con el ambiente y no se generan residuos tóxicos. Para probar la eficiencia de la película de quitina obtenida por química verde en la conservación de los alimentos, especialmente en uvas, se prepararon diferentes lotes, como se mencionó arriba incluyendo en la comparación a lotes de fruta cubiertos con películas de quitina Sigma®, quitosana Sigma®, ya que esta última ha sido reportada como un mecanismo eficiente para la conservación de uvas (Romanazzi y col., 2002, 2007). Dado que en esos estudios solamente se enfocaron al estudio de la inhibición de microorganismos y no a las características físicas y nutricionales, aquí se contemplaron justamente estos parámetros de calidad organoléptica.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

- Probar la efectividad de una película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón usando como blanco frutas sin recubrimiento y frutas recubiertas con películas

de quitina y quitosana Sigma® como recubrimientos para la conservación de uvas (*Vitis vinifera* L.), mediante la determinación de algunos parámetros específicos a lo largo de un lapso de tiempo determinado a temperatura ambiente.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la pérdida de agua y la concentración de sólidos solubles totales (SST) en uvas con y sin película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón y con películas de quitosana y quitina Sigma® disueltas en soluciones acuosas de ácido acético a diferentes concentraciones y en el disolvente ecológico desarrollado en el grupo de investigación, respectivamente.
- Determinar las variaciones de acidez titulable reportada como ácido tartárico, impacto en el pH y la degradación de la vitamina C en uvas con y sin película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón y con películas de quitosana y quitina Sigma® disueltas en soluciones acuosas de ácido acético a diferentes concentraciones y en el disolvente ecológico desarrollado en el grupo de investigación, respectivamente.
- Inspeccionar por medios ópticos el deterioro y desarrollo de hongos en uvas con y sin recubrimiento de película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón y con películas de quitosana y quitina Sigma® disueltas en soluciones acuosas de ácido acético a diferentes concentraciones y en el disolvente ecológico desarrollado en el grupo de investigación, respectivamente.
- Comparar los parámetros de vida de anaquel con los reportados en la NMX-FF-026-SCFI-2006, “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.). ESPECIFICACIONES” (DOF, 2006) en uvas con y sin película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón y con películas de quitosana y quitina Sigma® disueltas en soluciones acuosas de ácido acético a diferentes concentraciones y en el disolvente ecológico desarrollado en el grupo de investigación, respectivamente, así como con los reportados en la literatura.
- Hacer una comparación de los datos experimentales obtenidos por medio de análisis estadísticos.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1. DURABILIDAD DE LOS ALIMENTOS

Debido a que los alimentos son excelentes fuentes de nutrimentos, si las condiciones intrínsecas y extrínsecas son apropiadas, los microorganismos pueden crecer rápidamente y transformar lo que una vez fue un atractivo y apetitoso alimento en una masa agria, maloliente o cubierta de hongos. El desarrollo microbiano en los alimentos puede producir cambios visibles, incluyendo una gran variedad de colores producidos por los organismos degradadores (Prescott y col., 2004).

Con respecto a la alteración, los alimentos se pueden clasificar en tres categorías principales: 1. Alimentos perecederos, tales como muchos alimentos frescos. 2. Alimentos semiperecederos, tales como papas y frutos secos y 3. Alimentos no perecederos, tales como la harina, la sal y el azúcar. Estas características de los alimentos se diferencian por el contenido de agua o actividad acuosa (a_w). Los alimentos no perecederos tienen una baja a_w y pueden ser almacenados durante largos periodos de tiempo sin que se deterioren. Los alimentos perecederos y semiperecederos son aquellos con alta a_w y deben ser almacenados bajo condiciones que detengan el desarrollo microbiano (Madigan y col., 2004).

En el caso de las uvas de mesa, son consideradas un alimento fresco y con una alta a_w , lo que las convierte en un alimento perecedero y deben ser almacenadas bajo condiciones controladas para impedir el desarrollo microbiano.

2.2. CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS

Existen diferentes organismos que causan alteración en los alimentos o producen enfermedades en los humanos (Madigan y col., 2004). Pero existen también diferentes métodos de conservación y almacenamiento de alimentos que inhiben o detienen el desarrollo de estos microorganismos:

- **Refrigeración:** Retrasa la proliferación microbiana, aunque con el almacenamiento a largo plazo los microorganismos psicrófilos y los psicrótrofos se multiplican y producen la descomposición de los alimentos. La temperatura de almacenamiento, en general para los alimentos, es de 5°C (Prescott y col., 2004). Los alimentos que se someten a refrigeración no requieren de un tratamiento previo para ser almacenados.
- **Congelación:** Para que un alimento pueda ser almacenado en congelación, se debe acondicionar, pues en los alimentos, el agua por lo general es el principal componente y presenta gran importancia en el proceso de congelación, ya que la forma y tamaño de los cristales de hielo que se formen en el alimento tienen mucha influencia en su calidad posterior. La velocidad de crecimiento de los cristales es fundamental para la conservación óptima del alimento. Si la velocidad de extracción de calor en el alimento es lenta, se forman pocos cristales de gran tamaño, lo que trae como consecuencia el

rompimiento de las paredes celulares, lo que genera la ruptura de los tejidos celulares con pérdida de textura durante el descongelado. Por el contrario, una capacidad adecuada de extracción de calor, posibilita la formación de numerosos cristales de tamaño pequeño, lo que mejora la conservación de la textura natural de los alimentos al ser descongelados para su consumo (Madrid y col., 1994).

- **Pasteurización:** Utiliza temperaturas relativamente elevadas para eliminar los microorganismos causantes de enfermedades y para reducir las poblaciones microbianas.
 - LTH (*low temperature holding*): El alimento se mantiene a 63°C durante 30 minutos.
 - HTST (*high temperature, short time*): El alimento debe mantenerse a 71.8°C durante 15 segundos.
 - UHT (*ultra high temperatura*): El alimento debe mantenerse a 145-155°C durante 1-5 segundos (Badui y col., 2004).
- **Disponibilidad de agua:** Es una de las condiciones intrínsecas que afectan el desarrollo de los microorganismos en los alimentos.
 - Reducción del contenido de agua en los alimentos a través de la deshidratación por la adición de solutos a altas concentraciones como azúcar, sal u otros.
 - Deshidratación del alimento, empleando temperaturas elevadas para favorecer la pérdida de agua.
 - Liofilización o deshidratación por congelación es el proceso en el cual los alimentos son congelados y el agua es sublimada por exposición al vacío (Madigan y col., 2004).

2.3. CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS CON PELÍCULAS DE QUITOSANA Y QUITINA

A continuación se da información obtenida de la literatura.

2.3.1. Quitosana aplicada a tomates³

Se realizó una investigación con tomates (jitomates), tratados con quitosana con diferentes grados de polimerización, con el objetivo de evaluar el desarrollo de *Rhizopus stolonifer* durante su almacenamiento.

Los autores prepararon soluciones de quitosana con varios grados de desacetilación (alta, mediana y baja masa molecular) al 1.0, 1.5 y 2.0%, que se disolvieron en 2 mL de ácido acético y 100 mL de agua destilada, las cuales fueron ajustadas a pH de 5.5 con hidróxido de sodio 0.5M. Los tomates fueron inoculados con *R. stolonifer* para su posterior aplicación con quitosana de baja masa molecular (QB), quitosana de masa molecular media (QM) y quitosana de alta masa molecular (QA).

³ La palabra tomate viene del náhuatl y define a los frutos usados para preparar platillos con chile suavizándolo. El jitomate, de *xictli*, ombligo y *tómatl*, tomate, es el rojo (*Lycopersicon esculentum*, Mill.). Existen otros, como el coztomate, jaltomate, miltomate y, naturalmente, el tomate que es de otra familia (*Physalis pubescens*, *P. angulata* L.), que tiene una cubierta pergaminosa y que es el verdadero tomate (Cabrera, 2002)

En los tomates tratados con quitosana, se observó un menor desarrollo de *R. stolonifer*, en comparación con aquellos sin tratamiento, sin embargo, no se observó un patrón definido de acuerdo con el tipo de quitosana aplicado (QB, QM, QA), ni relación con la concentración empleada. La quitosana únicamente retrasó el desarrollo de *R. stolonifer* en el tomate, pero no lo inhibió (Bautista y Bravo, 2004).

2.3.2. Quitosana aplicada a fresas

En otra investigación se emplearon recubrimientos de quitosana combinada con gluconato de calcio (GluCa) aplicados a fresas durante su almacenamiento en refrigeración. Las fresas fueron tratadas con soluciones 1 y 1.5% de quitosana con y sin la adición de (GluCa), la evaluación de los tratamientos se basó en los efectos causados por hongos, cambios en la tasa de respiración, atributos de calidad y aspecto visual de las fresas durante seis días de almacenamiento a 10°C. Los resultados obtenidos indicaron que el GluCa contribuyó a alargar la vida útil de las fresas por la inhibición de hongos y el mantenimiento de la firmeza del fruto cuando se empleaba en combinación con quitosana (Hernández y col., 2008).

2.3.3. Quitosana aplicada a cerezas

Se realizó un estudio usando películas de quitosana al 0.1, 0.5 y 1.0% (m/v), usando como solvente ácido acético al 0.5% (v/v), el cual fue rociado antes de la cosecha. Posteriormente, se les dio un tratamiento hipobárico, el cual fue de 0.5 a 0.25 atm durante 4 h. Se realizó simultáneamente otro con cerezas sumergidas de 3 a 4 segundos en una solución de quitosana al 1.0% (m/v) con el mismo solvente, después de ser cosechadas. Éstas también fueron sometidas al mismo tratamiento hipobárico. Pasados 7 días, se sometieron nuevamente a un tratamiento hipobárico de 0.5 atm, se usó un lote blanco libre de quitosana y sin tratamiento hipobárico (presión 1atm). Los lotes fueron almacenados a una temperatura de 0 a 1°C, durante 14 días. El uso de quitosana y tratamientos hipobáricos mostró un efecto sinérgico de acción contra el moho gris y otras pudriciones, teniendo como conclusión que el mejor tratamiento para la conservación de las cerezas es el de películas de quitosana al 1.0% combinado con una presión de 0.5 atm (Romanazzi y col., 2003).

2.3.4. Quitosana aplicada a lechuga

En este estudio se usó una mezcla de 5 lechugas, ya homogeneizada, para formar los lotes, los cuales fueron sumergidos en una solución de ácido láctico/Na-lactatos al 2% y en una de quitosana al 0.5% usando como solvente la solución de ácido láctico/Na-lactatos 2%, así como un lote blanco libre de soluciones, a estos lotes se les midió la tasa de respiración y se les hizo un análisis sensorial y uno microbiológico. La tasa de respiración de los lotes sumergidos en las soluciones se vio aumentado, siendo de 11.93 ± 1.94 mL O₂/kg/h para la solución de ácido láctico/Na-lactatos y de 13.89 ± 0.72 mL O₂/kg/h para la de quitosana, en comparación con el lote blanco que era de 4.63 ± 1.16 mL O₂/kg/h. Este aumento se lo atribuyen al estrés generado por las soluciones empleadas al modificar el pH del alimento. El análisis sensorial se enfocó en la textura, olor, sabor, color y la apariencia en general. En este análisis se mostró que la lechuga sin tratamientos tenía atributos aceptables hasta los 9 días de almacenamiento, mientras que las lechugas con tratamientos dejaron de ser aceptables desde el día 4. En el análisis microbiológico,

se encontró que hasta el día 4 tiene una actividad descontaminante, después se ve reducida y para el día 9 no muestra diferencias con el lote blanco. Los autores concluyeron que no era aceptable su uso para la lechuga (Devlieghere y col., 2004).

2.3.5. Actividad bioquímica de la quitosana

Se conocen aspectos básicos que se relacionan con la inducción de respuesta bioquímica de defensa, mediada por la acción de la quitosana.

1. Reducción de la maceración celular, inhibidores de enzimas pectinolíticas.
2. Hidrolasas antifúngicas (quitinasas y 1,3 gluconasas están relacionadas con las resistencias contra patógenos en plantas, hidrolizan la pared celular de los hongos inhibiendo su crecimiento).
3. Formación de compuestos fenólicos, que actúan directamente sobre el patógeno o forman estructuras que limitan su avance en crecimiento de hongos en el hospedero (Hernández-Lauzardo y col., 2005).
4. Se ha empleado como inductor de mecanismos de defensa, esta actividad está relacionada con su naturaleza policatiónica.
5. También se ha reportado que la actividad de la quitosana depende de factores que ayuden a acentuar las cargas positivas, grado de desacetilación, distribución de los grupos desacetilados a lo largo de la cadena, longitud de la cadena, pH, fuerza iónica del medio, temperatura y el contraión asociado en su forma de sal (Velázquez, 2008).

Se han visto significativas reducciones de microorganismos patógenos, esto se debe a que retarda el inicio del proceso de infección, además de mejorar la calidad de los productos hortofrutícolas. Su actividad antifúngica está relacionada con el crecimiento micelial, esporulación, germinación y morfología de hifas y esporas. Cepas como *Fusarium oxysperum*, *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, entre otros, han sido inhibidos con el uso de la quitosana.

La quitosana estimula el crecimiento de la germinación de semillas, induce reacciones de defensa en algunas plantas, sensibilizándolas para responder más rápidamente al ataque de un patógeno, algunas de las sustancias de inducción son: fitoalexinas, proteínas relacionadas con la patogénesis, inhibidores proteicos y ligninas (Velázquez, 2008).

La quitosana se ha empleado en forma de película en productos hortofrutícolas y en la industria de alimentos por sus características antimicrobianas y antioxidantes. Por estas razones ha tomado relevancia en los últimos años, pues al ser un producto natural, biodegradable y no tóxico podría alcanzar necesidades mundiales de una agricultura sustentable (Bautista-Baños y col., 2005).

2.3.6. Aplicación de la quitina como película en alimentos

De la quitina aplicada a alimentos, solamente se encontró una referencia. En ella se reporta su uso en un proceso de osmo-deshidratación en rodajas de plátano, la cual se adicionó para formar soluciones con concentraciones de 0.01, 0.05 y 0.1% (m/v), usando como solvente los jarabes

para la osmo-deshidratación (Waliszewski y col., 2002). No se da información sobre la composición química de los jarabes para garantizar la solubilidad de la quitina (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Solubilidad de la quitina (tomada de Sarabia-Bañuelos, 2011)

Quitina	Insoluble	Ácidos, álcalis diluidos, alcoholes, disolventes inorgánicos (García, 2006) Agua, disolventes orgánicos (Gacén y Gacén, 1996)
	Dispersión	Soluciones acuosas concentradas de algunas sales de litio y calcio, como el tiocianato de litio (García, 2006)
	Soluble	N,N'- dimetilacetamida con un 5% de cloruro de litio, ácido fórmico, ácido metanolsulfónico, hexafluorisopropanol, hexafluoroacetona En mezcla de 1,2-dicloroetano en ácido tricloroacético, cloroalcoholes en conjugación con soluciones acuosas de ácidos minerales (Gacén y Gacén, 1996) Dimetilacetamida con 5% de cloruro de litio (Majeti y Ravi, 2000)

A diferencia de la celulosa y otros polisacáridos, la quitina es un polisacárido básico y dentro de sus propiedades se incluye una elevada hidrofobicidad (Majeti y Ravi, 2000). Su contenido de nitrógeno varía entre un 5 y un 8%, en dependencia del grado de desacetilación (García, 2006).

Los jarabes usados por Waliszewski y colaboradores en 2002 para la osmo-deshidratación de las rebanadas de plátano tenían diferentes parámetros (**1:** 50°Bx, 70°C y pH=6.0; **2:** 60°Bx, 50°C y pH=6.0; **3:** 60°Bx, 70°C y pH=7.0; **4:** 60°Bx, 60°C y pH=8.0; **5:** 70°Bx, 50°C y pH=8.0). Los cambios de color fueron medidos con los parámetros: *L*, matiz (*a*) y croma (*b*), en presencia de la quitina añadida y comparados contra valores de rodajas de plátano maduras. Este proceso duró 4 horas y a lo largo de la osmo-deshidratación se tomaron muestras de cada lote cada 30 minutos y se lavaron con agua destilada para eliminar el exceso de las soluciones. El exceso de agua era removido con toallas de papel. Se observó que las rodajas de plátano se oscurecían más rápido sin tratamientos de quitina. Esto se midió con base en el valor *L*, al término de las determinaciones de los colores (escala *L*, *a*, *b*)⁴. Se midió la actividad de la polifenol oxidasa, la presencia de quitina no cambió la tendencia de la actividad de la polifenol oxidasa. Por lo tanto, la quitina no controla la actividad de ésta durante el secado osmótico. La quitina tiene influencia en el valor *L*, desde la concentración más baja; se recomienda para evitar la disminución del valor *L*. la quitina es recomendable para los frutos que presentan oscurecimiento no deseado ya que lo suaviza.

En los Laboratorios 301 a 303 del Edificio E-3 del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM, en el 2010, se realizó una investigación usando películas de quitina disuelta en MAC-141[®] (Flores-Ortega, 2008). Estas películas se aplicaron a fresas, comparando su desempeño con

⁴ En 1986, la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, por sus siglas en francés, "Commission Internationale de L'Éclairage") optó por un nuevo sistema de medición del color basándose en la determinación de valores triestímulo, a partir de los cuales se definía un espacio tridimensional. Este sistema llamado Cie-Lab, se plantea como una medida más objetiva de color que lo define a partir de coordenadas denominadas L* (medida de la luminosidad donde negro=0 y blanco=100), .a* (a* es una medida de la intensidad de color rojo y -a* de color verde) y b* (b* medida de la intensidad de color amarillo y -b* de color azul). Los parámetros C* (del griego chroma o χρωμα, color o saturación) y H* (tonalidad o tono) se calculan a partir de a* y b* y, junto con L*, definen las coordenadas del espacio cilíndrico que contiene los tres atributos psico-físicos básicos del color (luminosidad, saturación y tonalidad) (Casassa y Sari, 2006)

lotes con películas de quitosana a diferentes concentraciones (0.5%, 1.0%, 1.5% y 2.0% m/v) disueltas en agua destilada acidulada con ácido acético (0.5% vol) y un lote blanco (sin ningún tipo de película), con el fin de evaluar la vida de anaquel de los lotes de fresas, realizando las siguientes determinaciones: a) Pérdida de humedad, b) pH, c) Acidez titulable, d) °Bx, e) Inspección visual (reportar principalmente el desarrollo de hongos) (Ortega-Granados, 2010). De acuerdo con el autor, las películas de quitosana y la de quitina aumentaron ligeramente la vida de anaquel con respecto al lote blanco de fresas sin recubrimiento. La película de quitina mostró potencial para ser empleada en fresas, ya que redujo la pérdida de humedad, no tendió a cambiar el pH, ni la acidez, retardó la actividad metabólica de la fruta, observándose esto en los °Bx y no hubo aparente desarrollo de microorganismos (visualmente).

2.4. CONSERVACIÓN DE LAS UVAS DE MESA

La apariencia visual constituye un elemento fundamental en la selección de un alimento. La primera sensación que se percibe es la visual e influye considerablemente en la decisión de aceptación o rechazo de un producto. Se observa que con frecuencia los consumidores rechazan los productos hortofrutícolas frescos por presentar daños, o calidad sensorial inaceptable (Artés-Hernández, 2004).

La solución más eficaz y prácticamente la única empleada a escala industrial para prevenir las infecciones fúngicas, y más concretamente *Botrytis cinérea*, consiste en la conservación frigorífica junto con la aplicación de SO₂ (Artés-Hernández, 2004).

Teniendo en cuenta que la temperatura de congelación de las bayas es de -2.1°C, y que el raspón⁵ es mucho más sensible, sufriendo congelación a temperaturas por debajo de -0.5°C, se recomienda que la temperatura de conservación sea de -0.5 a 0°C, se recomienda una HR del 90 a 95% (Artés-Hernández, 2004).

Exclusivamente con la refrigeración no se consigue impedir el crecimiento de los microorganismos perjudiciales, por lo que se hace necesario recurrir a tratamientos suplementarios con acción fungicida (Artés-Hernández, 2004).

Fumigación en cámara, La dosis a aplicar de SO₂ depende fundamentalmente de la susceptibilidad a las podredumbres de la variedad, cantidad de fruto a tratar, tipo de envase, velocidad y uniformidad en la distribución del aire, tamaño de la cámara y pérdidas por deposición en los componentes de la misma. Atendiendo a estos factores, una concentración en volumen del 0.5% durante 20 min si el fruto no está embolsado y 30 min si lo está, puede ser suficiente (Artés-Hernández, 2004). Generadores de anhídrido sulfuroso han extendido la desinfección de las uvas dispuestas en cajas de cartón de unos 5 a 10 kg y envueltas en un film plástico (polietileno o polipropileno) generalmente macroporados, introduciendo los generadores de SO₂ (con una relación aproximada de 1g de metabisulfito por cada kg de producto). Los generadores de anhídrido sulfuroso se presentan en forma de una almohadilla de papel poroso, formado por hojas especiales que contienen en su interior metabisulfito de potasio (K₂S₂O₅) o de sodio (Na₂S₂O₅). La humedad en el interior del envase donde se encuentran las

⁵ El raspón se caracteriza por un contenido bajo en azúcares (<1%), medio en ácidos libres (0.5%) y alto en ácidos en formas de sales (>0.7%) (Artés-Hernández, 2004).

uvas aumenta y reacciona con el metabisulfito, iniciándose el desprendimiento de SO₂ (Artés-Hernández, 2004).

Sin embargo, dado que la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los EEUU (*FDA*, por sus siglas en inglés) ha declarado al SO₂ como un agente que merece atención especial desde el punto de vista toxicológico, ha establecido como tolerancia máxima 10 ppm como la máxima tolerancia residual de sulfitos en la uva para su comercialización. Esto hace que la conservación de las uvas se convierta en un gran desafío para los comerciantes de uva de mesa que requieren almacenar por tiempos prolongados el producto, obligándolos a buscar nuevas alternativas, como el uso de películas que ayuden a la conservación de la fruta.

2.5. CONSERVACIÓN DE UVAS CON PELÍCULAS DE QUITINA Y QUITOSANA

En estudios recientes se ha empleado el uso de películas de quitosana para proteger a las uvas del moho gris, dado que el uso de sustancias naturales como la quitosana se ha considerado como una opción viable.

En un estudio relativamente reciente se empleó la quitosana en tratamientos pre y post-cosecha con el objetivo de investigar su efectividad en el control de la pudrición causado por moho gris durante el almacenamiento de uva (Romanazzi y col., 2002).

En los tratamientos precosecha se redujo significativamente la incidencia de moho gris, en comparación con el blanco. Las uvas de mesa tratadas con quitosana al 1.0% mostraron un aumento significativo de la actividad de la fenilalanina aminoliasa (*PAL*, por sus siglas en inglés). En consecuencia, además de una actividad directa contra *Botrytis cinerea*, la quitosana produce otros efectos que contribuyen a reducir las enfermedades causadas por patógenos. En los tratamientos postcosecha, los racimos son sumergidos en soluciones de quitosana e inoculados con el patógeno *Botrytis cinerea*, mostraron una reducción en la incidencia y la gravedad del desarrollo del moho gris, en comparación con el blanco. Mayores concentraciones de quitosana, han demostrado una mayor reducción de la enfermedad (Romanazzi y col., 2002).

En otro estudio se emplearon películas de quitosana, las cuales se rociaron con *Cryptococcus laurentii* el cual, en estudios anteriores, había demostrado inhibir el desarrollo de algunos patógenos como *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Alternaria alternata* y *Rhizopus stolonifer* y también controló las enfermedades correspondientes de cada uno de estos. La quitosana no influyó en la proliferación de *C. laurentii* cuando se aplicaba en vivo a concentraciones de 0.01 a 1 g/L. La combinación de quitosana con *C. laurentii* dio lugar a la inhibición sinérgica de la pudrición del moho azul. Por lo tanto, la combinación de quitosana con un antagonista permite aprovechar las propiedades antifúngicas y la actividad biológica del antagonista. El tratamiento realizado al rociar solución de quitosana con un antagonista, redujo significativamente la descomposición de la fruta, en comparación con la fruta blanco, medido después de 42 días de almacenamiento a 0°C y durante tres días a 20°C (Menga y Tian, 2009).

Los artículos mencionados se enfocan al desarrollo de los microorganismos, los cuales se describen y comparan contra lotes sin tratamientos de quitosana, pero no se hace una descripción de las características físicas de la uva al término de la investigación, ni de sus propiedades nutricionales.

En México, 14 estados se dedican a la producción de uva, entre los que destacan: Aguascalientes, Baja California, Coahuila, Sonora y Zacatecas, siendo Sonora el estado principal productor de uva en México. Así, la cosecha de uva, su importación y exportación ha ido creciendo de manera significativa (Tabla 2.2), teniendo de este comercio significativos ingresos. La utilización de uvas con una vida de anaquel más larga puede permitir su comercialización en un mayor número de países, teniendo un mayor impacto, debido a que la exportación de uva va en incremento.

Tabla 2.2. Producción agrícola; cíclicos y perennes 2012 (SAGARPA-SIAP, 2013)

PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Cíclicos y Perennes 2012 (SAGARPA-SIAP)							
	Cultivo	Valor Producción	Producción		Cultivo	Valor Producción	Producción
		(MILLONES DE PESOS)	(Ton)			(MILLONES DE PESOS)	(Ton)
1	MAÍZ GRANO	88,489.57	22,069,254.42	11	PAPA	10,679.03	1,801,618.31
2	CAÑA DE AZÚCAR	33,807.94	50,946,483.13	12	CAFE CEREZA	8,647.58	1,336,882.14
3	SORGO GRANO	23,782.11	6,969,501.72	13	MAÍZ FORRAJERO	7,100.34	12,062,988.20
4	PASTOS	17,915.30	47,646,348.61	14	UVA	7,093.69	375,298.40
5	AGUACATE	16,608.15	1,316,104.02	15	NARANJA	6,024.12	3,666,789.65
6	ALFALFA VERDE	15,132.17	31,019,937.24	16	ALGODÓN HUESO	5,911.37	668,661.90
7	FRIJOL	13,784.25	1,080,856.66	17	PLÁTANO	5,780.12	2,203,861.42
8	CHILE VERDE	13,284.43	2,379,735.80	18	AVENA FORRAJERA	5,344.73	10,903,361.39
9	TOMATE ROJO (JITOMATE)	13,146.38	2,838,369.87	19	LIMÓN	4,909.08	2,055,208.89
10	TRIGO GRANO	11,814.13	3,274,336.75	20	NUEZ	4,773.28	110,604.73

La normativa aplicable a las uvas de mesa es la siguiente: “Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Uva de mesa (*Vitis vinifera* L.). Especificaciones”, NMX-FF-026-SCFI-2006, publicada el Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México (DOF, 2006).

CAPÍTULO 3

DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITINA-QUITOSANA

La obtención de la **pqtqs**, en los laboratorios se realizó a partir de cefalotórax y exoesqueletos de camarón parcialmente desproteinizados (CPD), utilizando el disolvente MAC-141[©] en una proporción de 10 g de MAC-141[©] por cada gramo de CPD (Flores y col., 2006a, b, 2007; Flores-Ortega, 2004, 2008). Después se realizó un tratamiento de sonicación con 0.7 pulsos/segundo durante 15 minutos, terminado el proceso, la muestra se filtró en un equipo Millipore, el filtrado obtenido (pqtqs) se colocó en una cámara de alta humedad por 3 días, para retirar el exceso de iones Ca^{++} , ya que es higroscópico y altamente soluble, absorbe agua (debido a la alta humedad en la cámara), condensa el vapor de agua y se solubiliza, el agua condensada se retira haciendo uso de pipetas Pasteur, para así obtener la película libre de calcio. La película se colocó en vasos de precipitado, se adicionó un agitador magnético y se dejó agitando durante 24 h para homogeneizarla. Esta última adición al proceso patentado tiene el propósito de aumentar el grado de desacetilación de la quitina obtenida (Sarabia-Bañuelos, 2011).

3.2. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD PARA OBTENER PELÍCULAS DE QUITINA SIGMA[®] EN DISOLVENTE MAC-141[©]

Se realizaron también pruebas de solubilidad de muestras de quitina grado analítico de la marca Sigma[®] en el solvente MAC-141[©] (ya que el uso de este solvente es nuevo y no hay información), con el fin de determinar la concentración óptima para usar en el estudio. Para esto se probaron los siguientes rangos: (a) 0.01 g de quitina, (b) 0.05 g de quitina, (c) 0.1 g de quitina y (d) 0.5 g de quitina, todos en 10 g de solvente. La concentración seleccionada fue la (b), ya que visualmente tenía una mayor viscosidad aparente⁶ con respecto a la (a), lo que indicó una mayor cantidad de quitina solubilizada. La (b) tenía una viscosidad aparente similar con la (c) y (d), pero estas dos tenían demasiada quitina no solubilizada, por lo que se seleccionó la opción (b).

3.3. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITINA SIGMA[®]

La obtención de las películas de quitina marca SIGMA[®], la cual se disolvió en solvente MAC-141[©] en una proporción de 10 g de MAC-141[©] por cada 0.05 g de quitina, se dejó en agitación por 48 h, terminado el proceso, la muestra se filtró en un equipo Millipore y el filtrado obtenido se colocó en una cámara de alta humedad por tres días, para hidratar los iones Ca^{++} , hasta solubilizar la mayor cantidad posible. El agua se retiraba haciendo uso de pipetas Pasteur, para así obtener la pqt Sigma[®] parcialmente libre de calcio. Ésta se colocó en vasos de precipitados,

⁶ Se denominó en esta investigación viscosidad aparente a aquella que no fue medida con un viscosímetro sino solamente evaluada de manera subjetiva con un agitador de vidrio al caer por la acción de la gravedad

se adicionó un agitador magnético, se dejó agitando durante 24 h y, al terminar la agitación, se homogeneizó con un mortero.

3.4. OBTENCIÓN DE PELÍCULAS DE QUITOSANA

Las películas de quitosana se obtuvieron a partir de quitosana de la marca SIGMA® con un 85% de desacetilación, una masa molecular promedio, la cual se disolvió en agua destilada acidulada con ácido acético al 0.5%, a partir de ácido acético glacial. Se pesó la masa indicada para cada concentración en un vidrio de reloj, posteriormente, se colocó en un matraz aforado de 100 mL y se llevó al aforo con ácido acético al 0.5%. Se agitó manualmente hasta disolver la mayor cantidad de quitosana, después se agregó un agitador magnético y se dejó agitando hasta que se solubilizó completamente la quitosana sin la presencia de burbujas, para tener una película homogénea. La relación para las diferentes concentraciones se presenta en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1. Soluciones de quitosana a diferentes concentraciones

Película de quitosana al (m/v):	Quitosana (g)	Aforado a 100 mL con una solución acuosa de ácido acético al 0.5%
0.5%	0.5	
1.0%	1.0	
1.5%	1.5	
2.0%	2.0	

3.5. APLICACIÓN DE LAS PELÍCULAS DE QUITINA Y QUITOSANA

Las películas de quitina después de ser homogeneizadas se aplicaron con el uso de un pincel a los lotes de uvas correspondientes, con el fin de cubrir toda la superficie, procurando distribuirla homogéneamente para tener un mismo grosor de pqt en toda la uva.

Para las películas de quitosana, **pqs**, cada lote de uva se sumergió en la solución con la concentración correspondiente por 3 segundos. Por la característica de la uva de ser un fruto de piel lisa y poder distribuir uniformemente esta película, ya que si se utilizara la técnica de cepillado no quedaría completamente cubierta. El pincel se utilizó sólo para retirar el exceso de solución y procurar un grosor uniforme de la **pqs** en la uva.

3.6. FORMACIÓN DE LOS LOTES

Para homogeneizar los lotes, el criterio principal fue que todos los racimos empleados tuvieran un mínimo de 16°Bx. Para lograrlo, se tomaron 5 uvas al azar del racimo, se les determinó a cada una su concentración en °Bx y si el promedio era mayor a 16°Bx, se seleccionaba el racimo para formar un lote. Los racimos que cumplieron con el anterior criterio, se cortaron para formar 15 racimos más pequeños (muestras), con masas entre 30 g y 35 g. Se identificaron las características físicas del fruto original y se le adicionó la película correspondiente.

Los lotes formados se almacenaron en un estante ventilado y a la sombra con el fin de evitar la pérdida de agua acelerada causada por el sol. Se conservaron a temperatura ambiente (21±1°C

temperatura promedio). A estos lotes se les realizaron las pruebas que se mencionan a continuación por 10 días cada 24 horas.⁷

3.7. DETERMINACIÓN DE LA PÉRDIDA DE HUMEDAD

De cada lote se tomaron 3 muestras. Éstas se pesaron cada 24 h en una balanza analítica (Mettler Toledo AG245). Cada medición se registró y se calculó el promedio de las masas de cada día, para así obtener m_x y se calculó $\%m_p$. Con los resultados se construyó una gráfica de $\%m_p$ contra tiempo.

$$\%m_p = \frac{(m_i - m_x)(100\%)}{m_i} \quad (3.1)$$

donde $\%m_p$ = porcentaje de masa perdida

m_x = masa reportada en el día “x (del 0 al 11)”

m_i = masa inicial de la muestra (promedio de las 3 muestras al día cero)

3.8. MEDICIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES⁸ (SST)

Se realizó con base a lo indicado en la NMX-FF-015-1982 (DOF, 1982b). Se calibró a cero el refractómetro (ATAGO-ATC-1), colocando unas gotas de agua en el prisma. Ya calibrado, se limpió el agua del prisma y la base con un pañuelo desechable. Se tomó una muestra de uva del lote en estudio, ésta se colocó en un mortero y se molió, para así obtener el jugo, el cual se colocó en un recipiente limpio. Se colocaron una o dos gotas del jugo de uva y se leyó la escala del refractómetro, para así reportar los SST en °Bx. Con los °Bx obtenidos de cada lote por 10 días, se determinó la diferencia que hubo entre el primer día y los demás días de la investigación, con el fin de ajustar a cero todos los valores (esto no afecta las pendientes de la gráfica). Obtenida esta diferencia, se graficó la diferencia de °Bx contra el tiempo (días), para así determinar las modificaciones que sufren los SST en las uvas:

$$\Delta^{\circ}Bx = ^{\circ}Bx_x - ^{\circ}Bx_0 \quad (3.2)$$

$\Delta^{\circ}Bx$ = Variabilidad de los sólidos solubles totales en la uva durante 10 días

$^{\circ}Bx_x$ = Determinación de °Bx al día x (día 0 a 10)

$^{\circ}Bx_0$ = Determinación de °Bx el primer día.

Este método se basa en la propiedad de los líquidos de refractar la luz en proporción a su contenido de sólidos solubles totales.

Nota: La refracción es el cambio de dirección que experimenta un rayo de luz al pasar de un medio de una densidad a otro de densidad diferente.

⁷ La pérdida de humedad y las inspecciones de microscopía de contraste se realizaron hasta el día 11, día en el cual todas las uvas de los lotes ya presentan arrugas

⁸ La medida de los sólidos solubles totales en jugos de uva, da una buena indicación del contenido de azúcar, ya que éstos representan 90-94% de los sólidos solubles totales y, de ahí la madurez de las uvas. También pueden ser medidos por hidrometría, que mide la masa específica, o por refractometría, que determina el índice de refracción. Debido a que este estudio se hizo con base en la NMX-FF-026-SCFI-2006, con refractometría, se reportaron los resultados en °Bx, como lo indica la norma mexicana (DOF, 2006)

3.9. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE

Del jugo obtenido, se pesaron lo más pronto posible y con exactitud entre 1 y 2 g de muestra. Se diluyó la muestra con 50 mL de agua destilada. Se le adicionaron 2 o 3 gotas de solución de fenolftaleína. Se tituló con una solución de NaOH [0.1N] (valorado), poco a poco hasta obtener un color rosado que permaneció durante 30 s aproximadamente. Se anotó el volumen de NaOH gastado. Se realizó por triplicado el procedimiento. Los resultados se expresaron en mEq de ácido tartárico por cada 100 g de uva, usando la siguiente relación (DOF, 1982a):

$$Acidez = \left(\frac{100 \times N \times V_1}{m} \right) (F) \quad (3.3)$$

N= Normalidad de NaOH (mEq/mL)

V₁= Vol. gastado de NaOH (mL)

m= masa de la muestra (g)

F= 0.075 g/mEq⁹

Con la acidez obtenida de cada lote por 10 días, se determinó la diferencia que hubo entre el primer día y los demás días de la investigación, con el fin de ajustar a cero todos los valores (esto no afecta las pendientes de la gráfica). Se graficó la diferencia de acidez contra el tiempo (días), para así determinar las modificaciones que sufre principalmente el ácido tartárico en las uvas:

$$\Delta Acidez = Acidez_x - Acidez_0 \quad (3.4)$$

$\Delta Acidez$ = Variabilidad de la acidez en la uva durante 10 días

$Acidez_x$ = Determinación de la acidez al día x (día 0 al 10)

$Acidez_0$ = Determinación de la acidez el primer día.

Este método se basa en la neutralización de los iones H⁺ con solución valorada de hidróxido de sodio (NaOH), en presencia de una sustancia indicadora (fenolftaleína).

3.10. DETERMINACIÓN DEL pH

Del jugo restante, se pesaron lo más pronto posible, aproximadamente 10 g de muestra. Se diluyeron con aproximadamente 100 mL de agua destilada y se pusieron en agitación por 5 min. Pasado este tiempo, se les colocó el electrodo del potenciómetro, hasta que se estabilizó la lectura del potenciómetro. Se registró la medición obtenida. Con el pH obtenido de cada lote por 10 días, se determinó la diferencia en valor absoluto que hubo entre el primer día y los demás días de la investigación, con el fin de ajustar a cero todos los valores (esto afectó las pendientes de la gráfica, que son negativas, las que se hicieron positivas, conservando las magnitudes absolutas).

⁹El valor "0.075", es el factor indicado en la NMX-FF-011-1982 (DOF, 1982a), el cual corresponde a la masa equivalente dividido entre mil (es la masa molecular del ácido tartárico dividido entre el número de equivalentes del ácido tartárico y dividido entre mil): pEq=(150 g/mol)/(2 eq/mol)=(75 g/eq) (1eq/1000mEq)= **0.075g/mEq**, ya que este ácido es el mayoritario en la muestra y se solicita que se exprese con este valor en las especificaciones para la uva, según la NMX-FF-026-SCFI-2006 (DOF, 2006)

Esta diferencia en valor absoluto del pH se graficó contra el tiempo (días), para así determinar las variaciones que sufre el pH en las uvas.

$$\Delta pH = |pH_x - pH_0| \quad (3.5)$$

ΔpH = Variación del pH en la uva durante 10 días

pH_x = Determinación del pH del día x (día 0 al 10)

pH_0 = Determinación del pH el primer día.

Nota: El pH depende directamente de los ácidos disueltos (acidez titulable), ya que si la acidez titulable aumenta, el pH disminuye, es decir entre más aumenta la acidez, más negativa es la diferencia entre el día 0 y el día “x” del pH (ver Anexo II, Tabla 4.35), lo que puede causar un poco de confusión al comparar las gráficas de pH y acidez al usar los valores absolutos (ver Anexo II, Tabla 4.36). Ambos gráficos de datos muestran una misma tendencia positiva, ya que eso facilita darse cuenta de la relación que existe entre la acidez y el pH. Al aumentar la acidez, se incrementa la variación del pH, mostrando la relación que existe entre estas dos determinaciones.

El método empleado, se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro).

3.11. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

Se pesaron lo más pronto posible y con exactitud de 1 a 1.5 g de muestra. Se pasaron a un matraz aforado de 100 mL y se aforaron con agua destilada. De la solución aforada, se tomó una alícuota de 10 mL y se puso en un matraz Erlenmeyer. Ésta se tituló con una solución de 2,6-DI (2,6-Diclorofenolindofenol) (valorada), poco a poco, hasta obtener un color rosado, por 30 s aproximadamente. Se anotó el volumen de 2,6-DI gastado y se realizaron tres determinaciones de la misma solución aforada. Se expresaron los resultados en mg de ácido ascórbico por cada 100 g de muestra, usando la siguiente relación:

$$mg_{ac.Asc.}/100g \text{ de muestra} = \left(\frac{1mg_{ac.Asc.}}{T} \right) \left(\frac{100 \times A \times V}{m \times a} \right) \quad (3.6)$$

T^{10} = 87.4 mL¹¹ de 2,6-DI,

A=Aforo (100 mL),

V= Volumen en mL gastados en la titulación de la muestra,

m= Masa en g de la muestra,

a= Alícuota de la muestra (10 mL)

Con los resultados obtenidos de cada lote por 10 días, se determinó la diferencia que hubo entre el primer día y los demás días de la investigación, con el fin de graficar los mg perdidos de vitamina C a lo largo de la investigación (esto no afecta las pendientes de la gráfica). Se

¹⁰ T: mL gastados de 2,6-DI en la titulación de 1mg de ácido ascórbico

¹¹ El valor 87.4 mL fue obtenido del promedio de las tres mediciones obtenidas al titular 1 mg de ácido ascórbico (ver Anexo II, Tabla 4.43)

graficaron los mg de vitamina C perdida contra el tiempo (días), para así determinar la pérdida de vitamina C que sufren las uvas:

$$mg \text{ de vitamina } C_{\text{perdidos}} = mg \text{ de Vit } C_0 - mg \text{ de Vit } C_x \quad (3.7)$$

mg de vitamina C_{perdidos} = mg perdidos de vitamina C durante 10 días

mg de Vit C₀ = mg de vitamina C el primer día.

mg de Vit C_x = mg de vitamina C al día *x* (del día 0 al 10)

Nota: Para valorar la solución de 2,6-DI, se preparó una solución de ácido ascórbico, para la cual se pesaron con exactitud 100 mg de ácido ascórbico, se colocaron en un matraz aforado de 100 mL, se llevó al aforo con ácido acético al 5% (v/v) y se agitó hasta homogeneizar la solución. Se tomó una alícuota de 1 mL y se colocó en un matraz Erlenmeyer y se adicionaron 9 mL de ácido acético al 5% (v/v), esta solución se tituló con la solución de 2,6-DI, el valor obtenido corresponde al valor T el cual se utilizó para calcular el contenido de vitamina C en la uva.

En éste método se oxida la vitamina C con una solución valorada de 2,6-diclorofenol-indofenol que al ser reducida completamente vira de color azul a rosa tenue.

3.12. INSPECCIÓN VISUAL

Cada 24 h se inspeccionaron las muestras al ojo desnudo con el fin de determinar la aparición de algún hongo, en especial *Botrytis cinerea* y determinar la alteración de la apariencia de la uva.

3.13. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO Y MICROSCOPIA DE CONTRASTE

Para probar la homogeneidad de las películas aplicadas se tomó como ejemplo una uva a la cual se le aplicó una pqs al 2.0%, se dejó en reposo por 24 h, la uva se cortó, para obtener un cubo de 1cm por lado aproximadamente. Posteriormente, se le realizó un tratamiento de secado en punto crítico (proceso realizado por especialistas del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM en dichas instalaciones). La muestra deshidratada, se sometió a un baño de oro para, posteriormente, observarla a alto vacío en un microscopio electrónico de barrido; éste proceso también se hizo para una uva sin película (blanco).

Este método es útil cuando se pretende estudiar la estructura externa de un organismo, primero se debe deshidratar la muestra, después se recubre con una capa de un metal pesado, en esta investigación como el oro, posteriormente se hace pasar un haz de electrones en una cámara a alto vacío, para “barrer” la superficies de la muestra y los electrones desviados por la capa de metal son recogidos y proyectados sobre una pantalla para producir una imagen (Madigan y col., 2004).

Las muestras confinadas para la determinación de pérdida de humedad se inspeccionaron cada 24 horas con un microscopio Olympus modelo SD-ILK para determinar los cambios físicos en la piel de las uvas, esto hasta la aparición de arrugas perceptibles a simple vista en todas las uvas.

3.14. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los resultados experimentales fueron analizados estadísticamente usando las metodologías aceptadas empleando un paquete computacional, Statgraphics Centurion versión XVI.I, utilizando un análisis de varianza (*ANOVA*, por sus siglas en inglés, *analysis of variance*). Los valores de F se obtuvieron de la Página de la UNAM (Anónimo, 2011). Usando el mismo paquete computacional se realizó un análisis de diferencia mínima significativa entre medias (*LSD*, por sus siglas en inglés *least significant difference*).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con objeto de evaluar la película elaborada con la quitina-quitosana obtenida en el laboratorio a partir de residuos de camarón, se emplearon como controles una película de quitina Sigma® disuelta con el mismo disolvente MAC-141©, películas de quitosana a diferentes concentraciones (0.5, 1.0, 1.5, 2.0) disueltas en ácido acético al 0.5% m/v, un lote con ácido acético y un blanco (sin película).

Dado que la mayor parte de las citas bibliográficas encontradas se referían a la quitosana, con objeto de poder comparar los resultados de esta investigación, se consideraron para el uso de la quitosana en recubrimientos las características de la quitosana Sigma® empleada (85% de desacetilación, masa molecular promedio), ácido usado para preparar soluciones acuosas (ácido acético al 0.5%), pH del medio, temperatura de almacenamiento y presencia de componentes como azúcares y sales proteínicas (Velázquez, 2008), los cuales no se describen con exactitud en la literatura, por lo que se usan aspectos propios y controlados con respecto al objetivo en esta investigación.

En un estudio con jitomates, se trataron de establecer relaciones usando quitosana con varios grados de desacetilación (alta, mediana y baja masa molecular), pero no se observó un patrón definido de acuerdo con el tipo de quitosana aplicado, ni en relación con la concentración empleada, contrario a los estudios llevados a cabo en frutas y hortalizas por otros autores, se observó que, a mayor concentración de quitosana, era mayor el control de microorganismos, tanto *in vitro* como *in situ* (Bautista y Bravo, 2004).

Al comparar el comportamiento de la quitina con respecto al de la quitosana, ya que aunque la quitina es la precursora de la quitosana, la quitina es insoluble en diferentes solventes, por lo que no se han reportado muchas aplicaciones en el área de los alimentos. Como se mencionaba en el capítulo anterior, hay sólo un estudio sobre el proceso de osmo-deshidratación de rodajas de plátano, las cuales fueron recubiertas con soluciones de quitina a diferentes concentraciones y sometidas a cambios de color con variabilidad de parámetros. Los autores indicaron que el mejor proceso fue el de la aplicación de quitina, ya que en las que no se aplicaron las películas se produjeron coloraciones indeseables (Waliszewski y col., 2002). En esta investigación se empleó disolvente MAC-141®, el cual solubiliza la quitina, siendo capaz de formar películas (Figura 4.1), pero éstas no son fáciles de manipular o aplicar, ya que no secan con facilidad y contienen iones de calcio. Aunque se extrajo la mayor parte de los iones de calcio en la cámara de alta humedad no fue suficiente para retirarlos de manera completa de la película). Al ser el calcio higroscópico, éste provoca una mayor pérdida de humedad en la superficie (la piel) de la uva.

Con la aplicación de las películas de quitina se esperaban efectos similares a los de la quitosana, ya que ésta ha sido probada en la industria de los alimentos hortofrutícolas como antioxidante, porque extiende la vida de anaquel de estos productos (Hernández-Lauzardo y col., 2005). Asimismo, retrasa la maduración de los frutos, pues la producción de O₂/CO₂/etileno se reducen y, además, retarda la pérdida de agua por efectos de la transpiración (Bautista-Baños y col., 2005).



Figura 4.1. Película de quitina parcialmente libre de Ca^{++} antes de ser homogeneizada

A continuación se presentan los resultados que se obtuvieron en esta investigación considerando las variables de pérdida de humedad, sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Bx}$), porcentaje de acidez, valor de pH, vitamina C (ácido ascórbico) y apariencia visual.

4.1. PÉRDIDA DE HUMEDAD

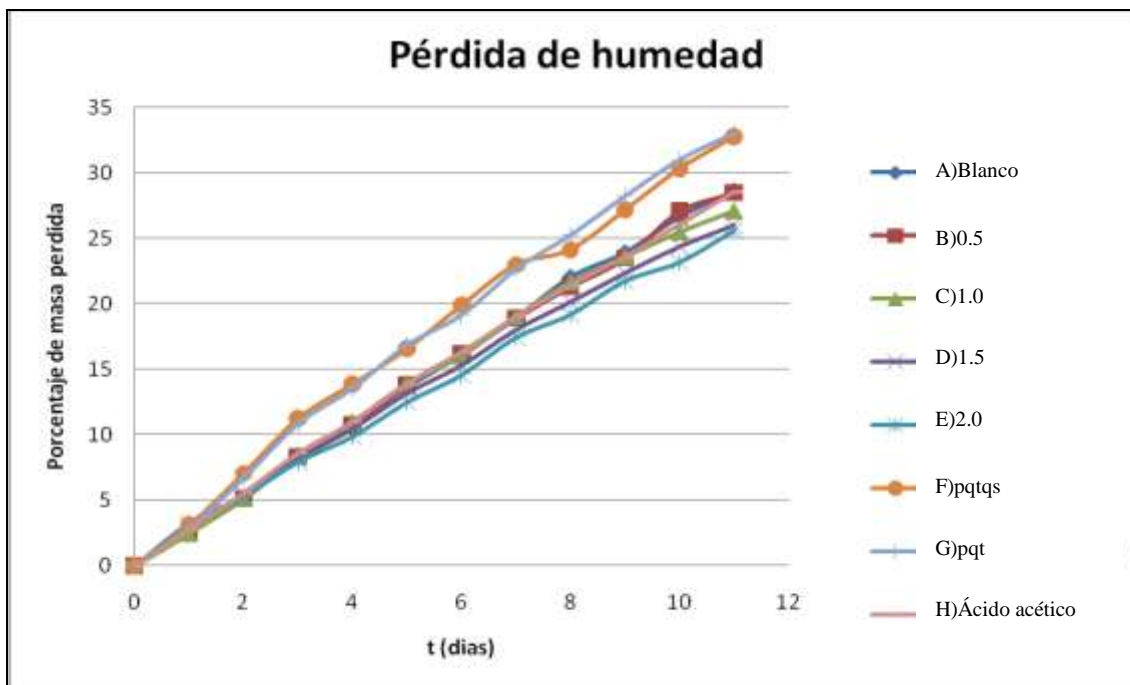
La pérdida de humedad se realizó hasta el día 11 para determinar el $\%m_p$, día en el que todas las uvas de los lotes presentaron arrugas perceptibles a simple vista (Tabla 4.15 a 4.22).

En la Gráfica 4.1, se aprecia la tendencia con la que cada lote está perdiendo agua. Se observa que los lotes con película de quitina son los que tienen una mayor pérdida de agua y los lotes con quitosana al 1.5% y 2.0% los que menos agua pierden.

La pendiente de las líneas encontradas indica la relación que existe entre la pérdida de agua en función del tiempo. Dicho de otro modo, es la velocidad con la que la uva va perdiendo agua a lo largo de la determinación. Por lo tanto, a mayor pendiente mayor velocidad en la pérdida de agua. La Tabla 4.1 indica la pendiente de cada tratamiento. Los de mayor pendiente son los lotes de quitina, debido a la presencia del calcio residual del disolvente MAC-141. Los de menor pendiente son los datos de quitosana al 1.5% y 2.0%, que son los que tienen más contenido de agua al final.

Tabla 4.1. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.1, para determinar la variabilidad de la pérdida de humedad de los diferentes tratamientos con película

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Blanco	$y = 2.6527x + 0.1649$	$R^2 = 0.9986$
Quitosana 0.5%	$y = 2.637x + 0.1653$	$R^2 = 0.9985$
Quitosana 1.0%	$y = 2.5368x + 0.5259$	$R^2 = 0.9948$
Quitosana 1.5%	$y = 2.3862x + 0.7412$	$R^2 = 0.9969$
Quitosana 2.0%	$y = 2.293x + 0.7595$	$R^2 = 0.9977$
Quitina-quitosana	$y = 2.9403x + 1.2542$	$R^2 = 0.9927$
Quitina Sigma®	$y = 3.0342x + 0.8282$	$R^2 = 0.9959$
Ácido acético	$y = 2.5854x + 0.5086$	$R^2 = 0.9986$



Gráfica 4.1. Comparación en la pérdida de humedad por 11 días de los diferentes tratamientos con y sin película de quitina, quitosana, ácido acético y blanco

Al realizar la comparación de pendientes del blanco con las películas, se aprecia en la Tabla 4.1 que la pqs al 2.0% disminuye su pendiente un 13.6%, reduciendo la pérdida de humedad. Esta propiedad ya ha sido reportada en las investigaciones realizadas por Bautista Baños y colaboradores en 2005. Asimismo, reportaron que las películas de quitosana retrasaban la maduración de los frutos, pues la producción de O_2/CO_2 /etileno se reducía. En otra investigación, Hernández Lauzardo y colaboradores en 2005, expresaban que la conservación de frutas y hortalizas durante el almacenamiento con el uso de la quitosana se favorece, esto lo atribuían a la capacidad de formar películas que protegen la superficie de frutas y hortalizas, regulando el intercambio de gases y humedad. Devlieghere y colaboradores en 2004 citaron que la quitosana actuaba como un agente que retiene al agua en las frutas. Al comparar las pqtqs y pqt con el blanco, estas aumentan la pérdida de humedad en un 10.8% y 14.4% respectivamente.

Los compuestos higroscópicos presentes en el residuo de solvente MAC-141[®], que queda después de la disolución de las quitinas para el caso de las dos películas de quitina, quitina-quitosana y quitina Sigma[®], podrían estar tomando agua de la piel de la uva, acelerando su deshidratación.

Al analizar estos datos de manera estadística, las hipótesis planteadas fueron:

- H_0 : El uso de películas en la uva no presenta cambios significativos en la pérdida de humedad en al menos un lote de uva.
- H_A : El uso de películas en la uva presenta cambios significativos en la pérdida de humedad en al menos un lote de uva.

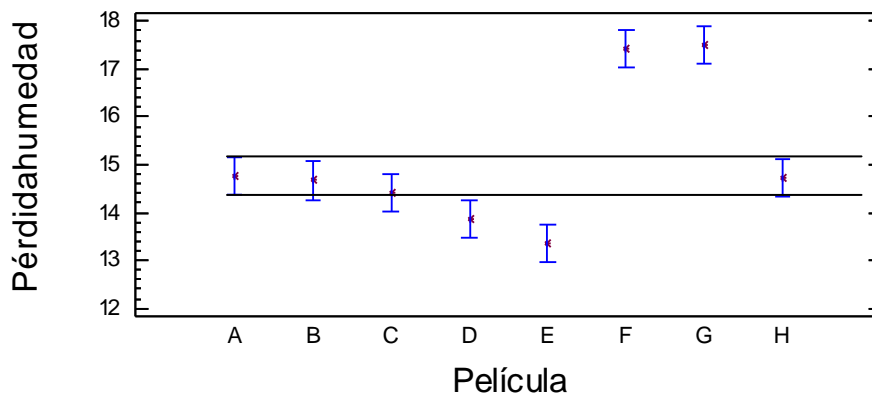
Para determinar la hipótesis que se acepta y la que se rechaza y si existe una diferencia significativa entre los lotes, se realizó un análisis de varianza multifactorial (ver Anexo II, Tabla 4.23), el cual determinó el valor estadístico de la prueba de cada fuente de variación. Los valores se compararon con valores de tablas de “Puntos porcentuales de la distribución F” para determinar si existía estadísticamente una diferencia significativa.

Se comparó el $F_a=30.45$ y el $F_b=769.55$ (ver Anexo II, Tabla 4.23) contra el $F_{\alpha, a-1, (b-1)(a-1)}$ y $F_{\alpha, b-1, (a-1)(b-1)}$, respectivamente (se obtuvieron de tablas). Para estos casos son los siguientes valores: $F_{\alpha, a-1, (b-1)(a-1)}=F_{0.05,7,77}=2.13$ y $F_{\alpha, b-1, (a-1)(b-1)}=F_{0.05,11,77}=1.91$, existe estadísticamente una diferencia significativa en la fuente de variación “A”, si $F_a > F_{0.05,7,77}$ y en la fuente de variación “B”, si $F_b > F_{0.05,11,77}$. En ambos son mayores, por lo que se corroboró que estadísticamente se tenían diferencias significativas entre los lotes. Por tanto, se concluyó que había diferencia significativa entre los lotes y se aceptaba H_A y se rechazaba H_0 .

Ya que se determinó que se aceptaba H_A , se realizó una gráfica de medias (Gráfica 4.2), empleando el método estadístico de intervalos con diferencia mínima significativa con un 95% de confianza, para poder determinar entre qué lotes existía diferencia y cuáles eran similares.

Para determinar si la pérdida de humedad usando las pqs al 1.5%(D) y 2.0%(E) era menor con respecto al lote blanco (A), se utilizó la Gráfica 4.2, donde se observó que D y E reducían la pérdida de humedad, pero no era necesario emplear la película E, ya que ésta se comportaba como D, teniendo como ventaja la película D que era más fácil de manipular, disolver y obtener, con respecto a E. El inconveniente en estos dos casos, es que las arrugas en las uvas son más marcadas. Probablemente esto se pudiera deber a un efecto visual provocado por el brillo que le otorgaba la película a la fruta, lo que hacía que se acentuaran más las arrugas.

Intervalo de medias con diferencia mínima significativa con un 95% de confianza



Gráfica 4.2. Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre la pérdida de humedad. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) blanco ácido acético

Otras películas que se comportaron de manera diferente con respecto al lote blanco (A), son las de pqtqs (F) y Sigma® (G), ya que éstas perdieron una mayor cantidad de agua, atribuible, como ya se mencionó, a la presencia de compuestos higroscópicos residuales del disolvente MAC-

141©. Entre las pqtqs y pqt no hay diferencia significativa, lo que indica que no importa el origen de la película, ya sea extraída del CPD haciendo uso de química verde o la extraída de forma comercial. En ambos casos el resultado es desfavorable.

Los tratamientos que se comportan como el lote blanco (A), son los de pqs al 0.5% (B), 1.0% (C) y el de ácido acético (H). Estos tratamientos muestran una pérdida de agua similar al lote (A), con la diferencia que estos lotes tienen un aumento en el porcentaje de las arrugas presentes en las uvas por la pérdida de agua (ver Anexo I. Tablas 4.15, 4.16, 4.17 y 4.22).

La pérdida de agua está relacionada con al menos cuatro aspectos evaluados en esta investigación, los cuales son % de acidez, pH, SST (°Bx) y la pérdida de turgencia, siendo esta última la más importante, ya que provoca un cambio en la firmeza de la uva y arrugamiento en la piel, características que el consumidor puede evaluar a simple vista y no necesita de algún equipo para poder determinar si el producto tiene la calidad que está buscando o no. Se considera que éste es el primer parámetro para acercarse al producto.

Inicialmente, el uso de películas brinda un aspecto deseable al consumidor, ya que otorga brillo a la fruta (ver Anexo I, Figura 4.4) pero, al perder agua, las arrugas que se forman en la uva son más visibles con respecto a las que no tienen ningún tipo de película.

De las Tablas 4.15 a 4.22 (ver Anexo I) se observa cómo se va deteriorando la piel de la uva a nivel microscópico debido a la cantidad de masa que ha perdido, la cual se le atribuye al agua transpirada, lo que provoca el fenómeno de la presencia de arrugas en la piel.

De las observaciones macroscópicas, hay un porcentaje de las muestras que presentan arrugas en la piel, mientras que las otras presentan ablandamiento. El lote blanco presenta el 27% de muestras arrugadas con un 13.6% de masa perdida al quinto día, mientras que el lote con quitosana al 0.5%, el mismo día ya presenta el 40% de muestras arrugadas, habiendo perdido prácticamente la misma masa con respecto al blanco. Esto se atribuye a que el ácido acético empleado para disolver la quitosana está estresando a la uva y lastimando su piel, como se observa en la Tabla 4.22 (ver Anexo I), ya que considerando el mismo día, las frutas sin recubrimiento (ver Anexo I, Tabla 4.15) tiene menos arrugas y son menos marcadas, en comparación con las que tienen ácido acético.

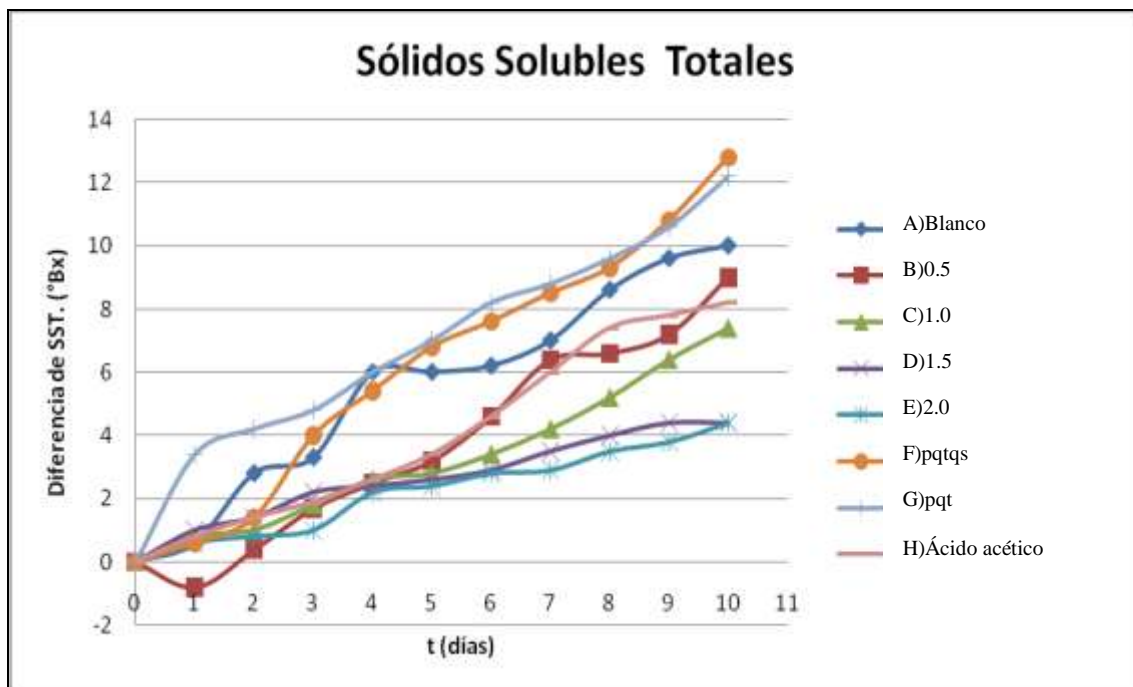
Los lotes de pqtqs y pqt, se vieron aún más perjudicados por las películas, ya que estos manifestaron arrugas prematuramente, una mayor pérdida de agua y una apariencia desagradable, debido a la presencia de una película esponjosa sobre la piel (ver Anexo I, Tablas 4.20-4.21). Esto indicaría que la quitina disuelta en MAC-141© es más idónea para producir esponjas y películas comerciales que sustituyan al poliestireno espumado que para recubrir frutas lisas (Arias-Torres y col., 2011; Flores y col., 2006a, b, 2007).

Para el séptimo día, las uvas sin película no presentaron más del 50% de muestras arrugadas, mientras que los lotes restantes ya superaban el 50% de muestras arrugadas. Para el día 11, el 100% de las muestras presentan arrugas, en todos los lotes, con la diferencia de que las arrugas del lote blanco son menos visibles y marcadas, que las de las uvas con película y con ácido acético.

La NMX-FF-026-SCFI-2006 “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.). ESPECIFICACIONES”, indica que las uvas deben estar enteras y turgentes (DOF, 2006), lo que no sucede en ninguno de los lotes al final de la investigación. Todos los lotes perdieron la turgencia, lo que tiene como consecuencia que no se cumplan las especificaciones dadas por la norma, siendo indistinto el uso de las películas empleadas con respecto al lote sin ellas. Aunque no se empleó ningún aparato para medir cuantitativamente la firmeza de las uvas, fueron analizadas cualitativamente presionándolas con los dedos y visualmente con un microscopio óptico al observar arrugas, siendo más firmes las uvas con pqs al 2.0% y las de menor firmeza las uvas con pqtqs y pqt. Esto se debe a que las uvas con pqtqs y pqt perdieron más agua y las uvas con pqs al 2.0% perdieron menos agua. Los porcentajes de pérdida de agua se muestran en el Anexo II Tabla 4.24.

4.2. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES (°Bx)

En la determinación de los SST se empleó el método propuesto en la NMX-FF-015-1982 (DOF, 1982b). Al analizar la Gráfica 4.3, se aprecia una tendencia similar a la de pérdida de humedad (Gráfica 4.1), siendo los lotes de pqs al 1.5% y 2.0%, los que menos modificaron la concentración de los SST, ya que perdieron menos agua, evitando su concentración. Por otro lado, los lotes de pqt fueron los que más modificaron su concentración de SST, ya que perdieron más agua, favoreciendo la concentración de los SST. Esto era esperable ya que las uvas son frutos no climatéricos y no tienen pérdidas de otros componentes en forma gaseosa o éstas son muy bajas.



Gráfica 4.3. Comparación en el aumento de los SST por 10 días de los diferentes tratamientos con película de quitina, quitosana, ácido acético y blanco

En una investigación realizada con duraznos recubiertos con pqs al 1.0 y 2.0%, se encontró que al finalizar la investigación, los duraznos con pqs tenían valores más elevados de °Bx con respecto

al lote libre de películas, debido a que la actividad respiratoria del durazno disminuye, por lo que su gasto energético también y así consumen menos azúcares para llevar a cabo sus reacciones metabólicas, por lo que al final de la investigación tenían más azúcares los duraznos tratados con pqs (Du y col., 1997). En esta investigación los °Bx de las uvas aumentaron en menor cantidad en los lotes con pqs al 1.5 y 2.0%, siendo contrarios a los resultados obtenidos por Du y col. (1997). Esto se puede atribuir a que los duraznos son un fruto climatérico, con un metabolismo activo, mientras que las uvas son un fruto no climatérico, teniendo un metabolismo prácticamente inactivo, por lo que la variación de los °Bx depende principalmente del agua transpirada y no del metabolismo como sucede en los duraznos.

Por lo antes mencionado, se puede inferir la siguiente relación: a mayor pérdida de agua, una mayor concentración de SST, y se corrobora cuando se comparan las pendientes de la Tabla 4.2 con las de la Tabla 4.1. Como en el caso anterior, se consideraron las dos hipótesis:

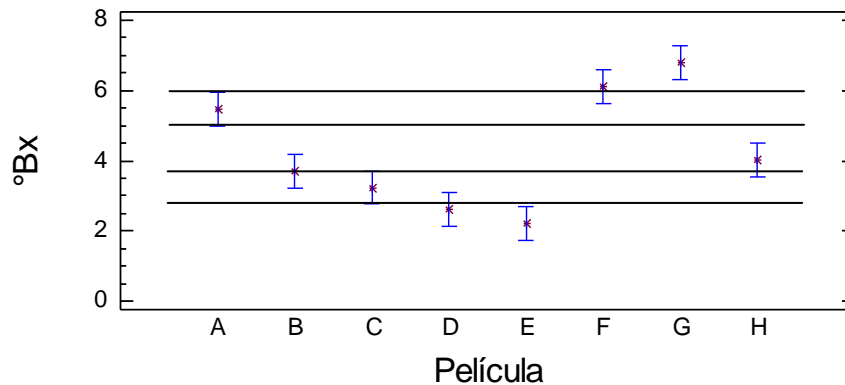
- H_0 : El uso de películas en la uva no presenta cambios significativos en la concentración de SST en al menos un lote de uva.
- H_A : El uso de películas en la uva presenta cambios significativos en la concentración de SST en al menos un lote de uva.

El análisis estadístico realizado dio los valores: $F_a=24.50$ y el $F_b=49.92$ (ver Anexo II, Tabla 4.26) contra $F_{\alpha, a-1, (b-1) (a-1)}=F_{0.05, 7, 70}=2.14$ y $F_{\alpha, b-1, (a-1) (b-1)}=F_{0.05, 10, 70}=1.97$, respectivamente. Para este caso, existió estadísticamente una diferencia significativa en la fuente de variación “a” y “b”, ya que ambos eran mayores. Estadísticamente se concluyó que había diferencia significativa entre los lotes y, por lo tanto, se aceptó H_A y se rechazó H_0 . Con la gráfica de medias (Gráfica 4.4), empleando el método estadístico de intervalos con diferencia mínima significativa, con un 95% de confianza, se encontraron los datos de entre qué lotes existían diferencias y cuáles eran similares en la cantidad de SST.

Tabla 4.2. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.3, para determinar el aumento de los SST de los diferentes tratamientos de película

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Blanco	$y = 1.0091x + 0.4182$	$R^2 = 0.9632$
Quitosana 0.5%	$y = 0.9736x - 1.1591$	$R^2 = 0.9712$
Quitosana 1.0%	$y = 0.7055x - 0.2909$	$R^2 = 0.9736$
Quitosana 1.5%	$y = 0.4227x + 0.5045$	$R^2 = 0.9685$
Quitosana 2.0%	$y = 0.43x + 0.0682$	$R^2 = 0.9789$
Quitina-quitosana	$y = 1.27x - 0.2409$	$R^2 = 0.9847$
Quitina Sigma®	$y = 1.0564x + 1.5182$	$R^2 = 0.9693$
Ácido acético	$y = 0.8836x - 0.4091$	$R^2 = 0.979$

Intervalo de medias con diferencia mínima significativa con un 95% de confianza



Gráfica 4.4. Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre el aumento de sólidos solubles totales. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético

Estadísticamente, por el análisis de medias, hubo una diferencia significativa al emplear las pqs, con respecto al lote blanco, indicando que el uso de pqs ayudó para que los SST no se concentraran tan rápido, como sucede con el lote blanco (Gráfica 4.4, A) y a las pqtqs y pqt (Gráfica 4.4, F y G).

Debido a que existieron diferencias entre las pqs (Gráfica 4.4, B \neq D y E), se deberían emplear criterios adicionales para poder determinar cuál concentración de la pqs tendría más ventajas. Para esto se consideraron los resultados obtenidos en la pérdida de humedad (Gráfica 4.2). Se observa que el uso de la pqs al 1.5% (D) sería suficiente para disminuir la pérdida de agua y la concentración de SST con respecto al lote blanco (A). Se podría emplear la pqs al 2% (E) debido a que se comportó igual que la (D), pero con la diferencia de que era más fácil de manipular, aplicar y disolver y se emplearía menor cantidad de quitosana para conservar el alimento.

La pqs (D), es igual de efectiva que la pqs al 1% (C) para evitar la concentración de SST (Gráfica 4.4) pero la (C) no muestra una disminución en la pérdida de agua con respecto al lote (A) (Gráfica 4.2).

La NMX-FF-026-SCFI-2006 “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera* L.). ESPECIFICACIONES”. Indica que los SST para estas variedades deben tener un valor mínimo de 16.0°Bx, mientras que no especifica nada del valor límite superior. Con base en esta especificación, se consideró en esta investigación “un resultado satisfactorio” cuando los SST de la uva se mantuvieran lo más estables posible y cercanos a 16°Bx. Los que mostraron un mejor resultado fueron los lotes con pqs al 1.5 y 2.0%, ya que tuvieron una menor variación y no tuvieron lecturas tan elevadas de °Bx al término de la investigación.

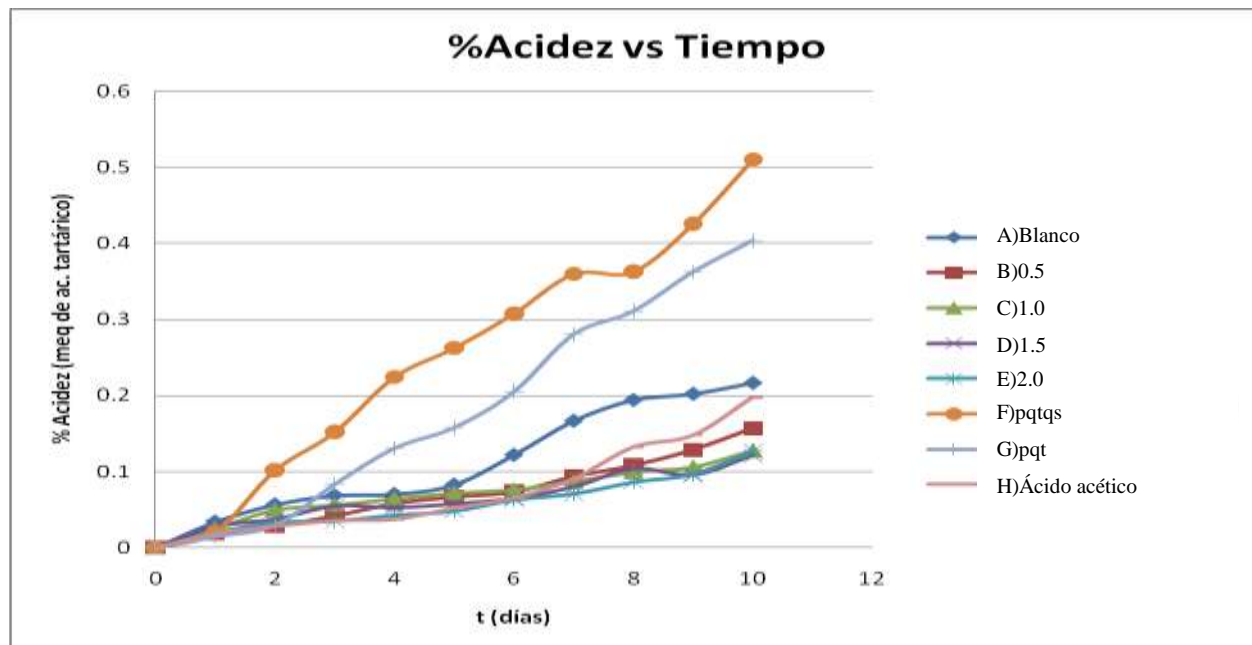
4.3. PORCENTAJE DE ACIDEZ

El método empleado para la determinación de la acidez titulable es el descrito en la NMX-FF-011-1982 (DOF, 1982a).

El aumento en la acidez de la uva se ve afectado por la pérdida de agua (Gráfica 4.1) y, por lo tanto, tienen una mayor concentración de ácidos (Gráfica 4.5). En este caso, son los lotes con pqt, los que tienen valores más altos de acidez y los que han perdido más agua.

Se determinó que el uso de la pqt y la pqtqs incrementan prácticamente al doble la velocidad de concentración del ácido tartárico con respecto al lote blanco. Si se consideran los datos de la Tabla 4.3, donde la pendiente indica el incremento del ácido tartárico con respecto al tiempo, la pendiente es de aproximadamente 0.04 para las pqt y de 0.02 para el lote blanco. Esto demostraría un incremento de la velocidad de concentración del ácido tartárico. Las pqs reducen a la mitad esta velocidad, ya que su pendiente es aproximadamente de 0.01.

Como en los dos casos anteriores se hizo el análisis estadístico correspondiente. Pudo concluirse que había diferencia significativa entre los lotes y realizando el estudio de las medias (Gráfica 4.6), con un 95% de confianza, durante 11 días, el tratamiento que era completamente diferente y no tuvo similitud con algún otro, es el pqtqs (F), aunque la pqt Sigma® (G) tiene la misma tendencia, es decir, para ambas películas aumenta la acidez en una mayor proporción con respecto a la del lote blanco. La pqs que evitó el aumento de acidez a la velocidad del lote blanco, fue la pqs al 1.5% (D) y 2.0% (E), favoreciendo que la acidez en la fruta fuera más estable y no sufriera grandes cambios. Nuevamente se apreció que no hubo una diferencia significativa entre estas concentraciones, por lo que se podría emplear indistintamente cualquiera de las dos concentraciones, pero se puede optar por la de 1.5%, por las ventajas mencionadas anteriormente.



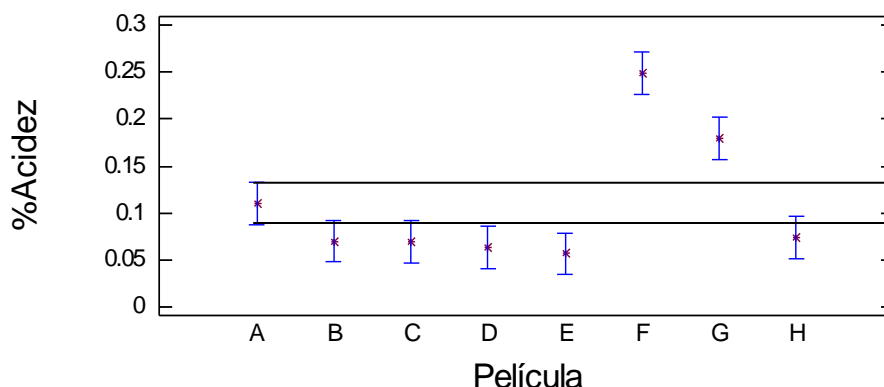
Gráfica 4.5. Comparación en el aumento de mEq de ácido tartárico (%Acidez) por 10 días de los diferentes tratamientos con película de quitina, quitosana, ácido acético y blanco (sin película)

Tabla 4.3. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.5, para determinar el aumento de mEq de ácido tartárico de los diferentes tratamientos de película

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Blanco	$y = 0.0219x + 0.0004$	$R^2 = 0.964$
Quitosana 0.5%	$y = 0.0143x - 0.0015$	$R^2 = 0.9799$
Quitosana 1.0%	$y = 0.0108x + 0.0154$	$R^2 = 0.9551$
Quitosana 1.5%	$y = 0.0103x + 0.0117$	$R^2 = 0.9445$
Quitosana 2.0%	$y = 0.0108x + 0.0027$	$R^2 = 0.9583$
Quitina-quitosana	$y = 0.0496x + 0.0001$	$R^2 = 0.9862$
Quitina Sigma®	$y = 0.0429x - 0.0346$	$R^2 = 0.985$
Ácido acético	$y = 0.0177x - 0.0153$	$R^2 = 0.9046$

Para el % de acidez la NMX-FF-026-SCFI-2006 “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera L.*). ESPECIFICACIONES”, solamente indica que se debe hacer dicha determinación, pero no reporta ningún valor mínimo o máximo permisible en la uva, es por eso que se realizó esta determinación, pero no reporta la norma ningún valor para ser comparado.

Intervalo de medias con diferencia mínima significativa con un 95% de confianza



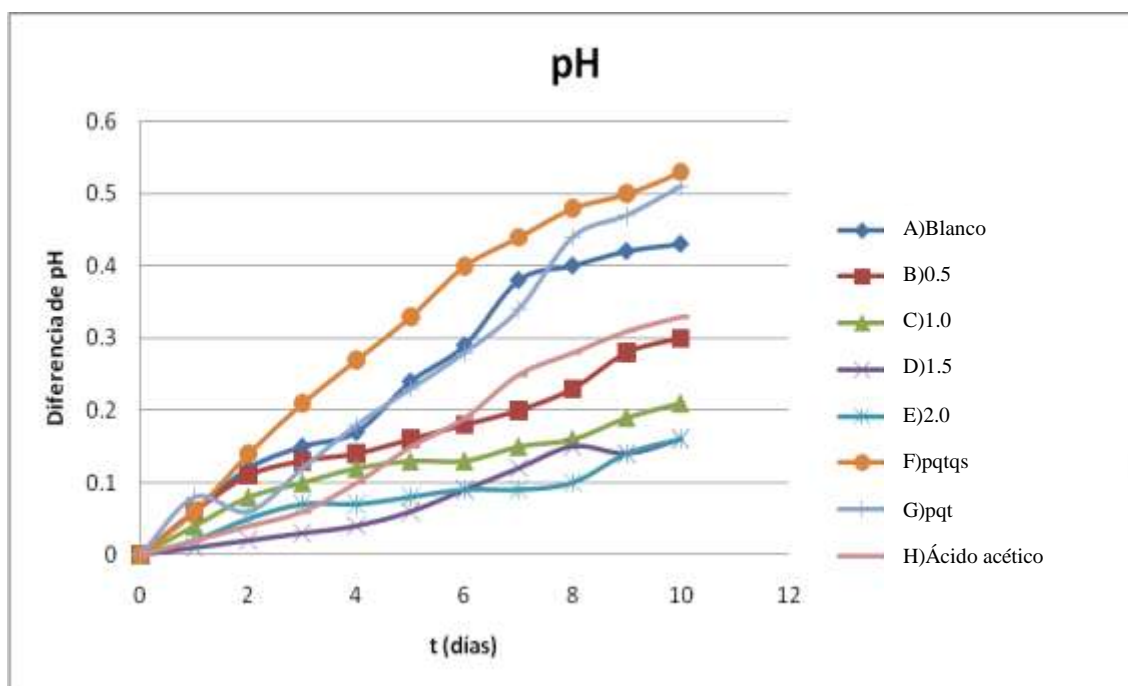
Gráfica 4.6. Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para la determinación de la diferencia significativa entre el aumento del %Acidez (mEq de ácido tartárico). A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético

En una investigación para determinar la vida de anaquel de la uva mínimamente procesada con distintos lavados, se consideró una acidez de 0.50 ± 0.04 mEq de ácido tartárico por cada 100 g de uva, con una calidad aceptable. Superado este valor, los autores consideraron que las frutas eran ácidas para su consumo (Artés-Hernández y col., 2006). Este estudio fue realizado en España. Este valor podría variar si se hiciera en México, ya que el sentido del gusto se desarrolla por educación y lo que para otro grupo étnico podría ser muy ácido sería poco ácido para otro. En la Tabla 4.31 (ver Anexo II), se puede observar que los lotes blanco y el de quitina 1.5% desde el día 0 estaban en los límites de acidez según el análisis sensorial realizado por Artés-Hernández y col., en 2006. La ventaja que tendría el lote de pqs al 1.5% sobre el blanco, es que la variación de

la acidez se vería reducida (ver Anexo II, Tabla 4.30). Esto se debe a las propiedades de la pqs de conservar las características iniciales de la uva. En términos generales las pqs en sus diferentes concentraciones ayudaron a conservar las características iniciales de la uva, evitando que aumentara la acidez en la fruta, mientras que las pqt aumentaron con una mayor velocidad la acidez, lo que haría que tuvieran un sabor muy ácido para el consumidor, en comparación con el lote blanco.

4.4. VALOR DE pH

En la Gráfica 4.7 se puede observar la variación que tuvo el pH del día 1 al día 11. Las pendientes son positivas (Tabla 4.4) debido a que se emplearon valores absolutos (ver Anexo II, Tabla 4.37) para poder tener dicha tendencia y facilitar la comparación de los resultados obtenidos pero durante la investigación el pH descendió (ver Anexo II, Tabla 4.35). Esto era esperable, ya que la concentración de los ácidos aumentó. Se puede observar cómo el % de acidez influye en el pH, ya que a mayor aumento del % de acidez (Gráfica 4.5), hay una mayor variación en el pH (Gráfica 4.7).



Gráfica 4.7. Comparación de la variación en la disminución del pH por 10 días para los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, blanco (sin película) y ácido acético

Tabla 4.4. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.7, para determinar la variación del pH de los diferentes tratamientos de película

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Blanco	$y = 0.0455x + 0.0141$	$R^2 = 0.977$
Quitosana 0.5%	$y = 0.0265x + 0.03$	$R^2 = 0.9663$
Quitosana 1.0%	$y = 0.0182x + 0.0282$	$R^2 = 0.9447$
Quitosana 1.5%	$y = 0.0176x - 0.0136$	$R^2 = 0.9591$

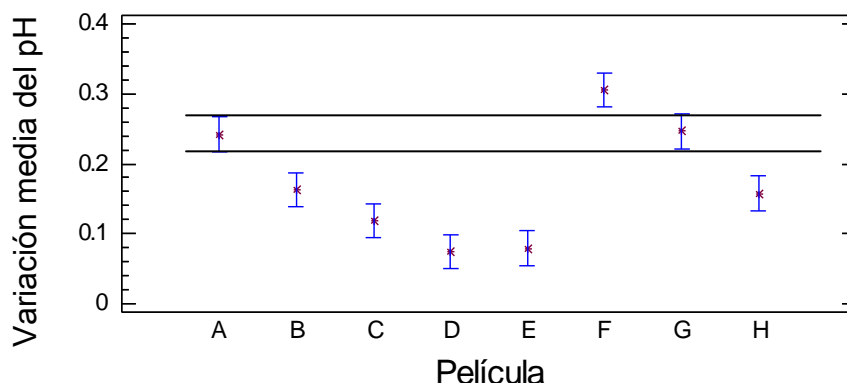
Tabla 4.4. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.7, para determinar la variación del pH de los diferentes tratamientos de película (Continuación)

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Quitosana 2.0%	$y = 0.0135x + 0.0114$	$R^2 = 0.9305$
Quitina-quitosana	$y = 0.0547x + 0.0318$	$R^2 = 0.9757$
Quitina Sigma®	$y = 0.0526x - 0.0168$	$R^2 = 0.981$
Ácido acético	$y = 0.0364x - 0.0245$	$R^2 = 0.9827$

En la Gráfica 4.8, se representa la variación media que tuvo el pH a lo largo de las determinaciones, los tratamientos que modifican el pH en menor magnitud y de manera significativa son los de pqs, siendo la pqs al 0.5%(B) la que tiene un menor efecto con respecto a las otras pqs. Nuevamente se observa que la pqs al 1.5%(D) y 2%(E) tuvieron prácticamente el mismo efecto, por lo que se pueden emplear indistintamente.

La pqtqs (F) tuvo un efecto negativo y significativo comparándola contra los demás lotes, ya que la variación del pH fue mayor al final de las determinaciones, mientras que la pqt Sigma® (G), tuvo un rango similar al del lote blanco, pero con la desventaja de la pérdida de agua que provoca en la uva (Gráfica 4.2).

Intervalo de medias con diferencia mínima significativa con un 95% de confianza



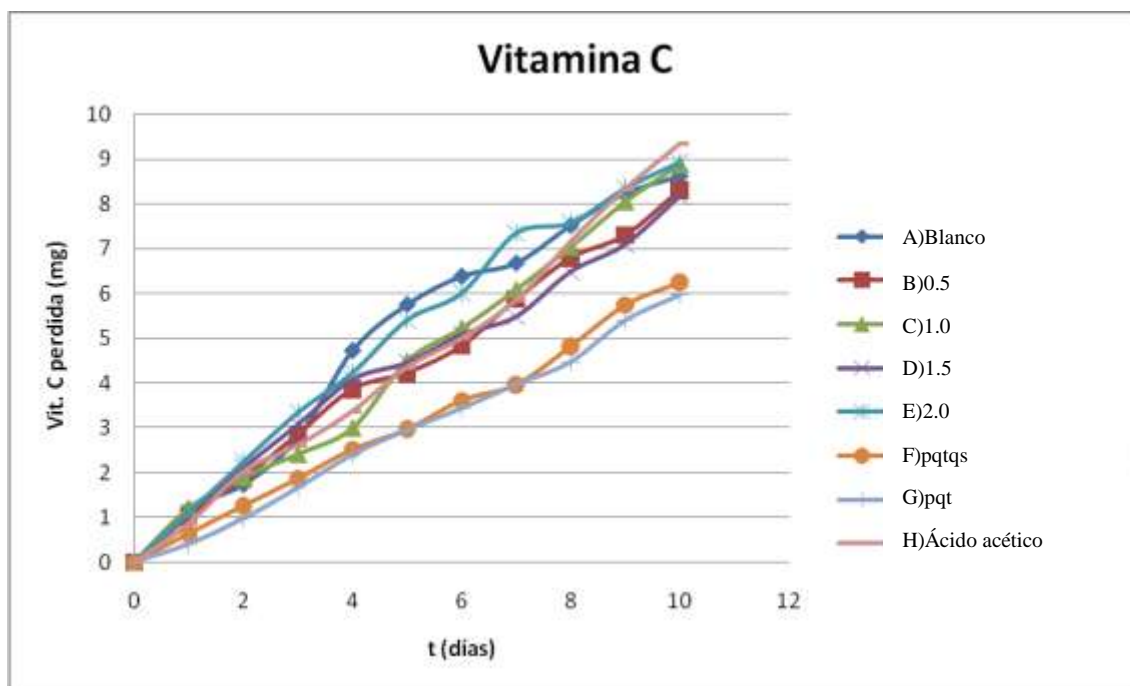
Gráfica 4.8. Comparación de los tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético para la determinación de la diferencia significativa entre la variación del pH. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético

4.5. VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)

La pérdida de vitamina C en la uva no tuvo relación con el fenómeno de transpiración de la fruta. La disminución se debió a que a temperatura ambiente y en presencia de luz se degrada fácilmente (es sensible a la luz y se oxida). La quitosana tiene propiedades antioxidantes (Hernández-Lauzardo y col., 2005), la cual al ser empleada en película mostró una reducción en la pérdida de la vitamina C, se puede considerar que sus propiedades tienen una influencia en la oxidación de la vitamina C. La quitina mostró una mejor protección de la vitamina C (Gráfica 4.9), comparándola con la quitosana y el lote blanco. En un estudio paralelo con fresas, la quitina

también mostró una mejor protección de la vitamina C (Ortega-Granados, 2010). Para determinar con qué velocidad se pierde la vitamina C, se calcularon las pendientes de la Gráfica 4.9, las cuales se expresan en la Tabla 4.5. Puede observarse que el lote blanco pierde 0.9 mg vitamina C /día, mientras que los lotes tratados con pqt pierden 0.6 mg vitamina C /día. Para poder determinar si esas diferencias eran estadísticamente significativas, al igual que para los otros cuatro casos se propusieron las 2 hipótesis:

- H_0 : El uso de películas en la uva no presenta variaciones significativas en la pérdida de la vitamina C.
- H_A : El uso de películas en la uva presenta variaciones significativas en la pérdida de la vitamina C en al menos un lote de uva.

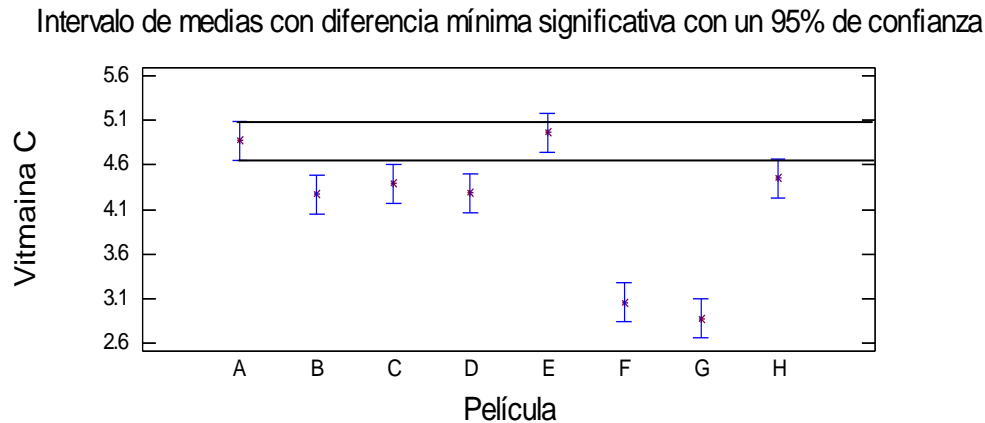


Gráfica 4.9. Comparación de la variación en la disminución de la vitamina C por 10 días de los diferentes tratamientos con películas de quitina, quitosana, blanco (sin película) y ácido acético

Tabla 4.5. Ecuaciones de las rectas de la Gráfica 4.9, para determinar la variabilidad de la vitamina C de los diferentes tratamientos de película

Lote	Ecuación de la recta	Correlación
Blanco	$y = 0.8911x + 0.4129$	$R^2 = 0.9695$
Quitosana 0.5%	$y = 0.8024x + 0.2549$	$R^2 = 0.9948$
Quitosana 1.0%	$y = 0.8807x - 0.0116$	$R^2 = 0.9943$
Quitosana 1.5%	$y = 0.7611x + 0.4806$	$R^2 = 0.9865$
Quitosana 2.0%	$y = 0.9039x + 0.4404$	$R^2 = 0.9864$
Quitina-quitosana	$y = 0.6153x - 0.0164$	$R^2 = 0.9952$
Quitina Sigma®	$y = 0.6002x - 0.1211$	$R^2 = 0.9967$
Ácido acético	$y = 0.9096x - 0.101$	$R^2 = 0.9932$

Los lotes de pqs al 0.5% (B), 1.0% (C) y 1.5% (D) mostraron una reducción en la pérdida de la vitamina C, mientras que la pqs al 2.0% (E), se comportó de manera similar al lote blanco. Esto se podría atribuir a que estaba más expuesto a fuentes de luz y/o que el fruto haya tenido un estrés excesivo provocando que se acelerara vía enzimática su degradación y que por eso se haya degradado más rápido la vitamina C, ya que si se considera su pendiente, ésta es ligeramente superior a la del lote blanco (A). Por tanto, se puede considerar que esta variación fue de carácter ambiental, ya que los demás lotes de pqs sí presentaron una reducción en la pérdida de la vitamina C.



Gráfica 4.10 Comparación de tratamientos de quitina, quitosana y ácido acético, para determinar diferencias significativas entre la pérdida de vitamina C. A) blanco; B) pqs 0.5%; C) pqs 1%; D) pqs 1.5%; E) pqs 2%; F) pqtqs; G) pqt Sigma®; H) ácido acético

Las pqtqs (F) y pqt (G) muestran una reducción importante de la degradación de la vitamina C. El problema en el uso de estas películas es que no le otorgaron a la uva un buen aspecto físico, pues hay una deshidratación excesiva, lo que restringe su uso.

4.6. INSPECCIÓN VISUAL

A lo largo de esta investigación se estuvieron inspeccionando las uvas con el fin de observar la aparición de microorganismos, principalmente de *B. cinerea*, ya que estas uvas no fueron inoculadas, como en las investigaciones realizadas por Romanazzi y col., en 2002 y 2007.

Originalmente se había planteado que los lotes de uvas de mesa con películas muy probablemente no tendrían la presencia de microorganismos comparadas con el lote blanco sin ninguna protección. De forma interesante, después de 10 días a temperatura ambiente, el lote blanco (sin ningún tipo de película) no manifestó visualmente la presencia de microorganismos. Tampoco los lotes de frutas recubiertas con pqt y pqs la tuvieron (Tabla 4.6), por lo que no fue posible determinar la posible acción antimicrobiana de las películas. No se planteó un cambio en la extensión del experimento (más de 10 días), ya que para el día 11 la piel de las uvas estaba demasiado arrugada en todos los lotes, siendo los lotes más evidentes, los de las pqtqs y pqt (ver Anexo I, Tablas 4.20 y 4.21), haciéndolas desagradables para el consumidor.

De este fenómeno, asociado para el caso de las películas de quitina al disolvente MAC-141©, deberá estudiarse la manera de eliminar completamente del polímero la presencia de iones calcio, de forma que no estrese a la uva, en este caso, alterando su piel, lo cual será un tema interesante para investigaciones futuras.


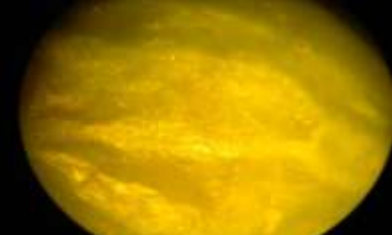
Tabla 4.6. Inspección visual del desarrollo de microorganismos

Lote	Características
Blanco	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitosana 0.5%	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitosana 1.0%	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitosana 1.5%	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitosana 2.0%	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitina-quitosana	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Quitina Sigma®	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote
Ácido acético	No se reportó crecimiento de hongos durante los 11 días de observación en el lote

4.7. MICROSCOPIA



En las Tablas 4.7 a 4.14 se presentan las microfotografías de contraste de todos los lotes que se estudiaron, tomando solamente el primero y el último día. En el Anexo I se presenta la secuencia completa de los días impares.

Tabla 4.7. Cambios en las uvas del lote A (Blanco) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.5% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (28.6% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.8. Cambios en las uvas del lote B (Quitosana 0.5%) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.5% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas las cuales forman pliegues (28.4% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

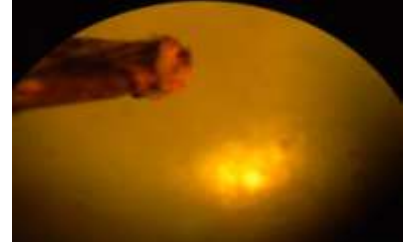
*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)


Tabla 4.9. Cambios en las uvas del lote C (Quitosana 1.0%) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.4% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (27% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)



Tabla 4.10. Cambios en las uvas del lote D (Quitosana 1.5%) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.8% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	11	Presenta arrugas muy pronunciadas y forman pliegues, colapsa la cáscara de la fruta (26% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.11. Cambios en las uvas del lote E (Quitosa 2.0%) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (3.2% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (25.5% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.12. Cambios en las uvas del lote F (Quitina-quitosa) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (3.1% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (32.7% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.13. Cambios en las uvas del lote G (Quitina Sigma®) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (2.9% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (33% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.14. Cambios en las uvas del lote H (ácido acético) a nivel microscópico (día 1 y 11)

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (2.7% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	11	Presenta arrugas pronunciadas y marcadas (28.5% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

En todos ellos puede observarse el fenómeno de la pérdida de turgencia y el arrugamiento de la piel, ya explicado ampliamente en los incisos anteriores.

Como se mencionó en la metodología, se realizó una prueba con un solo lote mediante espectroscopía electrónica de barrido a una uva con película de quitosana al 2% ya que esta prueba es muy costosa. Esta prueba permitió compararla con la uva blanco, sin película, para determinar la homogeneidad de la película y su grosor.

Se seleccionó esta muestra en particular, película de quitosana al 2.0% en la uva, debido a que el secado en punto crítico es muy agresivo, lo que dio la pauta para seleccionarla era la concentración con mayores posibilidades de soportar el secado en punto crítico. Con esta

metodología se pudo determinar el grosor de la película, el cual fue de 2.5 μm en promedio (Figura 4.2c). Este dato se obtuvo con base en la escala dada por el microscopio electrónico de barrido. En la Figura 4.2a, se aprecia cómo la película de quitosana que recubre a la uva, se ve rota, debido al tratamiento empleado para deshidratarla. Esto podría sugerir que la película no es homogénea en todo el fruto, ya que en donde la película era más gruesa pudo soportar el tratamiento, mientras que las zonas con menor grosor la película se rompió debido al secado, lo cual no se puede ver por microscopía óptica.

En las Figuras 4.3a, 4.3b y 4.3c se aprecia una superficie llena de polvo, así como las células de la piel de la uva. Las Figuras 4.2a, 4.2b y 4.2c muestran una superficie lisa, ya que se ve la película de quitosana presente, en la cual se adhieren todas las partículas de polvo, lo que probablemente también sucede con los microorganismos presentes en la cáscara. No se hicieron micrografías de la película de quitina-quitosana, ya que muy probablemente no hubiera soportado el procedimiento de secado en punto crítico, ni el alto vacío.

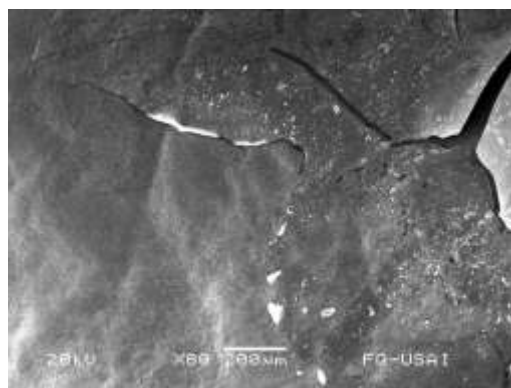


Figura 4.2a. Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 80x en alto vacío

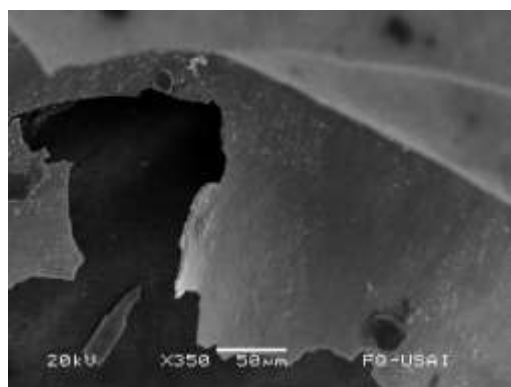


Figura 4.2b. Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 350x en alto vacío

Se intentaron tomar micrografías electrónicas de la fruta sin secado al punto crítico y a bajo vacío, pero la imagen era de mala calidad (ver Anexo I, Figuras 4.5-4.10), ya que no permitía distinguir la pqs al 2.0%. La diferencia más significativa fue la presencia de polvo sobre la superficie de las uvas sin pqs y una superficie más lisa en la uva con pqs. La piel arrugada en las Figuras 4.8 a 4.10 del Anexo I se debe al bajo vacío al cual es sometida la uva, ya que pierde agua y se arruga, pues ésta no se sometió a secado en punto crítico.

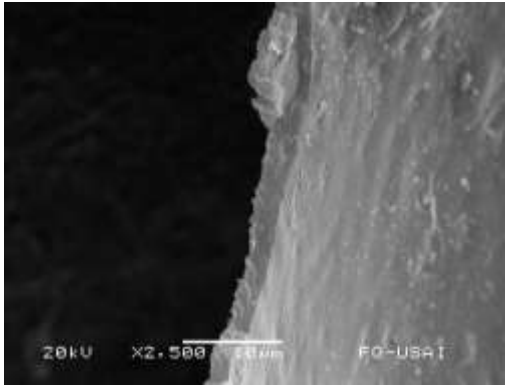


Figura 4.2c. Uva con película de quitosana al 2.0%, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 2500x en alto vacío

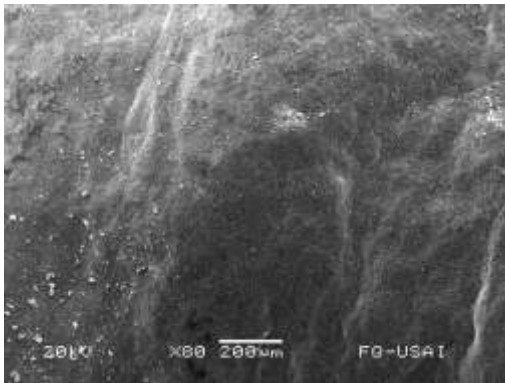


Figura 4.3a. Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 80x en alto vacío

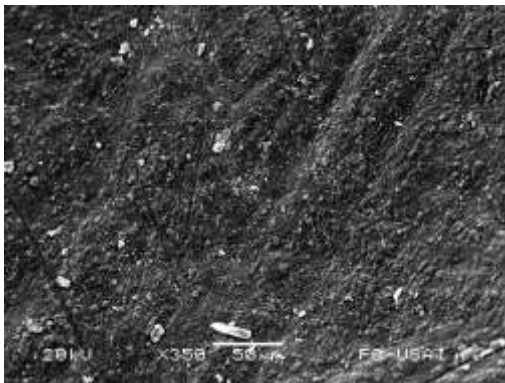


Figura 4.3b. Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 350x en alto vacío

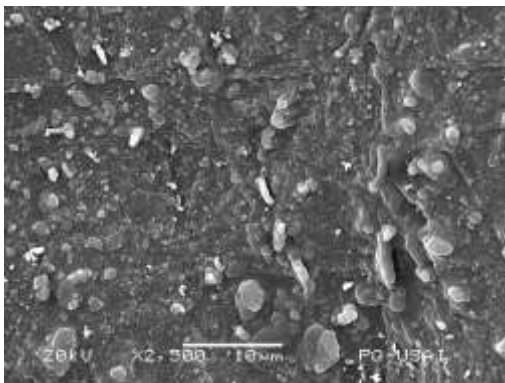


Figura 4.3c. Uva sin ningún tipo de película, con tratamiento de secado en punto crítico y baño de oro, con aumento de 2500x en alto vacío.

Como comentario final, se debe señalar que las pqtqs y pqt solamente fueron exitosas para la reducción de la pérdida de vitamina C. En todas las demás características de la fruta, no se obtuvieron buenos resultados, debido a la presencia de los iones de calcio residuales provenientes del disolvente MAC-141©. Finalmente, debe mencionarse que la fruta sin recubrimiento tuvo un comportamiento promedio con respecto de los controles de quitosana, aunque los lotes con 1.5 y 2.0% sí muestran diferencias significativas.

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

5.1.1. Conclusiones generales

De acuerdo con el objetivo general de esta investigación: Probar la efectividad de una película de quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón usando como blanco frutas sin recubrimiento y frutas recubiertas con películas de quitina y quitosana Sigma® como recubrimientos para la conservación de uvas (*Vitis vinifera* L.), mediante la determinación de algunos parámetros específicos a lo largo de un lapso de tiempo determinado a temperatura ambiente, en esta investigación se probó que el uso de películas de quitina y quitosana trae beneficios a la uva.

La quitina beneficia en la retención de la vitamina C, conservándola mejor que la película de quitosana. Sin embargo, mostró resultados desfavorables en los demás aspectos evaluados (pérdida de humedad, SST, °Bx, % de acidez y pH).

La película de quitosana al 1.5% fue la que presentó mejores características para ser empleada, ya que conserva mejor las propiedades de la uva durante el almacenamiento con respecto al lote blanco y de quitina, pero ambas películas mostraron un gran problema, que es la aparición prematura de arrugas, así como arrugas más marcadas el último día de observación. Esto tiene como consecuencia la aparición de un defecto físico de la uva, provocando que no sea agradable para el consumidor.

Al hacer la comparación entre la quitina tanto experimental como Sigma® y la quitosana Sigma®, se determinó que la quitina como película en la conservación de alimentos no tiene los mismos beneficios que otorga la película de quitosana, ya que el uso del disolvente MAC-141© hace que queden residuos de calcio que aceleran la pérdida de turgencia de la fruta.

5.1.2. Conclusiones específicas

De acuerdo con los objetivos específicos de esta investigación, se puede concluir lo siguiente:

- La pérdida de humedad disminuyó en el lote de uvas con el uso de la pqs al 1.5% y al 2.0%, mientras que las de pqt tanto experimental como Sigma® aumentaron la pérdida de humedad.
- La concentración de SST o °Bx en los lotes de uva disminuyó con el uso de las pqs en cualquier concentración, mientras que en las de pqt aumentaron la concentración de SST.
- La concentración de ácidos en los lotes de uva disminuyó al usar las pqs al 1.5% y al 2.0%, mientras que las de pqt favorecieron la concentración de los ácidos.
- La variación del pH en uva disminuyó al hacer uso de pqs en cualquier concentración, mientras que la pqt aumentó la variación del pH en uva.

- La degradación de la vitamina C se disminuyó usando tanto las pqt como las pqs, siendo más efectivas las pqt para conservar la vitamina C.
- En ningún lote hubo presencia de hongos, pero el uso de pqt y pqs favorecieron la aparición de arrugas (una superficie mayor que en el lote blanco).
- En ninguno de los lotes se consiguió alargar la vida de anaquel y que cumpliera con las especificaciones de la NMX-FF-026-SCFI-2006 “PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS, PARA USO HUMANO. FRUTA FRESCA. UVA DE MESA (*Vitis vinifera L.*) ESPECIFICACIONES”.
- La pqs al 1.5% ayuda a estabilizar las propiedades de la uva, así como la turgencia, lo que favorece el cumplimiento de las especificaciones de la NMX-FF-026-SCFI-2006, con excepción de la apariencia visual, ya que las arrugas son más evidentes con respecto a las del lote blanco.

5.2. RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones se recomienda modificar el proceso para la formación de la película de quitina, ya que ésta presenta dificultades para ser homogeneizada, aplicada en la fruta y, además, presenta concentraciones residuales de compuestos higroscópicos, que aunque son mínimas, afectan a la fruta y especialmente a su piel. Será interesante mejorar esta película, ya que no hay prácticamente información reportada en la literatura y, habiendo mostrado la propiedad de disminuir la pérdida de vitamina C, podría tener nuevas propiedades potencialmente atractivas.






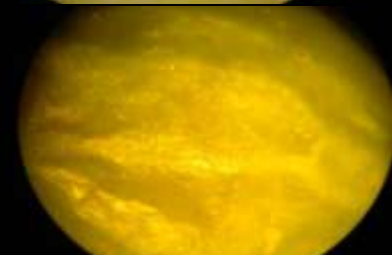
En un estudio realizado en fresas se utilizó cloruro de calcio para evitar la senescencia o decadencia en la calidad del fruto, teniendo como resultado que la mejor concentración era la de 1% de cloruro de calcio mostrando una mayor efectividad, ya que aumentó el contenido de calcio, conservó la firmeza, los sólidos solubles y, en general, controló de una mejor forma la senescencia del fruto, sin afectar su calidad sensorial (García y col., 1996). Si el cloruro de calcio no se puede retirar de la película, se debe proponer un método para la determinación de calcio en la pqt y tratar de reducir esa concentración a niveles favorables para la uva y obtener las ventajas obtenidas en la conservación de las fresas. Para determinar la mejor concentración de cloruro de calcio para la conservación de la uva se puede emplear el método propuesto por García y col., en 1996, y con base en esos resultados ajustar la concentración de calcio en la película.

Debido a la viscosidad de las pqt, tanto la obtenida experimentalmente como la de Sigma®, se debe diseñar un método para la aplicación de la película y así poder aplicarla en toda la fruta de una forma rápida, sencilla y homogénea.

ANEXO I



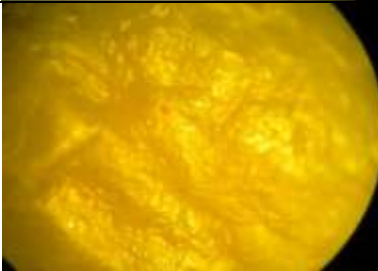
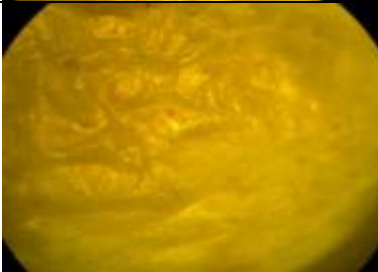


ACERVO FOTOGRÁFICO

Tabla 4.15. Cambios en las uvas del lote A (Blanco) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Pérdida de humedad	% de arrugamiento total del lote 1
	1	Se observa la cáscara lisa (2.5% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara lisa (8.5% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	5	Muestra una cierta resequeidad en la cáscara (13.6% de masa perdida)	El lote presenta un 27% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presentan resequeidad y arrugas en la piel (18.9% de masa perdida)	El lote presenta un 47% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta resequeidad y arrugas más pronunciadas (23.9% de masa perdida)	El lote presenta un 90% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta resequeidad y arrugas más pronunciadas y marcadas (28.6% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel







*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.16. Cambios en las uva del lote B (quitosana 0.5%) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.5% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara ligeramente reseca (8.3% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	5	Muestra reseca y con arrugas pronunciadas en la cáscara (13.7% de masa perdida)	El lote presenta un 40% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta resequedad y arrugas en la piel más pronunciadas. (18.9% de masa perdida)	El lote presenta un 67% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta resequedad y arrugas aún más pronunciadas (23.4% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas las cuales forman pliegues (28.4% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel




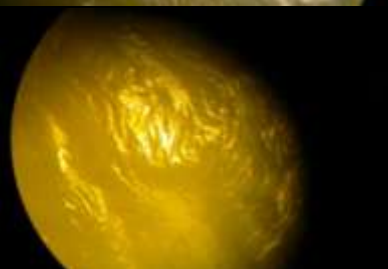


*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.17. Cambios en la uva del lote C (quitosana 1.0%) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.4% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara lisa. (8.4% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	5	Muestra resequedad en la cáscara y comienzan a marcarse las arrugas, se empieza a hundir la cáscara (13.9% de masa perdida)	El lote presenta un 33% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta resequedad y más arrugas en la piel (19% de masa perdida)	El lote presenta un 53% de muestras con arrugas en la piel
	9	Sin cambio aparente con respecto al día 7 (23.5% de masa perdida)	El lote presenta un 94% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (27% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel







*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.18. Cambios en la uva del lote D (quitosana 1.5%) a nivel microscópico

Fotografía.	Día.	Características.	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (2.8% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara lisa. (8.1% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	5	Resequedad en la cáscara muy marcada y algunos hundimientos (13.1% de masa perdida)	El lote presenta un 20% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta resequeidad y arrugas en la piel (18% de masa perdida)	El lote presenta un 73% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta resequeidad y arrugas marcadas (22.3% de masa perdida)	El lote presenta un 87% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta arrugas muy pronunciadas y forman pliegues, colapsa la cáscara de la fruta (26% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel


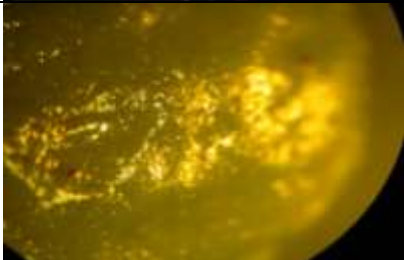




*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.19. Cambios en la uva del lote E (quitosana 2.0%) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara lisa (3.2% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara lisa y muy brillante (7.9% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	5	Muestra hundimientos pero la cáscara no se ve reseca (12.4% de masa perdida)	El lote presenta un 27% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta piel brillante y arrugas en la piel más marcadas (17.4% de masa perdida)	El lote presenta un 87% de muestras con arrugas en la piel
	9	Cáscara brillante y arrugas más pronunciadas (21.7% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta resequedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (25.5% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



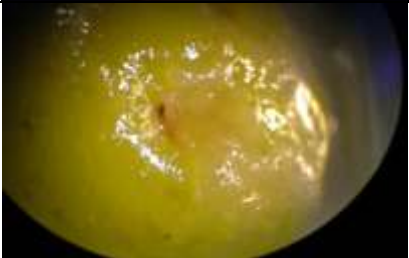
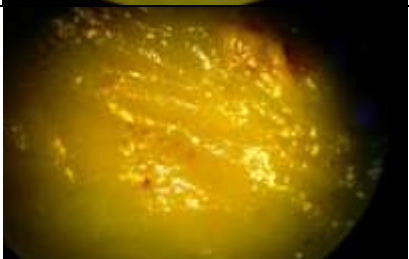


*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.20. Cambios en la uva del lote F (Quitina-quitosana) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (3.1% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara aún húmeda, comienza a hundirse la piel (11.2% de masa perdida)	El lote presenta un 20% de muestras con arrugas en la piel
	5	Cáscara húmeda, arrugas marcadas (16.6% de masa perdida)	El lote presenta un 67% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta humedad y arrugas en la piel (22.9% de masa perdida)	El lote presenta un 87% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas (27.1% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (32.7% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel



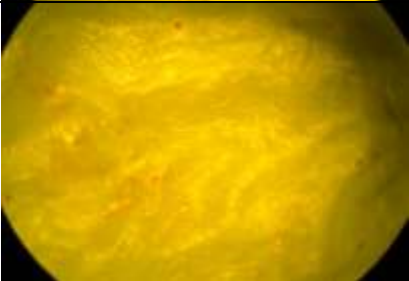
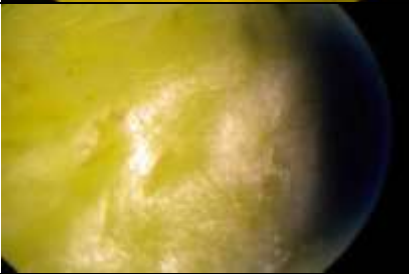


*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.21. Cambios en la uva del lote G (quitina Sigma®) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (2.9% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara aún húmeda, comienza a hundirse la piel (10.8% de masa perdida)	El lote presenta un 27% de muestras con arrugas en la piel
	5	Cáscara húmeda, arrugas marcadas (16.8% de masa perdida)	El lote presenta un 73% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta humedad y arrugas en la piel (22.6% de masa perdida)	El lote presenta un 87% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas (28.2% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (33% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)

Tabla 4.22. Cambios en la uva del lote H (ácido acético) a nivel microscópico

Fotografía	Día	Características	% de arrugamiento por lote
	1	Se observa la cáscara húmeda y la presencia de una sustancia viscosa, no se observa a detalle la cáscara (2.7% de masa perdida)	El lote no presenta muestras con arrugas
	3	Cáscara aún húmeda, comienza a hundirse la piel (8.6% de masa perdida)	El lote presenta un 20% de muestras con arrugas en la piel
	5	Cáscara húmeda, arrugas marcadas (13.9% de masa perdida)	El lote presenta un 40% de muestras con arrugas en la piel
	7	Presenta humedad y arrugas en la piel (19% de masa perdida)	El lote presenta un 67% de muestras con arrugas en la piel
	9	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas (23.5% de masa perdida)	El lote presenta un 87% de muestras con arrugas en la piel
	11	Presenta humedad y arrugas más pronunciadas y marcadas (28.5% de masa perdida)	El lote presenta un 100% de muestras con arrugas en la piel

*El porcentaje de cada lote que no mostraba arrugas tenía ablandamiento (pérdida de turgencia)



a) blanco b) quitosana 0.5% c) quitosana 1% d) quitosana 1.5% e) quitosana al 2%

Figura 4.4. Uvas con película de quitosana el día cero de la investigación

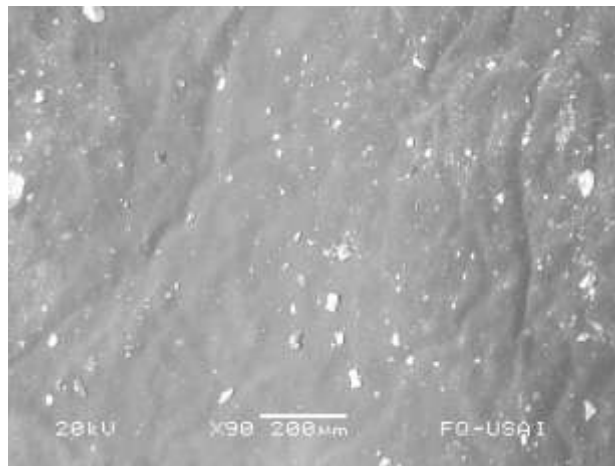


Figura 4.5. Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 90x a bajo vacío

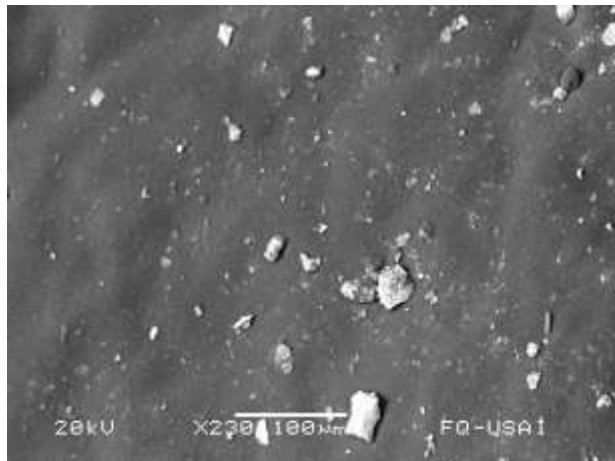


Figura 4.6. Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 230x a bajo vacío

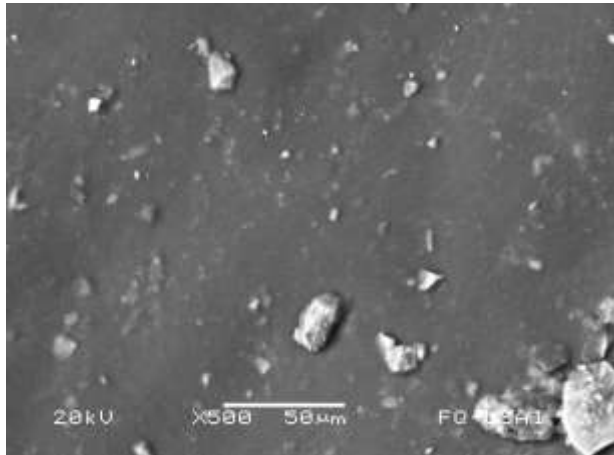


Figura 4.7. Uva sin ningún tipo de película, sin secado en punto crítico, con un aumento de 500x a bajo vacío

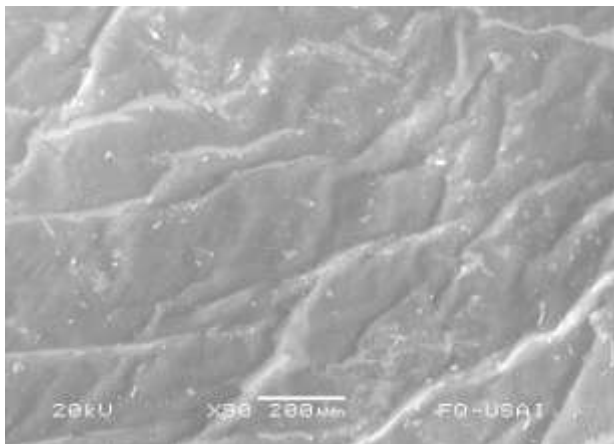


Figura 4.8. Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 90x a bajo vacío

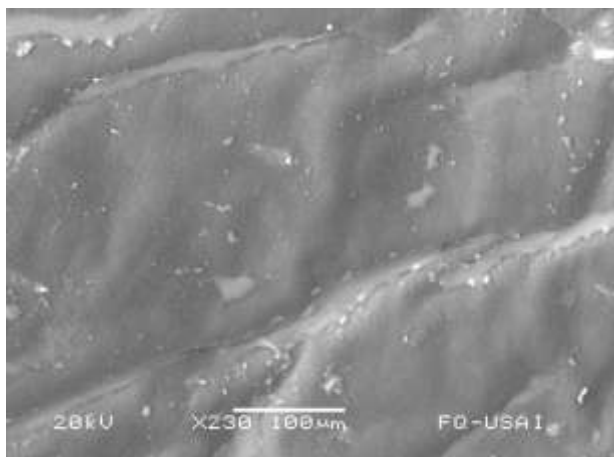


Figura 4.9. Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 230x a bajo vacío

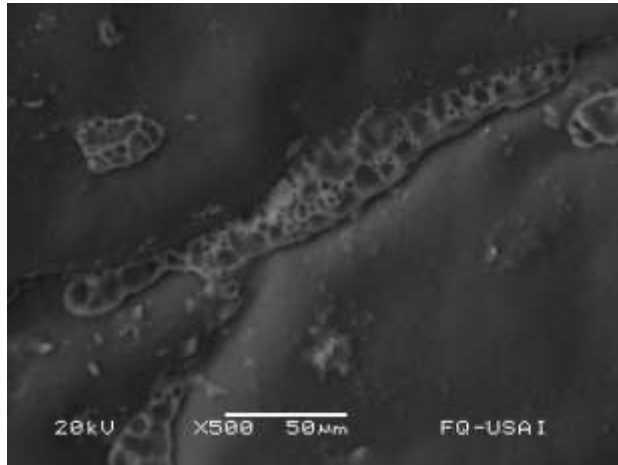


Figura 4.10. Uva con pqs al 2.0%, sin secado en punto crítico, con un aumento de 500x a bajo vacío

ANEXO II
DATOS CRUDOS

Pérdida de humedad

Tabla 4.23. Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de la pérdida de humedad entre los lotes

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias de cuadrados	Estadístico de prueba	Valor P de la prueba
A: Película	200.089	(a-1)=7	28.5841	F _a :30.45	0.0000
B: Día	7946.73	(b-1)= 11	722.43	F _b :769.55	0.0000
Del error	72.2851	77	0.938768		
TOTAL	8219.1	95			

Tabla 4.24. Porcentaje de masa perdida (%*m_p*). Datos graficados contra tiempo

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Blanco	0	2.501	5.156	8.468	10.886	13.658	16.124	18.952	22.067	23.945	26.648	28.651
Quitosana 0.5%	0	2.564	5.128	8.338	10.748	13.784	16.197	18.913	21.317	23.479	27.072	28.488
Quitosana 1.0%	0	2.473	5.189	8.413	10.994	13.914	16.013	19.012	21.645	23.565	25.451	27.072
Quitosana 1.5%	0	2.894	5.431	8.165	10.481	13.189	15.324	18.022	20.154	22.350	24.369	26.003
Quitosana 2.0%	0	3.260	5.337	7.930	9.870	12.477	14.562	17.415	19.168	21.723	23.159	25.555
Quitina-quitosana	0	3.105	7.067	11.248	13.871	16.570	19.885	22.998	24.152	27.158	30.305	32.753
Quitina Sigma®	0	2.921	6.724	10.855	13.548	16.872	19.155	22.657	25.248	28.215	30.987	33.017
Ácido acético	0	2.784	5.568	8.605	10.997	13.913	16.324	19.013	21.421	23.567	26.038	28.509

Tabla 4.25. Promedio de las masas (g) de la uva (*m_v*)

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Blanco	31.555	30.766	29.928	28.883	28.120	27.245	26.467	25.575	24.592	23.999	23.146	22.514
Quitosana 0.5%	33.345	32.490	31.635	30.565	29.761	28.749	27.944	27.038	26.237	25.516	24.318	23.846
Quitosana 1.0%	32.301	31.502	30.625	29.583	28.750	27.807	27.129	26.160	25.309	24.689	24.080	23.557
Quitosana 1.5%	30.223	29.348	28.582	27.755	27.055	26.237	25.592	24.776	24.132	23.468	22.858	22.364
Quitosana 2.0%	30.068	29.088	28.463	27.684	27.100	26.317	25.690	24.832	24.305	23.536	23.105	22.384
Quitina-quitosana	31.099	30.133	28.901	27.601	26.785	25.946	24.915	23.947	23.588	22.653	21.674	20.913
Quitina Sigma®	33.331	32.357	31.090	29.713	28.815	27.707	26.947	25.779	24.916	23.927	23.003	22.326
Ácido acético	32.744	31.832	30.921	29.926	29.143	28.188	27.399	26.518	25.730	25.027	24.218	23.409

Sólidos solubles totales

Tabla 4.26. Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de los SST entre los lotes

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias de cuadrados	Estadístico de prueba	Valor P de la prueba
A:Película	215.572	7	30.796	24.50	0.0000
B:Día	627.503	10	62.7503	49.92	0.0000
Del error	87.9877	70	1.25697		
TOTAL	931.063	87			

Tabla 4.27. $\Delta^{\circ}\text{Bx}$ de los lotes de uvas durante la investigación. Datos graficados contra tiempo

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	0.6	2.8	3.3	6	6	6.2	7	8.6	9.6	10
Quitosana 0.5%	0	-0.8	0.4	1.7	2.5	3.2	4.6	6.4	6.6	7.2	9
Quitosana 1.0%	0	0.8	1	1.8	2.6	2.8	3.4	4.2	5.2	6.4	7.4
Quitosana 1.5%	0	1	1.4	2.2	2.4	2.6	2.9	3.5	4	4.4	4.4
Quitosana 2.0%	0	0.6	0.8	1	2.2	2.4	2.8	2.9	3.5	3.8	4.4
Quitina-quitosana	0	0.6	1.4	4	5.4	6.8	7.6	8.5	9.3	10.8	12.8
Quitina Sigma®	0	3.4	4.2	4.8	6	7	8.2	8.8	9.6	10.6	12.2
Ácido acético	0	0.8	1.4	1.9	2.6	3.4	4.6	6	7.4	7.8	8.2

Tabla 4.28. Determinaciones de $^{\circ}\text{Bx}$ de los lotes de uvas durante la investigación

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	18.6	19.2	21.4	21.4	24.6	24.6	24.8	25.6	27.2	28.2	28.6
Quitosana 0.5%	21.2	20.4	21.6	22.9	23.7	24.4	25.8	27.6	27.8	28.4	30.2
Quitosana 1.0%	23	23.8	24	24.8	25.6	25.8	26.4	27.2	28.2	29.4	30.4
Quitosana 1.5%	20.4	21.4	21.8	22.6	22.8	23	23.3	23.9	24.4	24.8	24.8
Quitosana 2.0%	18.8	19.4	19.6	19.8	21	21.2	21.6	21.7	22.3	22.6	23.2
Quitina-quitosana	20.8	21.4	22.2	24.8	26.2	27.6	28.4	29.3	30.1	31.6	33.6
Quitina Sigma®	17.6	21	21.8	22.4	23.6	24.6	25.8	26.4	27.2	28.2	29.8
Ácido acético	21.4	22.2	22.8	23.3	24.0	24.8	26	27.4	28.8	29.2	29.6

Acidez titulable

Tabla 4.29. Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones del % de acidez entre los lotes

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias de cuadrados	Estadístico de prueba	Valor P de la prueba
A:Película	0.368907	7	0.052701	18.94	0.0000
B:Día	0.440446	10	0.0440446	15.83	0.0000
Del error	0.19478	70	0.00278258		
TOTAL	1.00413	87			

Tabla 4.30. Diferencia de acidez de los lotes de uvas durante la investigación, reportados en mEq de ácido tartárico. Datos graficados contra tiempo

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	0.0338	0.0564	0.0684	0.0702	0.0825	0.1217	0.1664	0.1939	0.2019	0.2163
Quitosana 0.5%	0	0.0188	0.0285	0.0418	0.0580	0.0667	0.0732	0.0933	0.1078	0.1284	0.1566
Quitosana 1.0%	0	0.0249	0.0494	0.0558	0.0641	0.0715	0.0761	0.0866	0.0991	0.1057	0.1274
Quitosana 1.5%	0	0.0280	0.0376	0.0548	0.0529	0.0576	0.0649	0.0798	0.1038	0.0954	0.1211
Quitosana 2.0%	0	0.0203	0.0333	0.0355	0.0430	0.0483	0.0630	0.0710	0.0863	0.0969	0.1267
Quitina-quitosana	0	0.0209	0.1017	0.1521	0.2244	0.2626	0.3078	0.3601	0.3629	0.4257	0.5102
Quitina Sigma®	0	0.0150	0.0296	0.0835	0.1308	0.1580	0.2050	0.2805	0.3109	0.3625	0.4035
Ácido acético	0	0.0195	0.0284	0.0358	0.0376	0.0524	0.0656	0.0908	0.1323	0.1479	0.1977

Tabla 4.31. Determinación de acidez en mEq de ácido tartárico

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0.5002	0.5341	0.5567	0.5687	0.5705	0.5828	0.6219	0.6667	0.6941	0.7022	0.7166
Quitosana 0.5%	0.4132	0.4320	0.4417	0.4550	0.4712	0.4799	0.4864	0.5065	0.5210	0.5416	0.5698
Quitosana 1.0%	0.4560	0.4809	0.5055	0.5118	0.5202	0.5275	0.5322	0.5427	0.5551	0.5617	0.5835
Quitosana 1.5%	0.5102	0.5382	0.5479	0.5650	0.5632	0.5678	0.5752	0.5900	0.6140	0.6056	0.6313
Quitosana 2.0%	0.4835	0.5039	0.5169	0.5190	0.5265	0.5319	0.5465	0.5545	0.5699	0.5804	0.6102
Quitina-quitosana	0.3920	0.4128	0.4937	0.5440	0.6164	0.6546	0.6998	0.7520	0.7549	0.8177	0.9022
Quitina Sigma®	0.3429	0.3578	0.3725	0.4264	0.4737	0.5008	0.5479	0.6233	0.6537	0.7054	0.7463
Ácido acético	0.4237	0.4432	0.4522	0.4596	0.4614	0.4762	0.4894	0.5145	0.5561	0.5717	0.6215

Tabla 4.32. Promedio de las masas (g) de las muestras para la determinación de acidez

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0.5398	0.5617	0.5659	0.5275	0.5653	0.5791	0.5427	0.5625	0.5943	0.5875	0.5233
Quitosana 0.5%	0.5990	0.5208	0.5943	0.5769	0.5889	0.5470	0.5397	0.5922	0.5758	0.5539	0.5923
Quitosana 1.0%	0.5756	0.5458	0.5935	0.5861	0.5768	0.5687	0.5637	0.5528	0.5675	0.5341	0.5784
Quitosana 1.5%	0.5880	0.5992	0.5476	0.5973	0.5993	0.5944	0.5868	0.6356	0.6107	0.5573	0.5940
Quitosana 2.0%	0.5584	0.5954	0.5804	0.5780	0.5698	0.5922	0.5489	0.6086	0.5264	0.5815	0.6145
Quitina-quitosana	0.5740	0.5450	0.5317	0.5515	0.5476	0.5729	0.5359	0.5485	0.5464	0.5503	0.5404
Quitina Sigma®	0.5469	0.6288	0.6041	0.6157	0.5542	0.5990	0.5476	0.5415	0.5736	0.5316	0.5527
Ácido acético	0.5310	0.5923	0.5805	0.5712	0.5689	0.5828	0.6130	0.5830	0.6069	0.5904	0.6034

Tabla 4.33. Volumen (mL) promedio gastado de NaOH [0.1000N] en la titulación de las muestras

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0.36	0.40	0.42	0.40	0.43	0.45	0.45	0.50	0.55	0.55	0.50
Quitosana 0.5%	0.33	0.30	0.35	0.35	0.37	0.35	0.35	0.40	0.40	0.40	0.45
Quitosana 1.0%	0.35	0.35	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.42	0.40	0.45
Quitosana 1.5%	0.40	0.43	0.40	0.45	0.45	0.45	0.45	0.50	0.50	0.45	0.50
Quitosana 2.0%	0.36	0.40	0.40	0.40	0.40	0.42	0.40	0.45	0.40	0.45	0.50
Quitina-quitosana	0.30	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	0.50	0.55	0.55	0.60	0.65
Quitina Sigma®	0.25	0.30	0.30	0.35	0.35	0.40	0.40	0.45	0.50	0.50	0.55
Ácido acético	0.30	0.35	0.35	0.35	0.35	0.37	0.40	0.40	0.45	0.45	0.50

Valor de pH

Tabla 4.34. Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones del pH entre los lotes

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias de cuadrados	Estadístico de prueba	Valor P de la prueba
A: Película	0.543762	7	0.0776804	22.98	0.0000
B: Día	0.969332	10	0.0969332	28.67	0.0000
Del error	0.23665	70	0.00338071		
TOTAL	1.74974	87			

Tabla 4.35. Determinaciones del pH de los lotes de uva durante la investigación

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Variación del pH
Blanco	3.59	3.53	3.47	3.44	3.42	3.35	3.3	3.21	3.19	3.17	3.16	0.43
Quitosana 0.5%	3.47	3.41	3.36	3.34	3.33	3.31	3.29	3.27	3.24	3.19	3.17	0.30
Quitosana 1.0%	3.37	3.33	3.29	3.27	3.25	3.24	3.24	3.22	3.21	3.18	3.16	0.21
Quitosana 1.5%	3.38	3.37	3.36	3.35	3.34	3.32	3.29	3.26	3.23	3.24	3.22	0.16
Quitosana 2.0%	3.33	3.31	3.28	3.26	3.26	3.25	3.24	3.24	3.23	3.19	3.17	0.16
Quitina-quitosana	3.72	3.66	3.58	3.51	3.45	3.39	3.32	3.28	3.24	3.22	3.19	0.53
Quitina Sigma®	4.15	4.07	4.09	4.03	3.97	3.92	3.87	3.81	3.71	3.68	3.64	0.51
Ácido acético	3.51	3.49	3.47	3.45	3.41	3.36	3.32	3.26	3.23	3.2	3.18	0.33

Tabla 4.36. Descenso del pH con respecto al pH inicial en los lotes de uva

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	-0.06	-0.12	-0.15	-0.17	-0.24	-0.29	-0.38	-0.4	-0.42	-0.43
Quitosana 0.5%	0	-0.06	-0.11	-0.13	-0.14	-0.16	-0.18	-0.2	-0.23	-0.28	-0.30
Quitosana 1.0%	0	-0.04	-0.08	-0.1	-0.12	-0.13	-0.13	-0.15	-0.16	-0.19	-0.21
Quitosana 1.5%	0	-0.01	-0.02	-0.03	-0.04	-0.06	-0.09	-0.12	-0.15	-0.14	-0.16
Quitosana 2.0%	0	-0.02	-0.05	-0.07	-0.07	-0.08	-0.09	-0.09	-0.1	-0.14	-0.16
Quitina-quitosana	0	-0.06	-0.14	-0.21	-0.27	-0.33	-0.4	-0.44	-0.48	-0.5	-0.53
Quitina Sigma®	0	-0.08	-0.06	-0.12	-0.18	-0.23	-0.28	-0.34	-0.44	-0.47	-0.51
Ácido acético	0	-0.02	-0.04	-0.06	-0.1	-0.15	-0.19	-0.25	-0.28	-0.31	-0.33

Nota: Estos valores son negativos, debido a que el pH desciende como consecuencia del incremento de la acidez, ya que a pH más cercano a cero, muestra un carácter más ácido

Tabla 4.37. Variación del pH inicial con respecto al tiempo en valor absoluto (datos empleados para realizar la Gráfica 4.7)

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	0.06	0.12	0.15	0.17	0.24	0.29	0.38	0.4	0.42	0.43
Quitosana 0.5%	0	0.06	0.11	0.13	0.14	0.16	0.18	0.2	0.23	0.28	0.3
Quitosana 1.0%	0	0.04	0.08	0.1	0.12	0.13	0.13	0.15	0.16	0.19	0.21
Quitosana 1.5%	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.06	0.09	0.12	0.15	0.14	0.16
Quitosana 2.0%	0	0.02	0.05	0.07	0.07	0.08	0.09	0.09	0.1	0.14	0.16
Quitina-quitosana	0	0.06	0.14	0.21	0.27	0.33	0.4	0.44	0.48	0.5	0.53
Quitina Sigma®	0	0.08	0.06	0.12	0.18	0.23	0.28	0.34	0.44	0.47	0.51
Ácido acético	0	0.02	0.04	0.06	0.1	0.15	0.19	0.25	0.28	0.31	0.33

Vitamina C

Tabla 4.38. Análisis de varianza multifactorial para determinar las variaciones de la vitamina C entre los lotes

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medias de cuadrados	Estadístico de prueba	Valor P de la prueba
A: Película	45.6761	7	6.52516	25.02	0.0000
B: Día	557.769	10	55.7769	213.84	0.0000
Del error	18.2588	70	0.26084		
TOTAL	621.704	87			

Tabla 4.39. Determinación de la vitamina C (mg/100g) durante la investigación

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	12.559	11.376	10.8295	9.7818	7.8385	6.8146	6.1806	5.8862	5.0493	4.3307	4.0743
Quitosana 0.5%	12.288	11.26	11.0589	10.4089	9.4257	9.0622	8.4585	7.4214	7.331	6.5077	4.3695
Quitosana 1.0%	13.139	11.935	11.246	10.726	10.138	8.644	7.912	7.049	6.096	5.081	4.253
Quitosana 1.5%	12.327	11.217	10.217	9.252	8.247	7.875	7.247	6.845	5.246	5.842	4.156
Quitosana 2.0%	14.565	12.322	10.221	9.333	8.157	7.555	6.215	5.985	5.215	4.817	4.132
Quitina-quitosana	11.486	10.345	9.838	9.017	8.967	8.519	7.87	7.519	6.663	5.74	4.687
Quitina Sigma®	11.654	11.248	10.679	9.987	9.2478	8.7012	8.214	7.681	7.176	6.246	5.683
Ácido acético	13.345	12.478	11.321	10.728	9.972	8.991	8.348	7.492	6.186	5.013	4.007

Tabla 4.40. Pérdida de vitamina C (mg/100g)

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	1.183	1.729	2.777	4.720	5.744	6.378	6.672	7.509	8.228	8.611
Quitosana 0.5%	0	1.02	1.879	2.862	3.862	4.225	4.829	5.866	6.791	7.297	8.296
Quitosana 1.0%	0	1.204	1.893	2.413	3.001	4.495	5.227	6.09	7.043	8.058	8.886
Quitosana 1.5%	0	1.11	2.116	3.075	4.08	4.452	5.08	5.482	6.485	7.096	8.171
Quitosana 2.0%	0	1.109	2.243	3.344	4.232	5.408	6.01	7.35	7.58	8.35	8.933
Quitina-quitosana	0	0.641	1.258	1.869	2.519	2.967	3.616	3.967	4.823	5.746	6.255
Quitina Sigma®	0	0.406	0.975	1.667	2.406	2.952	3.44	3.973	4.478	5.408	5.971
Ácido acético	0	0.867	2.024	2.617	3.373	4.354	4.997	5.853	7.159	8.332	9.338

Tabla 4.41. Masa de la muestra para la determinación de vitamina C (g)

Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	0	1.0021	1.0058	1.0565	0.9942	1.0218	1.0074	1.0182	1.0691	0.9064	1.0568
Quitosana 0.5%	0	1.0708	1.0669	1.0346	1.0992	1.0925	1.0732	1.0821	1.1563	1.0925	1.0549
Quitosana 1.0%	0	1.0450	1.0545	1.0174	1.0134	1.0157	1.0589	1.0123	1.0551	1.0323	1.0133
Quitosana 1.5%	0	1.0210	1.0200	1.0639	1.0512	1.1099	1.0170	1.0262	1.0029	1.0905	0.9793
Quitosana 2.0%	0	1.0212	1.1143	1.0635	1.0420	1.0520	1.0601	1.1046	1.0514	1.0970	1.0689
Quitina-quitosana	0	1.0459	1.0507	1.0467	1.0151	1.0208	1.0073	1.0177	1.0652	1.0303	1.0963
Quitina Sigma®	0	1.0309	1.0172	1.0178	1.0311	1.0516	1.0520	1.0447	1.0427	1.0364	1.0991
Ácido acético	0	1.0288	1.0086	1.0107	1.0132	1.0326	1.0817	1.0965	1.0690	1.1098	1.1412

Tabla 4.42. Volumen promedio de 2,6 DI, gastado en la titulación de la muestra (mL)

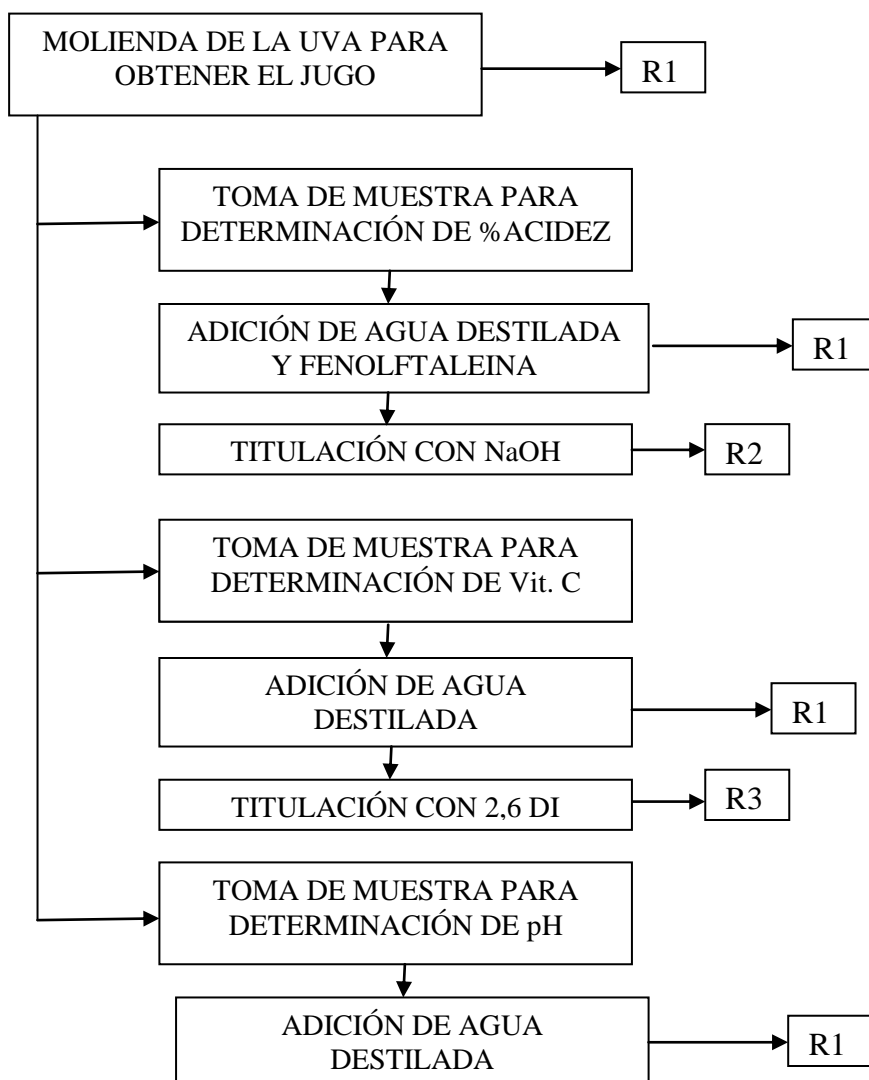
Día	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Blanco	1.10	1.00	1.00	0.85	0.70	0.60	0.55	0.55	0.40	0.40	0.35
Quitosa 0.5%	1.15	1.05	1.00	1.00	0.90	0.85	0.80	0.75	0.70	0.60	0.40
Quitosa 1.0%	1.20	1.10	1.00	0.95	0.90	0.80	0.70	0.65	0.55	0.45	0.40
Quitosa 1.5%	1.10	1.00	0.95	0.85	0.80	0.70	0.65	0.60	0.50	0.50	0.40
Quitosa 2.0%	1.30	1.20	0.95	0.85	0.75	0.70	0.60	0.55	0.50	0.45	0.40
Quitina-quitosa	1.05	0.95	0.90	0.80	0.80	0.75	0.70	0.70	0.60	0.55	0.45
Quitina Sigma®	1.05	1.00	0.95	0.90	0.85	0.80	0.75	0.70	0.65	0.60	0.50
Ácido acético	1.20	1.10	1.00	0.95	0.90	0.85	0.80	0.70	0.60	0.50	0.40

Tabla 4.43. Volumen de 2,6 DI gastado (mL), para la titulación de 1 mg de ácido ascórbico

Día	2,6 DI (mL)
0	87.3
5	87.8
10	87.2
Promedio	87.4

ANEXO III

TRATAMIENTO Y DISPOSICIÓN DE LOS RESIDUOS PRODUCIDOS



R1: Corresponde a los desechos orgánicos de la uva, se separan los sólidos por filtración y se desechan en los botes de basura de residuos, los líquidos se desechan a la tarja.

R2: Primero se retiró la fenolftaleína con un filtro de carbón activado hasta su adsorción, el carbón activado junto con el papel filtro se colocan en bolsa de plástico, se etiquetan y se dispone a incineración. A la solución se le determinó el valor del pH con ayuda de un potenciómetro modelo Orion 720-A7 y se recurrió a la neutralización con ácido acético al 0.5% (v/v).

R3: Al reducirse el ácido ascórbico para quedar en su forma como ácido dehidroascórbico al reaccionar con el 2,6-diclorofenol-indofenol, éste pasa a estar ácido y, por lo tanto, el pH baja. Se

neutraliza la solución con NaOH 0.1N midiendo el pH con ayuda de un potenciómetro modelo Orion 720-A7, se decolora con carbón activado montando un equipo de filtración al vacío con un matraz Kitasato, el carbón activado junto con el papel filtro se colocan en bolsa de plástico, se etiquetan y se dispone a incineración (Ortega-Granados, 2010)

1

REFERENCIAS

- Anónimo. 2011. Redes internacionales. <http://dcb.fi-c.unam.mx/profesores/irene/tablas/Fisher.pdf>
- Anónimo 2013. La Semana Vitivinícola. Dirección electrónica: [http://www.sevi.net/xoops233/uploads/content/image/3372\(07-04-12\)/c6083-hongo-\(web-sevi\).jpg](http://www.sevi.net/xoops233/uploads/content/image/3372(07-04-12)/c6083-hongo-(web-sevi).jpg)
- Arias-Torres O., Mendoza-Márquez A. M., Bárcenas-Ochoa E. M., Flores, R., García-Gómez R. S., Durán-Domínguez-de-Bazúa M. C. 2013. Comparación de diferentes agentes plastificantes adicionados en esponjas de quitina obtenidas de cefalotórax de camarón. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas (Ecuador)*. 3(1):11-18 (2013)
- Artés-Hernández F. 2004. Innovaciones en la conservación frigorífica de uva de mesa apirena y convencional. Alternativas al empleo de dióxido de azufre. Tesis Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, España.
- Artés-Hernández F., Rodríguez-Hidalgo S., Artés-Calero F. 2006. Establecimiento de la vida comercial en uva "crimson seedless" mínimamente procesada con distintos lavados. Tesis. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena, España.
- Bautista-Baños S. Hernández A., Velázquez M., Bosquez E., Sánchez D. 2005. Quitosana: Una alternativa natural para reducir microorganismos postcosecha y mantener la vida de anaquel de productos hortofrutícolas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 7(1):1-6.
- Badui S., Valdés S., Gálvez A., Flores I., González A., Quirasco M., López-Munguía A., Guerrero I., López E., Armenta R., Ponce E., Montejano J., Valle P., Barrios A., de la Barrera A. 2006. Química de los Alimentos. Editorial Pearson Educación, 4ª Ed. Pp. 622, 623. México.
- Bautista S. S., Bravo, L. L. 2004. Evaluación del quitosano en el desarrollo de la pudrición blanda del tomate durante el almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 6 (001):63-67.
- Cabrera, L. 2002. Diccionario de aztequismos. Enriquecido por José Dávila-Garibi, Luis Reyes-García y Esteban Inciarte. Ed. Colofón, S.A. México D.F., México.
- Cartaya, O., Peniche, C., Reynaldo, I. 2009. Polímeros naturales recolectores de iones metálicos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 10(2):81-84.
- Casassa F., Sari S. 2006. Aplicación del sistema Cie-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. *Revista de Enología*. 3(Noviembre-Diciembre).
- Devlieghere F., Vermeulen A., Debevere J. 2004. Chitosan: Antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21:703-714.
- DOF. 1982a. "Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de acidez titulable. Método de titulación". NMX-FF-011-1982. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
- DOF. 1982b. "Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de sólidos solubles totales". NMX-FF-015-1982. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
- DOF. 2006. "Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Uva de mesa (*Vitis vinifera* L.). Especificaciones". NMX-FF-026-SCFI-2006. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

- DOF. 2009. “Modificación del inciso O, en el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida”. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. Jueves 24 de septiembre de 2009 (Primera Sección). México D.F. México.
- Du J., Gemma H., Iwahori S. 1997. Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and kiwifruit. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*. 66 (1):15-22.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.C., Barrera-Rodríguez, S., Flores-Ortega, R.A. 2004. Extracción ecológica de quitina y subproductos. Patente Núm. 264482. Solicitada el 30 de septiembre. Expedida el 12 de febrero de 2009. Dirección Divisional de Patentes. Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. México D.F. México.
- Flores, R., Barrera-Rodríguez, S., Shirai, K., Durán-de-Bazúa, C. 2007. Chitin sponge, extraction procedure from shrimp wastes using green chemistry. *J. Appl. Polym. Sci.* 104:3909-3916.
- Flores, R., Barrera-Rodríguez, S., Shirai-Matsumoto, C.K., Durán-de-Bazúa, C. 2006a. Obtención de esponjas de quitina a partir de cefalotórax de camarón para empaques. *AlimenPack*, 2(4):26-28.
- Flores, R., Shirai, K., Durán-de-Bazúa, C. 2006b. Recycling of soil polluting residues: Biodegradable chitin sponge from shrimp wastes / Revalorización de residuos que contaminan los suelos: Esponja de quitina biodegradable a partir de residuos de camarón. En *Proceedings of the 2006 FOURTH INTERNATIONAL MINISYMPOSIUM ON REMOVAL OF CONTAMINANTS FROM WASTEWATERS, ATMOSPHERE, AND SOILS*. C. Durán-de-Bazúa, L.I. Ramírez Burgos (Eds.). Disco compacto (versión electrónica). Pp. 74-79. LIQAyQA, Facultad de Química, UNAM. Noviembre 8-11. México D.F. México.
- Flores-Ortega, R. A. 2008. Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón. Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.
- Flores-Ortega, R. A. 2004. Bioplástico de quitina: Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.
- Gacén J., Gacén I. 1996. Quitina y quitosana. Nuevos materiales textiles. *Boletín Interior*. No. 110. Pp. 67-71. Dirección electrónica:
 - http://upcommons.upc.edu/revistes/bitstream/2099/6421/1/Article0_6a.pdf.
- García M.V. 2006. Potencialidades de la quitina cubana en la elaboración de tabletas. Tesis de Doctorado en Ciencias Farmacéuticas. Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. La Habana, Cuba.
- García J. M., Herrera S., Morilla A. 1996. Effects of postharvest dips in calcium chloride on strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44(1):30-33.
- Hansen M.E., Llanes A. 1994. Applications of crustacean wastes in biotechnology. In: *Matin, A.M., editor. Fisheries processing: Biotechnological applications*. Chapman and Hall. Londres, Reino Unido. Pp. 174-205.

- Hernández-Lauzardo A. N., Bautista-Baños S., Velázquez del Valle M. G., Corona-Rangel M. L., Solano-Navarro A., Bosquez-Molina E. 2005. Potencial del quitosano en el blanco de enfermedades postcosecha. *Revista Mexicana de Fitología*. 23 (002):198-205.
- Hernández M. P., Almenar E., Del Valle V., Velez D., Gavara R. 2008. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria x ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*. 110:428-435.
- Krajewska B. 2004. Application of chitin and chitosan materials for enzyme immobilization: A review. *Enzyme Microb. Technol.* 35:126-139.
- Lárez-Velásquez C. 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*. 8(1):1-22.
- Lárez-Velásquez C. 2006. Quitina y quitosano: Materiales del pasado para el presente y el futuro. *Avances en Química*. 1(2):15-21.
- Madigan M. T., Martinko J. M., Parker J., Brock A. 2004. Biología de los microorganismos. Editorial Pearson Prentice Hall. 10a Ed. Pp. 62, 63, 943-945. Madrid, España.
- Madrid A., Gómez-Pastrana J., Santiago F., Madrid J. M. 1994. Refrigeración, congelación y envasado de los alimentos. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp. 236-243.
- Majeti N.V., Ravi K. 2000. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 46:1-27.
- Menga X., Tian S. 2009. Effects of preharvest application of antagonistic yeast combined with chitosan on decay and quality of harvested table grape fruit. *Journal Science Food Agriculture*. 89:1838-1842.
- Ortega-Granados J.A. 2010. Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: Aplicación de un biopolímero funcional quitina / quitosana para el recubrimiento y protección de productos perecederos, Caso: FRESA (*Fragaria x ananassa*). Informe final. Asignatura Estancia Estudiantil. UNAM, Facultad de Química. México D.F., México.
- Prescott L. M., Harley J. P., Klein D. A. 2004. Microbiología. Editorial McGraw-Hill Intl. 5a Ed. Madrid, España. Pp. 134, 1047-1048.
- Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A., Di Venere D., Salerno M. 2002. Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*. 67(5):1862-1867.
- Romanazzi G., Nigro F., Ippolito A. 2003. Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. *Postharvest Biology and Technology*. 29:73-80.
- Romanazzi G., Milokota G. F., Santini M., Landi L., Karabulut O., Smilanick J. 2007. Advances in the use of chitosan to control postharvest decay of table grapes. En Proceedings of COST 924 "Novel Approaches for the control of Postharvest Diseases and Disorders". Bologna, Italia. Pp. 327-334.
- SAGARPA-SIAP. 2013. Dirección electrónica (7 de octubre del 2013): http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
- Sarabia-Bañuelos P. 2011. Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: Obtención de quitina y quitosana del cefalotórax de camarón por métodos ecológicos.

Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.

- Velázquez, L. C. 2008. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *Revista UDO Agrícola*. 8(1):1-22.
- Vogt, E. 1986. El vino: Obtención, elaboración y análisis. Editorial Acribia. 2a Ed. Zaragoza, España. Pp. 12-17, 22.
- Waliszewski, N. K., Pardo, T. V., Ramirez, M. 2002. Effect of chitin on color during osmotic dehydration of banana slices. *Drying Technology*. 20:719-726.