



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**CAPACIDAD ANTIFÚNGICA DE RECUBRIMIENTOS ADICIONADOS CON
COMPUESTOS BIOACTIVOS PARA EL CONTROL DE ALTERNARIA
ALTERNATA Y FUSARIUM SP. EN CALABACITA.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

DIANA YADIRA TREJO JAIMES

ASESORAS:

DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ
M. EN C. ALMA ADELA LIRA VARGAS



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.

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

Capacidad antifúngica de recubrimientos adicionados con compuestos bioactivos para el control de Alternaria alternata y Fusarium sp. En calabacita

Que presenta la pasante: Diana Yadira Trejo Jaimes
Con número de cuenta: 099318347 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 15 de Agosto de 2014.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Francisco Montiel Sosa	
VOCAL	IQ. Guadalupe Franco Rodríguez	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	IA. Patricia Muñoz Aguilar	
2do. SUPLENTE	IA. Zaira Berenice Guadarrama Álvarez	

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

HMI/lac

AGRADECIMIENTOS:

El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT (IT201513): Desarrollo de envases activos para la conservación de productos frescos y mínimamente procesados, de la Dirección General de Asuntos del personal Académico de la UNAM.

El mejor placer en la vida es hacer lo que la gente te dice que no puedes hacer, por lo que lo verdaderamente importante no son los objetivos trazados, si no el camino que elegimos para llegar a ellos, pues no siempre la línea recta es la mejor opción así que a lo largo de este recorrido he elegido curvas, baches, ascensos y descensos y se ha convertido en la experiencia más enriquecedora que haya deseado....

Quiero dedicar esta tesis a mis pequeñas Valentina y Eva Natalia porque fueron mi inspiración y son mi motor para seguir adelante.

GRACIAS:

A la Universidad que me formó durante nueve años y me dio la dicha de conocer personas y corazones que caminaron a mi lado. ro hermano.

A mis asesoras, quienes son ejemplo a seguir: Dra Andrea por su tiempo, paciencia y confianza; Ade, por todo el apoyo brindado, tus horas de desvelo, los consejos y tiempo dedicado. Es admirable la vocación que tienen para formar más que Ingenieros.

A mis padres por dejarme existir en esta vida, en esta dimensión, por su amor, tiempo y confianza. Mi madre Elvira Jaimes por ser mi compañera incondicional en las buenas y en las muy difíciles, te amo madre, mi padre Jesús Trejo por ser mi pilar "dénme un punto de apoyo y moveré al mundo" siempre estás en mi corazón.

A mis hermanos Luis, Juan, Vianney y Beatriz por ser mis papás chiquitos. Cada uno ha estado presente y pendiente de mí, los quiero mucho. Luiggi por tu apoyo incondicional, te admiro hermano.

A mis niñas, Valentina gracias mi niña por acompañarme desde el vientre y soportar ausencias y desvelos, nunca te rindas; Eva por enseñarme cada día a ser mejor. Son mi razón de ser. Las amo.



ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Generalidades de la calabacita	4
2.1.1 Origen	4
2.1.2 Morfología y taxonomía	5
2.1.3 Importancia económica	6
2.1.4 Composición química y valor nutricional	8
2.1.5 Enfermedades de la calabacita	9
2.1.6 Métodos de conservación	14
2.2 Generalidades de recubrimientos	16
2.2.1 Definición	16
2.2.2 Propiedades de películas y recubrimientos	17
2.2.3 Materiales para recubrimientos y películas comestibles	18
2.2.4 Compuestos antimicrobianos	19
2.3 Plantas del desierto mexicano	21
2.3.1 Orégano	21
2.3.2 Sangre de Drago	21
2.3.3 Hoja Sen	23
2.3.4 Compuestos bioactivos	24
2.3.5 Métodos de extracción de compuestos bioactivos	26
3. OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo general	28
3.2 Objetivos particulares	28



4. MATERIALES Y MÉTODOS	29
4.1 Cuadro metodológico	30
4.2 Material biológico	31
4.3 Obtención de extracto vegetal	31
4.4 Pruebas <i>in-vitro</i> del extracto vegetal	32
4.4.1 Crecimiento del hongo <i>Alternaria alternata</i> y <i>Fusarium sp</i>	32
4.5 Elaboración de recubrimientos	33
4.6 Caracterización de películas	34
4.7 Pruebas <i>in-vitro</i> de películas	34
4.8 Pruebas <i>in-vivo</i> en calabacita	35
4.8.1 Obtención del inóculo	35
4.8.2 Inoculación en la calabacita	35
4.8.3 Aplicación del recubrimiento en calabacita inoculada	36
4.9 Técnicas analíticas	37
4.9.1 Cuantificación de fenoles totales en los extractos	37
4.9.2 Determinación de propiedades físicas en las películas	37
4.9.3 Determinación de propiedades de barrera en las películas	39
4.9.4 Determinación de parámetros de calidad de calabacita	40
4.10 Análisis estadístico	42
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
5.1 Pruebas <i>in-vitro</i> de los extractos vegetales	43
5.2 Caracterización de películas	51
5.3 Pruebas <i>in-vitro</i> de los envases activos	61
5.4 Pruebas <i>in-vivo</i> en las calabacitas con envases activos	65
5.4.1 Parámetros de calidad	65
6. CONCLUSIONES	76
7. RECOMENDACIONES	78
8. REFERENCIAS	79



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Morfología de la calabacita.	5
Tabla 2. Clasificación taxonómica de calabacita.	6
Tabla 3. Composición química y valor nutricional.	9
Tabla 4. Enfermedades de la calabacita.	10
Tabla 5. Métodos de conservación de la calabacita.	15
Tabla 6. Materiales utilizados como matriz en recubrimientos comestibles.	18
Tabla 7. Aditivos utilizados para elaborar recubrimientos comestibles.	19
Tabla 8. Aplicación de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas.	20
Tabla 9. Composición química de la planta Sangre de Drago.	23
Tabla 10. Compuestos bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago.	25
Tabla 11. Métodos de extracción de compuestos bioactivos.	27
Tabla 12. Formulación del recubrimiento.	33
Tabla 13. Escala de índice de decaimiento.	41
Tabla 14. Apariencia visual de pruebas <i>in vitro</i> del hongo <i>Alternaria alternata</i> .	47
Tabla 15. Apariencia visual de pruebas <i>in vitro</i> del hongo <i>Fusarium sp.</i>	50
Tabla 16. Efecto de los envases activos de CMC-Hoja Sen sobre <i>Alternaria alternata</i> .	62
Tabla 17. Efecto de los envases activos de CMC-Hoja Sen sobre <i>Fusarium sp.</i>	64
Tabla 18. Apariencia visual del índice de decaimiento para calabacitas control (de campo) (C), con recubrimiento CMC 1.0% (CR) y con recubrimiento + extracto de Hoja Sen (CRE).	68
Tabla 19. Apariencia visual del índice de deterioro para calabacitas infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (CA), con recubrimiento CMC 1.0% (CAR) y con recubrimiento + extracto de Hoja Sen (CARE).	69
Tabla 20. Apariencia visual del índice de deterioro para calabacitas infectadas con <i>Fusarium sp.</i> (CA), con recubrimiento CMC 1.0% (CAR) y con recubrimiento + extracto de Hoja Sen (CARE).	69



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Frutos de calabacita.	4
Figura 2. Producción mundial de la calabacita en ton/año 2011.	7
Figura 3. Distribución nacional de producción de calabacita/ Ton en 2011.	8
Figura 4. <i>Alternaria alternata</i> .	12
Figura 5. <i>Fusarium sp.</i>	13
Figura 6. Calabacita infectada con <i>Fusarium sp.</i>	14
Figura 7. Orégano (<i>Lippia graveolens</i>).	21
Figura 8. Planta Sangre de Drago.	22
Figura 9. Hoja Sen (<i>Flourensia cernua</i>).	23
Figura 10. Calabacitas como material biológico.	31
Figura 11. Identificación visual de los hongos <i>Alternaria alternata</i> y <i>Fusarium sp.</i>	32
Figura 12. Recubrimiento con extracto de Hoja Sen prueba para <i>Fusarium</i> (izquierda) y <i>Alternaria</i> (derecha).	34
Figura 13. Metodología de aplicación del envase activo.	36
Figura 14. Colorímetro.	38
Figura 15. Porcentaje de inhibición de <i>Alternaria alternata</i> por el efecto de extractos de Orégano (A), Hoja Sen (B) y Sangre de Drago (C) a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.	44
Figura 16. Porcentaje de inhibición de <i>Fusarium sp</i> por el efecto de extractos de Orégano (A), Hoja Sen (B) y Sangre de Drago (C) a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.	48
Figura 17. Luminosidad de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y con carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B), adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm.	51
Figura 18. Tono de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm.	52
Figura 19. Cromo de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm.	54



Índice

Figura 20. Espesor de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm.	56
Figura 21. Transparencia de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm.	58
Figura 22. Permeabilidad al vapor de agua de las películas modelo con matriz CMC a concentración de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con extractos vegetales.	59
Figura 23. Porcentaje de inhibición de <i>Alternaria alternata</i> en envase activo con extracto de Hoja Sen a concentración de 8,18 y 33%.	61
Figura 24. Porcentaje de inhibición de <i>Fusarium sp</i> en envase activo con extracto de Hoja Sen a concentración de 8,18 y 33%.	63
Figura 25. Porcentaje de pérdida de peso en calabacitas sin infectar (A), infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (B) e infectadas con <i>Fusarium sp</i> (C). Donde: C=control; RC=recubrimiento CMC 1%; RCE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen.	66
Figura 26. Índice de decaimiento en calabacitas sin infectar (A), infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (B) e infectadas con <i>Fusarium sp</i> (C). Donde: C=control; RC=recubrimiento CMC 1%; RCE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen.	67
Figura 27. Sólidos solubles totales en calabacitas sin infectar (A), infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (B) e infectadas con <i>Fusarium sp</i> (C). Donde: C=control; RC=recubrimiento CMC 1%; RCE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen.	71
Figura 28. Firmeza de las calabacitas sin infectar (A), infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (B) e infectadas con <i>Fusarium sp</i> (C). Donde: C=control; RC=recubrimiento CMC 1%; RCE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen.	73
Figura 29. Respiración de las calabacitas sin infectar (A), infectadas con <i>Alternaria alternata</i> (B) e infectadas con <i>Fusarium sp</i> (C). Donde: C=control; RC=recubrimiento CMC 1%; RCE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen.	74



RESUMEN

El presente proyecto tiene como objetivo evaluar la capacidad antifúngica de recubrimientos a base de goma arábica y carboximetilcelulosa adicionados con compuestos bioactivos de extractos de plantas del desierto mexicano (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) para controlar la pudrición causada por *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* en calabacita y prolongar su vida útil.

Las calabacitas de la variedad italiana, fueron seleccionadas, lavadas, desinfectadas y secadas, previas a la aplicación de los recubrimientos. Los recubrimientos evaluados fueron carboximetilcelulosa (CMC) a concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0%; mientras que para goma arábica (GA) fueron de 1.0, 1.5 y 2.0%, adicionadas con 0.06% de glicerol, 0.4% de tween 80 y con los tres extractos de las plantas a 3000 ppm por separado a temperatura ambiente por un tiempo de 3 minutos de inmersión y 20 de secado. Posterior a esto, las calabacitas se almacenaron a 14°C durante 12 días, tiempo en el que se realizaron las pruebas de calidad.

La concentración de 3000 ppm a la que se aplicaron los extractos, se determinó por medio de la prueba *in vitro* sobre el crecimiento micelial de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.*, ya que a dicha concentración la inhibición se logró al 100% durante 10 días.

A su vez, se realizó una caracterización de las películas modelo en función de sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad al vapor de agua), donde se obtuvo que CMC a 1% reportó mejores características para fungir como matriz del recubrimiento a aplicar, al presentar baja permeabilidad de vapor de agua, mejor transparencia, color, menor espesor y buena adherencia con respecto a GA.

En las pruebas *in vitro* del envase activo elaborado con CMC 1%, se adicionó extracto de Hoja Sen a 3 concentraciones (8, 16 y 33%), de las cuales, 33% logró una inhibición del 23% contra *Alternaria alternata* al día 10, mientras que el efecto sobre *Fusarium sp.*, fue menor al presentar sólo 5.5% de inhibición al día 8 y nula al día 10. Sin embargo, en el seguimiento fotográfico se pudo apreciar el crecimiento radial pero un escaso crecimiento de *Fusarium sp.*, dimensional al no presentar micelio como en la prueba *in vitro* con extractos. Por lo que la aplicación se realizó para evaluar el efecto sobre ambos hongos.



Resumen

La evaluación de los parámetros de calidad en los recubrimientos, resultó positiva en el índice de decaimiento, el cual fue menor en las calabacitas con extracto; los sólidos solubles no se afectaron; en firmeza a pesar de que fluctuaron los valores, no afectó al final de la experimentación. Este parámetro va ligado con la pérdida de peso la cual si aumentó en las calabacitas tratadas con recubrimiento+extracto y respecto al parámetro de respiración, no la redujo que era lo esperado, si no que fue similar a los controles no infectados. Sin embargo, la aplicación del recubrimiento de CMC 1% adicionada con extracto de Hoja Sen a 33%, puede ser una alternativa en el control de la pudrición por *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* en calabacita.



1. INTRODUCCIÓN

México se encuentra entre los principales productores y exportadores de hortalizas en el mundo, se ubica en cuarto lugar a nivel mundial y primero en el continente (Escalante, 2006) entre las de mayor importancia se encuentra el calabacín o calabacita, perteneciente al género *Cucurbita* de la especie *pepo*, la cual tiene su origen en América principalmente en México y E.U desde hace más de 10.000 años A.C. (Andrés, 2012).

No todas las frutas de calabaza cosechadas en un predio llegan a ser consumidas debido a que sufren daños, deterioro y pudrición durante las diferentes etapas de su manejo previas a su uso o consumo. El problema del deterioro se debe a que los productos hortofrutícolas son tejidos vivos que están sujetos a continuos cambios después de ser cosechados. Durante el almacenamiento, las frutas y hortalizas continúan respirando, es decir consumiendo oxígeno (O_2) y desprendiendo dióxido de carbono (CO_2). La velocidad de deterioro es generalmente proporcional a la velocidad a la que transcurre la respiración del producto. Además, las frutas y hortalizas también transpiran, es decir pierden agua, lo cual produce pérdidas importantes por deshidratación (Pérez-Gago, 2003; Fornaris, 2012).

Los problemas fitosanitarios constituyen el principal limitante del cultivo de hortalizas en las zonas productoras de México; por su importancia económica destacan las enfermedades fungosas; en particular, la pudrición por *Fusarium* y el tizón temprano ocasionado por *Alternaria*, los cuales afectan ramas, pecíolos, hojas tallos y frutos, causando una disminución considerable de la producción y en consecuencia productos de menor calidad (Michel-Aceves *et al.*, 2011).

Es por ello que la demanda actual de productos frescos y de mayor calidad ha generado una alternativa con potencial viable en el aumento del uso de tecnologías de aplicación de antimicrobianos o el uso de recubrimiento de películas comestibles (Patiño *et al.*, 2012).

Dependiendo de su composición química, las películas comestibles, pueden regular: la transferencia de oxígeno, vapor de agua, CO_2 , etileno y otros compuestos volátiles; así como tener efecto en las propiedades mecánicas de los alimentos. Las películas pueden ser



Introducción

elaboradas a base de lípidos, proteínas, carragenanos, pectinas, alginatos y almidones hidrolizados en conjunto con agentes antimicrobianos, antioxidantes, sabores, colores y plastificantes que han sido adicionados para mejorar las propiedades funcionales de las cubiertas (Galiotta *et al.*, 2005).

García *et al.* (2000), reportaron que al mezclar aceite de girasol (*Helianthus annuus* L.) y almidón de maíz (*Zea mays* L.) con glicerol y sorbitol como plastificante, obtuvieron un recubrimiento, con buenas propiedades mecánicas para adherirse a la zanahoria (*Daucus carota* L.) y redujeron la pérdida de vapor de agua tres veces más por encima del control. Por su parte, Mc Hung y Senesi (2000), realizaron una mezcla de puré de manzana (*Pyrus Malus* L.) con lípidos (ácidos grasos, alcoholes grasos, ceras y aceite vegetal), con glicerol como plastificante, para elaborar un recubrimiento y aplicarlo en trozos de manzana. Y Ventosa (2010), utilizó en extracto de Aloe vera, glicerol como plastificante y tween 80 como surfactante en zanahorias y tomates, obteniendo películas con buenas propiedades mecánicas; minimizando la pérdida de peso y ejerciendo un efecto positivo en el mantenimiento de la firmeza de los frutos e incluso logrando un efecto en la actividad antifúngica contra *Alternaria alternata ssp.*, al inhibir su crecimiento micelar en las hortalizas.

Por otra parte, el uso de extractos de plantas que presentan inhibición contra hongos y bacterias, se ha incrementado, reportándose que aceite de orégano, vainilla, ajo, extracto de pimienta negra y de canela, pueden ser una alternativa natural, ya que el uso de conservadores químicos se asocia con diferentes tipos de intoxicaciones y por lo tanto, los extractos naturales pueden ser utilizados para alargar la vida de anaquel del alimento (Rodríguez, 2011).

La adición de estos compuestos antifúngicos a películas comestibles, permite formar un envase activo el cual tiene como función prevenir el deterioro del alimento y extender su tiempo de vida. Esto implica además, poder impartir a los envases funciones específicas de aplicación que mejoren las propiedades de los mismos en relación a la conservación del alimento (Costamagna, 2009).



Introducción

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad antifúngica de recubrimientos a base de goma arábica y carboximetilcelulosa adicionados con compuestos bioactivos de extractos de plantas del desierto mexicano (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) para controlar la pudrición causada por *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* en calabacita, prolongar su vida útil y mejorar su calidad de consumo. Aunado a ello se espera que los recubrimientos proporcionen más brillo, mejorando la apariencia y firmeza, obteniendo un producto agradable a la vista.



2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades de la calabacita

La calabacita (Figura 1) es una de las hortalizas más importantes en México por la superficie sembrada y por ser muy redituable, fácil manejo y gran demanda de mano de obra. Se consume en estado tierno y se encuentra todo el año en los mercados (SAGARPA, 2012).



Figura 1. Frutos de calabacita.
Fuente: SAGARPA (2012).

2.1.1. Origen

El origen del calabacín no está del todo claro, por una parte parece ser que procede de Asia. Su nombre aparece entre las hortalizas citadas por egipcios y existen pruebas de que también eran conocidos por los romanos. Otras fuentes atribuyen su origen a la América precolombina, concretamente en la zona de México de donde fue distribuida a América del Norte y del Sur. Sus orígenes se remontan desde hace más de 10,000 años A.C. antes de que aparecieran civilizaciones como los olmecas, mayas y aztecas. Estas primeras culturas basaron su alimentación en el maíz, la calabaza, judías y los pimientos (Andrés, 2012).

Los colonizadores españoles fueron quienes aprendieron a cultivarlo en su contacto con los nativos y después la llevaron a España, donde se extendió su cultivo a otras partes de Europa con un clima templado o cálido (SAGARPA, 2012).

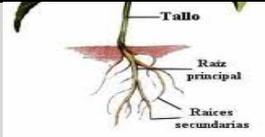
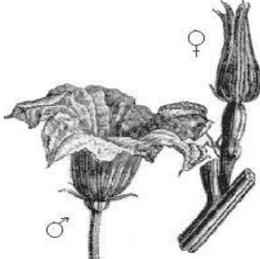
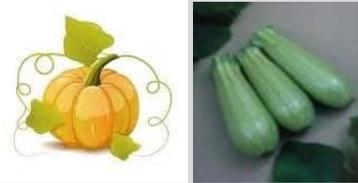
En la actualidad es también cultivada extensamente en toda Europa como calabazas de verano, cuyos frutos se consumen inmaduros (SAGARPA, 2012).



2.1.2 Morfología y taxonomía

Es una planta herbácea, anual, monoica (con flores masculinas y femeninas separadas), erecta y después rastrera que puede llegar a los 10 m de longitud, de tallos acanalados y de aspecto áspero y sarmentoso hojas pubescentes, lobuladas y acorazonadas (Tabla 1). Las grandes flores amarillas son unisexuales; las masculinas tienen los estambres soldados en forma de pilar y en ambos sexos el cáliz está unido a la corola (Andrés, 2012; Martínez *et al*, 2012).

Tabla 1. Morfología de la calabacita.

Parte	Imagen	Descripción
Raíz		Presenta una raíz axonomorfa, con una raíz principal que alcanza un gran desarrollo en comparación con las raíces secundarias.
Tallo		Existe un tallo principal con atrofia de brotaciones secundarias. Tiene forma cilíndrica, es áspero al tacto debido a la superficie pelosa que es bastante densa. Los entrenudos son cortos y desde ellos parten las hojas, flores y frutos.
Hojas		Las hojas son grandes, palmeadas, de color verde, pubescentes, lobuladas y acorazonadas
Flores		Presenta flores masculinas y femeninas en el mismo pie. Sus flores son grandes, de color amarillo intenso y con forma acampanada. Se disponen alrededor del tallo al que se unen a través de un largo pedúnculo, ya que nacen en las axilas de las hojas.
Frutos		Los frutos son oblongos y varían mucho en tamaño, dependiendo de la variedad. La cáscara es lisa y dura y también varía en color.

Fuente: Andrés (2012); Martínez *et al*. (2012).



Antecedentes

Como todas las cucurbitáceas, *Cucurbita pepo* hibrida con facilidad con otras especies afines; esa es una de las causas de la frecuente confusión entre las mismas, de las cuales algunas como *Cucurbita maxima* y *Cucurbita moschata* se cultivan también por su fruto. Existen multitud de variedades de diferentes colores y tamaños; las más grandes llegan a pesar entre 18 a 36 kg. Las variedades que se siembran en mayo o junio son de piel verdi-blanca mientras que las sembradas en marzo son de piel oscura (Martínez *et al.*, 2012; SAGARPA, 2012).

Sin embargo todas las variedades parten de la clasificación taxonómica de la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación taxonómica de calabacita.

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Dilleniidae</i>
Orden	<i>Cucurbitales</i>
Familia	<i>Cucurbitaceae</i>
Tribu	<i>Cucurbiteae</i>
Género	<i>Cucúrbita</i>
Especie	<i>Cucúrbita pepo</i>

Fuente: Andrés (2012).

2.1.3. Importancia económica

- **Internacional**

Las hortalizas son importantes a nivel mundial, ya que ocuparon una superficie de 19.2 millones de hectáreas y generaron una producción de 399.7 millones de toneladas en el año 2002. Entre las principales hortalizas cultivadas se encuentra la calabacita con 4.2% del volumen total de la producción mundial, siendo México el noveno lugar con una producción de 525,445 ton en el 2011. La producción de calabacita se ha concentrado en China (41%) e India (28%) (Figura 2) (SAGARPA, 2012).



Antecedentes

Las exportaciones mundiales de calabaza y calabacita crecieron entre 1990 y 2002 un 53%, ubicándose en el último año en 571 mil toneladas exportadas, con un valor de 432.2 millones de dólares (Financiera Rural, 2011).

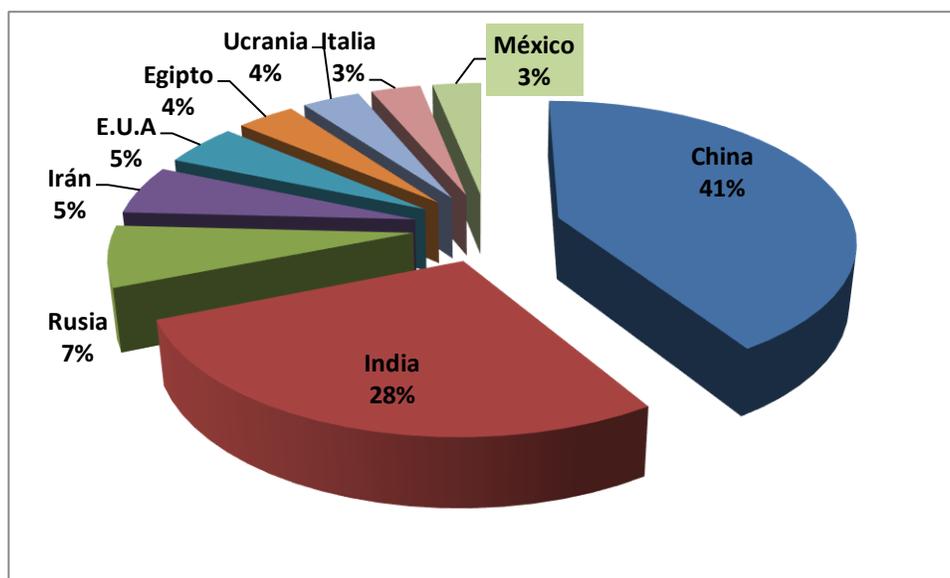


Figura 2. Producción mundial de la calabacita en ton/año 2011.

Fuente: FAO (2013).

Sin embargo, la producción de éste cultivo se destina para la exportación y ésta ha ido en aumento hacia los países desarrollados. México ocupa el segundo lugar dentro de los 10 principales países exportadores de calabacita para el periodo enero-octubre 2011 con un 18.7% de participación en la exportación mundial (FAO, 2013).

Durante el período de instrumentación del TLCAN, las exportaciones de frutas y hortalizas de México a Estados Unidos crecieron significativamente. En 1993, las importaciones de productos agroalimentarios de Estados Unidos provenientes de México representaban 12% del total; mientras que para el año 2001, esta relación fue de 14%, lo que ubica a México entre los principales exportadores de los productos agroalimentarios a ese país. Estas exportaciones son intensivas en mano de obra, lo cual genera una gran cantidad de empleo por unidad producida (Escalante, 2006).



Antecedentes

- **Nacional**

En 1996-98 las frutas y hortalizas duplican su superficie pasando a 8.6% en total y 34.6% en valor de la producción. Una unidad de superficie de hortalizas genera 7 veces más valor que de una unidad de granos (Escalante, 2006).

La producción agrícola nacional registrada en 2011 reporta que son 30 estados los productores de calabacita en sus diferentes variedades (Figura 3). Sonora, Sinaloa, Puebla, Michoacán, Jalisco, Hidalgo, Guanajuato, Morelos, Oaxaca, Edo. México, Zacatecas y Baja California son los estados que produjeron arriba de 10,000 ton en 2011 (SAGARPA, 2012).

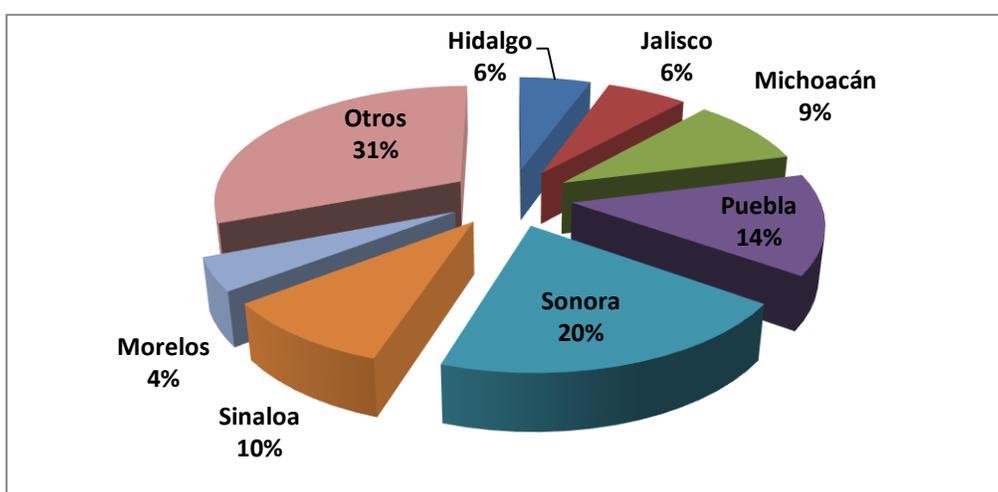


Figura 3. Distribución Nacional de producción de calabacita/ Ton en 2011.
Fuente: SAGARPA (2013).

2.1.4. Composición química y valor nutricional

El componente principal de la calabaza es el agua (Tabla 3), lo que, unido a su bajo contenido en hidratos de carbono y a su casi inapreciable cantidad de grasa, hace que sea un alimento con un escaso aporte calórico y lo convierte en un alimento excelente para los enfermos y deportistas (Martínez *et al.*, 2012).

También está compuesta por un gran número de aminoácidos, entre los que destacan la niacina (vitamina A) y tiamina (vitamina B), responsables de las numerosas propiedades medicinales de este producto, algunas de esas propiedades son (Andrés, 2012):



Antecedentes

- Propiedades vermífugas, para lo que es necesario consumir el interior del fruto.
- Propiedades antipiréticas, diuréticas y antiespasmódicas, para lo que es necesario tomar infusiones de sus hojas.
- Mejora el sistema inmunológico (folatos).
- Tratamiento de quemaduras y anomalías en la piel para lo que se usa el fruto de manera externa.

Pero sobre todo hay que mencionar la abundancia de ácidos entre sus componentes, sobre todo ascórbico, linoleico, aspártico y salicílico y que están abriendo una puerta a nuevos usos de esta especie (Andrés, 2012).

Tabla 3. Composición química y valor nutricional.

100 g de porción comestible	Cantidad	
Agua	89.0	g
Carbohidratos	6.0	g
Proteínas	1.3	g
Fibra	1.3	g
Grasa	0.4	g
Potasio	230.0	mg
Fósforo	31.0	mg
Calcio	19.0	mg
Ácido ascórbico	14.8	mg
Sodio	3.0	mg
Niacina	0.6	mg
Fierro	0.4	mg
Vitamina B	0.2	mg
Folato	50	µg
Vitamina A	4	µg
Energía	31.0	kcal

Fuente: Andrés (2012).

2.1.5 Enfermedades de la calabacita

Por lo general todas las cucurbitáceas son afectadas por las mismas enfermedades, las cuales pueden ser causadas por hongos, bacterias o virus (Tabla 4). Estas enfermedades pueden afectar las plantas en diferentes etapas de su desarrollo y la expresión de los síntomas dependerá de varios factores, entre ellos la susceptibilidad del cultivo, la edad de la planta y las condiciones ambientales prevaletentes (Rosa, 2012).



Antecedentes

Tabla 4. Enfermedades de la calabaza.

ENFERMEDAD	AGENTE CAUSAL	SÍNTOMA	CONTROL
Añublo lanoso	HONGO		
	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	Manchas amarillentas en hojas, produce áreas necrótidas hasta causar la muerte de la hoja.	Aspersión con fungicidas.
Añublo polvoriento	<i>Erysiphe cichoracearum</i> y <i>Sphaerotheca fuliginea</i>	Manchas blancas en el envés de hojas y polvillo blanco.	Aspersión con fungicidas.
Tizón gomoso	<i>Dydimella bryoniae</i>	Afecta todas las partes aéreas de la planta incluyendo al fruto causándole pudrición negra.	Utilizar semilla certificada, sistema de riego por goteo y un fungicida.
Antracnosis	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Manchas acuosas, amarillas y circulares en las hojas, después se oscurecen y la hoja se adelgaza.	Usar semilla certificada, arar profundo después de la cosecha y aplicar un fungicida.
Tizón foliar por Alternaria	<i>Alternaria cucumerina</i>	Lesiones café oscuro en hojas y manchas oscuras en frutos con lesiones acuosas y después áreas oscuras necrótidas.	Abonar las plantas y rotar al menos dos años el cultivo con otro. Usar sistema de riego por goteo.
Pudrición por Phytophthora (fruta)	<i>Phytophthora</i> spp.	Manchas acuosas con leves depresiones. Bajo humedad el hongo produce masa de micelio blanco seguida de pudrición blanda.	Sembrar en suelos con buen drenaje sin infestación del hongo y rotación con otros cultivos que no sean cucurbitáceas.
Pudrición negra (fruta)	<i>Dydimella bryoniae</i>	Manchas grandes grisáceas redondas de apariencia acuosa en frutas luego puntos negros sobre las lesiones.	Utilizar semillas sanas y eliminar residuos de cosechas infectadas.
Antracnosis (fruta)	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Manchas conspicuas, acuosas y circulares. En humedad las lesiones se cubren de masa de esporas anaranjado-rosa.	Usar semillas sanas, retirar los frutos con primeros síntomas y no dañar los frutos.
Pudrición por Fusarium (fruta)	<i>Fusarium</i> spp.	Pudrición firme de apariencia esponjosa, en humedad produce masa de esporas de color blanco a rosado.	Inspeccionar antes del transporte y empaque para eliminar frutas afectadas.



Antecedentes

Tabla 4. Enfermedades de la calabaza (continuación)

BACTERIAS			
Mancha angular de la hoja angular	<i>Pseudomonas syringae lachrymans</i> p.v.	Pequeñas manchas acuosas que se tornan color gris, se agrietan y desprenden del tejido sano.	Sembrar en época de sequía, no entrar en el predio y asperjar con plaguicidas.
Mancha bacteriana (fruta)	<i>Pseudomonas syringae lachrymans</i> p.v.	Lesiones marrón en cáscara, los frutos tiernos se deforman y curvan. Las lesiones exudan una sustancia viscosa.	Frutos con lesiones se descartan, evitar daño mecánico y refrigerar a 50°F.
VIRUS			
Manchas anulares de la papaya tipo sandía		El follaje muestra mosaicos verdes, deformación, ampollas y distorsión. Las frutas se deforman y cambian de color. Enanismo severo en la planta.	Utilizar variedades resistentes. Establecer un programa de reducción de malezas y otros hospederos.
Mosaico amarillo del calabacín		Distorsión severa del follaje, ampollas verde oscuro, los frutos desarrollan protuberancias y deformación.	Utilizar semillas resistentes. Eliminar los residuos de plantas infectadas.
Mosaico de la calabaza		Plantas con enrizamiento, amarillento, deformación y moteado.	Utilizar semilla certificada libre de virus.

Fuente: Rosa (2012).

Sin embargo, las enfermedades que causan mayor daño a los cultivos hortícolas son las provocadas por los hongos. En este proceso se observa no sólo la pérdida financiera a raíz de las enfermedades micóticas, sino también, una mayor cantidad y variedad de las enfermedades. Los hongos tienen las siguientes características: paredes celulares rígidas; falta de clorofila; presencia de núcleo y nucléolo; hifas (en conjunto forman el micelio) que se elongan terminalmente; quitina en paredes de hifa y reproducción por medio de esporas (Carrillo, 2013).

Es así que los géneros *Alternaria*, *Botrytis*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phoma*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor*, son conocidos como los principales causantes de las alteraciones más frecuentes en frutas y hortalizas, especialmente las referidas al aspecto físico, valor nutricional, características organolépticas y dificultad de conservación, así como de las alergias e intoxicaciones en los consumidores, debido a que producen estructuras



Antecedentes

especializadas que se depositan sobre el producto, penetran, invaden y eventualmente colonizan masivamente el tejido para causar daño y posteriormente segregan sustancias, como consecuencia de su metabolismo secundario (Carrillo, 2013).

Por ello, se concentrará el estudio en dos géneros: *Alternaria* y *Fusarium*, principales hongos que atacan a la calabacita en poscosecha.

- ***Alternaria alternata***

El hongo *Alternaria alternata* (Figura 4) es un patógeno que reduce el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados. Produce colonias (56 - 63 mm de diámetro en 1 semana a 27°C), chatas y ligeramente algodonosas. El micelio aéreo es gris verdoso con reverso negro parduzco (Carrillo, 2013).

A. alternata produce cadenas de 10 ó más conidios muy ramificados a partir de conidióforos cortos. La ramificación de los conidios surge de conidióforos secundarios desde células conidiales basales o apicales, en relación 1:1, dando un aspecto abierto. Las cadenas aparecen en los cultivos como manojos densos y aislados (Roberts, 2000). Se encuentra presente en el aire y el suelo, y no suele instalarse en frutos que crecen en buenas condiciones. Las infecciones ocurren en heridas (por insectos, cicatrices de la flor, rajado, etc.) o sobre tejido debilitado por cualquier causa (heladas, sobre-maduración) (Sánchez-Domínguez *et al.*, 2007).

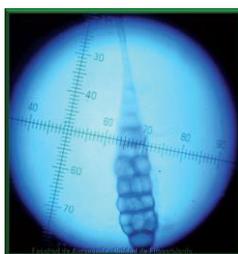


Figura 4. *Alternaria alternata*
Fuente: Bayer Crop Science (2013).



Antecedentes

La esporulación de *Alternaria* es óptima a 27°C pero es inhibida por debajo de 15°C o por sobre 33°C, aunque el rango de crecimiento está entre 0 y 35°C. La actividad de agua mínima para el desarrollo es 0,88 y la óptima casi 1,00. El crecimiento se reduce a la mitad en una atmósfera con más de 15% de CO₂ o con 2,8% de O₂ (Carrillo, 2013).

La enfermedad que causa *Alternaria alternata* ha de prevenirse con un manejo del cultivo que evite la aparición de condiciones para el desarrollo de ésta: formación de heridas por las diversas causas citadas (insectos, heladas, exceso de abonado), y conservación en post-cosecha en condiciones óptimas (Bayer Crop Science, 2013).

- *Fusarium sp.*

Respecto al hongo *Fusarium*, sus especies se encuentran en los vegetales antes de la cosecha (Figura 5). Como persisten en los productos almacenados, si la actividad del agua lo permite crecerán causando alteraciones y a veces produciendo toxinas (Rosa, 2012).



Figura 5. *Fusarium sp.*
Fuente: Bullock (2006).

Las lesiones pueden presentarse en cualquier parte de la fruta pero son más frecuentes en el extremo proximal (área cercana entre el pedúnculo “stem-end” y la fruta) (Figura 6) y en el área de la fruta en contacto con el suelo. El tejido afectado muestra una pudrición firme y de apariencia corchosa o esponjosa; en condiciones húmedas, es cubierto por una masa de esporas de color blanco a rosado. La lesión puede ser superficial o extenderse hasta la cavidad de las semillas (Rosa, 2012).



Figura 6. Calabaza infectada con *Fusarium sp.*
Fuente: Elaboración propia.

No se necesita de la presencia de heridas para que ocurra la infección ya que bajo condiciones de humedad el hongo puede penetrar directamente. Sin embargo, la presencia de heridas facilita la entrada del hongo. El crecimiento óptimo de este hongo es entre 21° y 29° C (Rosa, 2012).

La fruta puede infectarse si el cuchillo con que se cosecha toca el suelo o algún tejido infectado. La semilla puede ser portadora de la enfermedad (Rosa, 2012).

La forma y tamaño de las esporas es la característica principal para el reconocimiento del *Fusarium*. Las esporas están dispersas en el micelio aéreo o en esporodoquios o masas limosas (pionotos). Los macroconidios son curvados, pluriseptados, con una célula apical más o menos puntiaguda y en muchas especies con una célula basal en forma de pie. Los microconidios son comúnmente unicelulares, elipsoidales, fusiformes, claviformes, piriformes o subglobosos, similares en ancho a los macroconidios, con una base redondeada o truncada, por lo general formando cabezuelas mucosas, pero en algunas especies en cadenas basípetas (Carrillo, 2013).

2.1.6. Métodos de conservación de la calabacita

Tradicionalmente el control de los patógenos que atacan a hortalizas, ha sido por agroquímicos, los cuales se aplican a la semilla, follaje y al suelo, con resultados favorables; sin embargo, su uso trae como consecuencia efectos nocivos sobre el ambiente debido a su



Antecedentes

residualidad, lo que provoca que se acumulen en cuerpos de agua, suelo, plantas y animales; además, generan resistencia por parte de los fitopatógenos, sin olvidar el detrimento que causa en la salud humana. Lo anterior justifica plenamente la búsqueda de agentes de control biológico como una alternativa viable al uso indiscriminado de plaguicidas en la agricultura (Michel-Aceves *et al.*, 2011).

Por ello, en la Tabla 5 se describen los principales métodos de conservación que se utilizan para la conservación de las calabacitas.

Tabla 5. Métodos de conservación de la calabacita.

Método	Condiciones	Objetivo	Ventajas	Desventajas
Almacenamiento natural	Circulación de aire. Lugar seco. Cajones de madera o plástico con aperturas de ventilación.	Conservar hasta dos meses en buenas condiciones.	Mejora de color, sabor y consistencia de la pulpa. El contenido de B-caroteno puede mejorar.	Pierde peso al mes de 5%. Amarillamiento de la cáscara.
Refrigeración	Temperatura óptima de 10 a 12.5°C	Evitar el desarrollo de la pudrición de la fruta.	Permite concluir la cadena del frío con un fruto de calidad.	Sufrir daños por frío.
Atmósferas modificadas o controladas	Composición del aire: 78.0% N ₂ , 20.95% O ₂ , y 0.03% CO ₂ .	Monitorear y modificar con precisión la composición del aire atmosférico que rodea a las frutas en el almacenamiento.	Minimiza el proceso de maduración. Prologa su periodo de vida. Mantiene la calidad. Ayuda en el control de hongos e insectos.	Este método tiene aplicación limitada.
Recubrimientos comestibles	Directamente relacionadas con las características del fruto	Incrementar la calidad y vida de anaquel del producto	Retrasar el proceso de senescencia, mejorar el aspecto físico.	Si se exceden las concentraciones en matrices, se puede perjudicar el aspecto físico y de calidad del fruto.

Fuente. FAO (2013); Kader (2000).



2.2. Generalidades de recubrimientos

El desarrollo de películas y recubrimientos comestibles aplicados a productos hortofrutícolas frescos, ha generado recientes avances respecto al efecto sinérgico de los componentes sobre la vida de anaquel de dichos alimentos. El uso de hidrocoloides, plastificantes, aditivos y compuestos activos, tiene como objetivo generar una atmósfera modificada que tiene la capacidad de controlar la transferencia de masa representada en solutos, solventes, gases (O₂, CO₂) e incluso migrar sustancias desde la matriz ubicada en la superficie del alimento, tener efectos positivos sobre el control de la tasa de crecimiento microbiano, y mantener características tan deseadas por los consumidores como firmeza, brillo, color de los frutos e incluso en alimentos procesados como los productos fritos que pueden llegar a minimizar la absorción de lípidos (Quintero *et al.*, 2010).

2.2.1. Definición

Los recubrimientos comestibles (RC) son matrices finas continuas formuladas a base de lípidos, proteínas o carbohidratos o mezclas de estos componentes, que se disponen sobre la superficie del alimento mediante la inmersión o aplicación de un spray de la solución filmogénica formulada, a diferencia de las películas comestibles (PC) que son matrices preformadas obtenidas por modelo cuyo espesor es siempre mayor al de los RC (Ramos-García *et al.*, 2010; Parzanese, 2012).

Cuya función es mantener la calidad de los productos recubiertos retrasando las principales causas de alteración a través de diferentes mecanismos (Sánchez *et al.*, 2008):

- Evitando ganancia o pérdida de humedad, que puede provocar una modificación de la textura, turgencia.
- Ralentizando cambios químicos que pueden afectar al color, aroma o valor nutricional del alimento.
- Actuando como barrera al intercambio de gases que puede influir en gran medida en la estabilidad de los alimentos sensibles a la oxidación de lípidos, vitaminas y pigmentos.



Antecedentes

- Mejorando la estabilidad microbiológica y mejorando la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas.

El mecanismo por el cual los recubrimientos conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera física a los gases, produciendo una atmósfera modificada ya que reducen la disponibilidad de O₂ e incrementan la concentración de CO₂ (Ramos-García *et al.*, 2010).

Los recubrimientos pueden elaborarse con ingredientes básicos adecuados al producto para brindarle la protección de barrera deseada y además, sirven como vehículos para incorporar aditivos específicos que refuerzan su funcionalidad tales como antioxidantes, colorantes y antimicrobianos, que en el caso de estos últimos evitará el crecimiento de microorganismos patógenos en la superficie de los productos vegetales (Ramos-García *et al.*, 2010).

2.2.2. Propiedades de películas y recubrimientos.

Diversos estudios reconocen la importancia de evaluar las matrices preformadas, con la tarea de cuantificar diversos parámetros como propiedades mecánicas (tensión y flexibilidad), ópticas (brillo y opacidad) y antimicrobianas a fin de determinar las posibilidades de su aplicación como nuevo empaque, ya que crea una atmósfera modificada (AM) que restringe la transferencia de gases (O₂, CO₂) y se convierte en una barrera para la transferencia de compuestos aromáticos (Quintero *et al.*, 2010).

Debido a que son considerados aditivos alimenticios y que es necesario que posean determinadas propiedades de barrera para la preservación de los productos, los recubrimientos deben presentar las siguientes características (Parzanese, 2012):

- a. Poseer propiedades nutricionales y organolépticas que sean compatibles con el alimento a recubrir.
- b. Presentar propiedades mecánicas adecuadas para evitar pérdidas por roturas o quiebre del material.
- c. Ser estables frente a las distintas condiciones de almacenamiento.
- d. Poder adherirse fácilmente a la superficie de los alimentos a tratar.



Antecedentes

- e. Responder a la reglamentación vigente (aditivos alimentarios).
- f. Requerir de tecnologías sencillas y de bajo costo para su fabricación y posterior aplicación.

Es importante destacar que las características funcionales de los RC y PC son consecuencia directa de la materia prima utilizada para su fabricación, la cual debe ser obtenida de fuentes naturales para asegurar su biodegradabilidad (Parzanese, 2012).

2.2.3 Materiales para recubrimientos y películas comestibles.

El campo de aplicación de los RC se amplía enormemente ya que esta tecnología permite diseñar y formular productos que se adapten según la forma de aplicación (directamente en campo, durante la confección en almacén o en el envasado) y el tipo de producto al que vayan destinados (entero, troceado, mínimamente procesado). Así los RC dependiendo del tipo de compuesto que incluyen en su formulación pueden agruparse en tres categorías (Tabla 6) (Pastor *et al.*, 2005; Parzanese, 2012):

Tabla 6. Materiales utilizados como matriz en recubrimientos comestibles.

Categoría	Subcategoría	Características	Ejemplos
Hidrocoloides	Proteínas	Polímeros hidrofílicos (contienen grupos oxhidrilos -OH) de origen vegetal, animal o microbiano. Producen un elevado aumento de la viscosidad y en algunos casos tienen efectos gelificantes ya que se disuelven y dispersan fácilmente en agua. Presentan excelentes propiedades mecánicas así como de barrera frente al O ₂ , CO ₂ y lípidos.	Gelatina Zeína Colágeno Gluten de trigo Caseína CMC Goma arábiga Maltodextrina Quitosan Carragenatos
	Polisacáridos		
Lípidos		Formados por compuestos hidrofóbicos y no poliméricos con buenas propiedades barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar films. Reducen la transpiración, la deshidratación, la abrasión en la manipulación posterior y pueden mejorar el brillo y el sabor.	Ceras (abeja, carnauba) Resinas ácidos grasos monoglicéridos diglicéridos



Antecedentes

Tabla 6. Materiales utilizados como matriz en recubrimientos comestibles (continuación).

Composites o compuestos	Laminados o Emulsiones	Formulaciones mixtas de hidrocoloides y lípidos; los lípidos aportan resistencia al vapor de agua y los hidrocoloides, permeabilidad selectiva al O ₂ y CO ₂ , la duración del film y la buena cohesión estructural o integridad del film.	Quitosano+CMC Pectina+Alginato de sodio
-------------------------	------------------------	--	--

Fuente: Pastor *et al.* (2005), Parzanese (2012).

2.2.4. Compuestos antimicrobianos

En la actualidad, los consumidores exigen que los alimentos frescos y mínimamente procesados estén exentos de sustancias de síntesis química, y buscan aquellos que traigan beneficios para su salud y que mantengan las características nutritivas y sensoriales de los productos adquiridos. Por lo tanto se ha prestado una mayor atención en la búsqueda de nuevas sustancias de origen natural que permitan actuar como posibles fuentes alternativas de antioxidantes y antimicrobianos (Ponce *et al.*, 2008).

El agregado de aditivos a los RC generalmente aumentan la permeabilidad de los mismos. Los plastificantes, emulsificantes, surfactantes y compuestos antimicrobianos (Tabla 7) son considerados como aditivos para mejorar las características de los recubrimientos (Bertuzzi *et al.*, 2002).

Tabla 7. Aditivos utilizados para elaborar recubrimientos comestibles.

Aditivo	Características	Ejemplos
Plastificante	Reducen las fuerzas intermoleculares entre las cadenas de polímero e incrementan el volumen libre, en consecuencia existe más espacio para que las moléculas de agua migren. Aumentan la capacidad de sorción de moléculas polares tales como el agua.	Glicerol Manitol
Emulsificante	Forman las mezclas de líquidos inmiscibles, tienen propiedades acomplejantes sobre el almidón y las proteínas.	Proteínas (huevo y leche). Monoglicéridos Lecitina de soya



Antecedentes

Tabla 7. Aditivos utilizados para elaborar recubrimientos comestibles (continuación).

Surfactante	Reducen las fuerzas de tensión superficial en la capa límite de dos sustancias por disolución, formación de complejo o ambos.	Tween 60 Tween 80
Compuestos antimicrobianos	Sustancias activas de mezclas complejas de metabolitos secundarios (flavonoides, fenoles, terpenos, etc.), extraídas de vegetales en forma natural, para destruir, impedir, prevenir la acción de algún microorganismo perjudicial.	Extractos etanólicos y aceites esenciales (Orégano, Hoja Sen, Sangre de Drago, pimienta, clavo, romero, etc.)

Fuente: Bertuzzi *et al* (2002), García *et al* (2004).

La aplicación de la tecnología de RC cumple con las exigencias de los consumidores actuales: productos saludables, mínimamente procesados, sin agregado de agentes químicos, y de producción sustentable. Siendo por lo tanto una de las alternativas con más futuro en el campo del envasado y conservación de alimentos (Parzanese, 2012).

El objetivo es aumentar el tiempo de almacenamiento y mejorar el aspecto de muchos alimentos. Actualmente el uso de los RC se ha extendido a muchos alimentos (Tabla 8) como productos cárnicos, quesos, platos preparados pero especialmente sobre frutas y hortalizas.

Tabla 8. Ejemplos de recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas.

Aplicación	Componente principal del RC	Función	Referencia
Mango	Quitosano	Reducir pérdida de agua, mantenimiento del color y sabor original	Chien <i>et al.</i> (2007)
Calabaza o auyama	CMC Quitosano	Análisis sobre la microflora nativa sensitiva a recubrimiento de quitosano adicionado con romero, ají y olivo, así como CMC-romero.	Ponce <i>et al.</i> (2008)
Pera	Metilcelulosa	Reducción del pardeamiento.	Olivas y Barbosa (2003)
Puré de manzana	Alginato + aceite esencial de orégano.	Control de <i>E. coli</i> , mejora la permeabilidad al vapor de agua. Inhibición efectiva de <i>L. innocua</i> .	Rojas Graü, (2006)
Lechuga	Pectina + gelana + aceite de orégano + CMC.	Disminuir tasa de respiración, pérdida de peso y humedad. Aumentar vida útil de 9 a 20 días.	Patiño <i>et al.</i> , (2012)



2.3. Plantas del desierto mexicano

2.3.1. Orégano

El orégano (*Origanum vulgare* L.) es un ejemplo de estos recursos (Figura 7), comprende varias especies de plantas que son utilizadas con fines culinarios, siendo las más comunes el *Origanum vulgare*, nativo de Europa, y el *Lippia graveolens*, originario de México. Algunas propiedades de los extractos del orégano han sido estudiadas debido al creciente interés por sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos. El orégano tiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entre otros. Estas características son muy importantes para la industria alimentaria ya que pueden favorecer la inocuidad y estabilidad de los alimentos (Arcilla *et al.*, 2004).

Tanto las hojas de orégano como los extractos obtenidos de éstas, han inhibido la oxidación lipídica en sistemas alimentarios, atribuyéndose la acción a la presencia de varios compuestos fenólicos entre los que destacan: ácido rosmarínico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido protocatechuico, derivados de estos ácidos, flavonoides, carvacrol y timol (Camacho *et al.*, 2005).



Figura 7. Orégano (*Lippia graveolens*)

Fuente: Denizli (2013).

2.3.2. Sangre de drago

La sangre de drago (*Jatropha dioica*) es una planta de las zonas áridas y representa una fuente rica de diversos fito-químicos de interés: científico y tecnológico (Figura 8). Esta planta se encuentra en varios estados del país como son: Zacatecas, San Luís Potosí, Hidalgo,



Antecedentes

Tamaulipas, Guanajuato y además en Coahuila se distribuye en: la región Carbonífera (Sabinas), Allende, Arteaga, Cuatro Ciénegas, Múzquiz, General Cepeda, Ocampo, Parras, Ramos Arizpe, Sierra Mojada, Saltillo, Viesca (Aguilar, 2010).



Figura 8. Planta Sangre de Drago.

Fuente: Aguilar (2010).

Es un arbusto de 50 a 150 cm de altura. Su nombre común se debe a que tiene un jugo incoloro que se oscurece al contacto con el aire. Sus ramas son de color rojizo oscuro, las hojas son largas, sus flores son pequeñas y en grupos de color rosa, sus frutos son globosos de 1.5 cm de largo y tienen una semilla (Comisión Nacional Forestal, 2013).

Los trabajos que existen acerca del uso de la sangre de drago han sido reportados por Silva-Belmares *et al.* (2002) quien demuestra que la presencia de algunos fitoquímicos obtenidos de las fracciones hexánicas de esta planta poseen un efecto antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* y actividad moderada sobre *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*.

Sangre de drago se usa como medicamento para la vaginitis, uretritis, blenorragica, nefritis, gastroenteritis, estomatitis, conjuntivitis, congestión renal, amigdalitis y como antiséptico local (Aguilar, 2010).

Los estudios que se presentan para Sangre de Drago indican que tiene importancia antiviral, antifúngica, antibacterial, antioxidante, antitumoral, de cicatrización y de sabor de alimentos por la composición química que presenta (Tabla 9) (Aguilar, 2010).



Tabla 9. Principales componentes químicos de la planta Sangre de Drago.

Carbohidratos	Taninos totales	Proteína	Referencia
72.621 mg EG / g planta seca	12.46 mg / g planta seca	2.35 mg EA / g planta seca	Aguilar (2010)

2.3.3. Hoja sen

Flourensia cernua (Hoja Sen), se distribuye ampliamente en las zonas desérticas del norte de México y del sur de Estados Unidos (Figura 9). A lo largo del territorio de México, la Hoja Sen se utiliza en forma de infusión para el tratamiento de diversas enfermedades gastrointestinales (dolor de estómago, diarrea y disentería). También se emplea como purgante, expectorante y antirreumático. En estudios sobre actividad antimicrobiana de extractos de Hoja Sen se ha encontrado efecto bactericida sobre cepas de *Mycobacterium tuberculosis* además de actividad fungicida (Zavala *et al.*, 2010).

Gamboa *et al.* (2002) han reportado otros estudios sobre su efecto contra *Rizoctonia solani* y *Phytophthora infestans* con extractos metanólicos, así como de *Colletotrichum ssp.*, con extractos hexánicos.



Figura 9. Hoja Sen (*Flourensia cernua*).

Fuente: Denizli (2013).



2.3.4. Compuestos bioactivos

Las plantas sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas como consecuencia de su metabolismo secundario. Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan en diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Paladino, 2008).

El *p*-cimeno y los derivados fenólicos como el carvacrol y timol han sido encontrados en diversas hierbas y especias. Estas sustancias son monoterpenoides representativos de un pequeño grupo de compuestos aromáticos que la naturaleza produce vía la ruta del mevalonato seguido por compuestos aromáticos que involucran al ácido shiquímico (Arcilla *et al.*, 2004).

Muchos de los fenoles están en estado de éter oxidado en la esencias y se ha encontrado que en el mundo vegetal actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de los posibles ataques fúngicos o bacterianos) además contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta. Los flavonoides en particular, exhiben una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo la actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica, antifúngica y vasodilatadora (Paladino, 2008).

Los fenoles en los alimentos funcionan como sustancias de calidad, aceptabilidad y estabilidad de los mismos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor (Arcilla *et al.*, 2004).

Por ende, estos compuestos bioactivos que se presentan en la Tabla 10, les confieren dichas propiedades a los extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago.



Tabla 10. Compuestos bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago.

Planta	Compuesto bioactivo	Estructura química
Orégano	Hidroxiluteolina	
	Eriodicitol	
	Floridzina	
Hoja Sen	Epicatequina	
	Ácido clorogénico	
	Kaempferol	



Antecedentes

Tabla 10. Compuestos bioactivos del Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago (continuación).	
	 <chem>O=C(O)[C@H](O)[C@@H](O)C(=O)O</chem>
Sangre de Drago	 <chem>Oc1ccc(cc1)Oc2c(O)c(O)c(O)c2Oc3c(O)c(O)c(O)c3</chem>
	 <chem>Oc1ccc(cc1)/C=C/c2ccc(O)cc2</chem>

Fuente: Vargas-Martínez y Trejo-Márquez (2013)

2.3.5. Métodos de extracción de compuestos bioactivos

Los extractos vegetales son el producto líquido obtenido a partir de plantas como el orégano, romero, damiana, gobernadora, canela, clavo, o parte de ellas con varios procedimientos como extracción continua en soxhlet, maceración en frío, extracción con solventes orgánicos o la extracción asistida por ultrasonido y con varios solventes como agua o alcohol (Carmona *et al.*, 2006).

El objetivo de cualquier método de extracción es obtener el extracto más concentrado en compuestos activos con la misma degradación de su poder antioxidante durante el proceso de obtención. Así, una vez seleccionado el solvente más adecuado, se obtiene la concentración de fenoles totales (Paladino, 2008).



Antecedentes

En la Tabla 11 se describen los métodos utilizados para extraer los compuestos bioactivos que se hacen presentes en los extractos vegetales.

Tabla 11. Métodos de extracción de compuestos bioactivos.

Método	Descripción	Condiciones
Extracción con solventes orgánicos	Se utilizan solventes orgánicos con bajo punto de ebullición y de baja reactividad. El alcohol es el más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados para el caso de extracción con agua.	El disolvente a utilizar y el tiempo de reposo (1.30 – 2.0 horas) dependen de la naturaleza del material.
Extracción por reflujo	El material vegetal y el solvente se colocan en un balón el cual tiene acoplado un refrigerante, se calienta, el solvente evaporado se condensa y vuelve a mezclarse con el material vegetal.	La selección del solvente adecuado radica en la naturaleza del material, así como el tiempo de reposo (1.30 – 2.0 horas).
Extracción asistida por ultrasonido	Utiliza sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente.	Se utiliza agua como medio de sonicación con un tiempo de 90 min a una temperatura de 20-24°C.

Fuente: Arévalo (1996), Azuola y Vargas (2007).



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad antifúngica de recubrimientos a base de goma arábica y carboximetilcelulosa adicionados con compuestos bioactivos de extracto de plantas del desierto mexicano (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) para controlar la pudrición causada por *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* en calabacita y prolongar su vida útil.

3.1.1 Objetivo Particular 1: Evaluar el efecto antifúngico de tres extractos de plantas del desierto mexicano (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) a diferentes concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm) a través de pruebas *in vitro*, sobre el crecimiento micelial de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* presentes en calabacita.

3.1.2 Objetivo Particular 2: Caracterizar películas modelo a base de goma arábica (GA) y carboximetilcelulosa (CMC) a tres concentraciones (1.0, 1.5 y 2.0% GA; 0.5, 0.75 y 1.0% CMC) mediante sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad de vapor de agua) para seleccionar las que presenten mejores características para su aplicación como recubrimiento.

3.1.3 Objetivo Particular 3: Evaluar el efecto antifúngico de las películas seleccionadas a través de pruebas *in vitro* sobre el crecimiento micelial de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp*.

3.1.4 Objetivo Particular 4: Establecer el efecto de los mejores recubrimientos sobre los parámetros de calidad (firmeza, índice de deterioro, pérdida de peso, sólidos solubles totales) y fisiológicos (respiración) de la calabacita para proponer dichos envases como una alternativa de conservación de esta hortaliza.



4. MATERIALES Y MÉTODOS



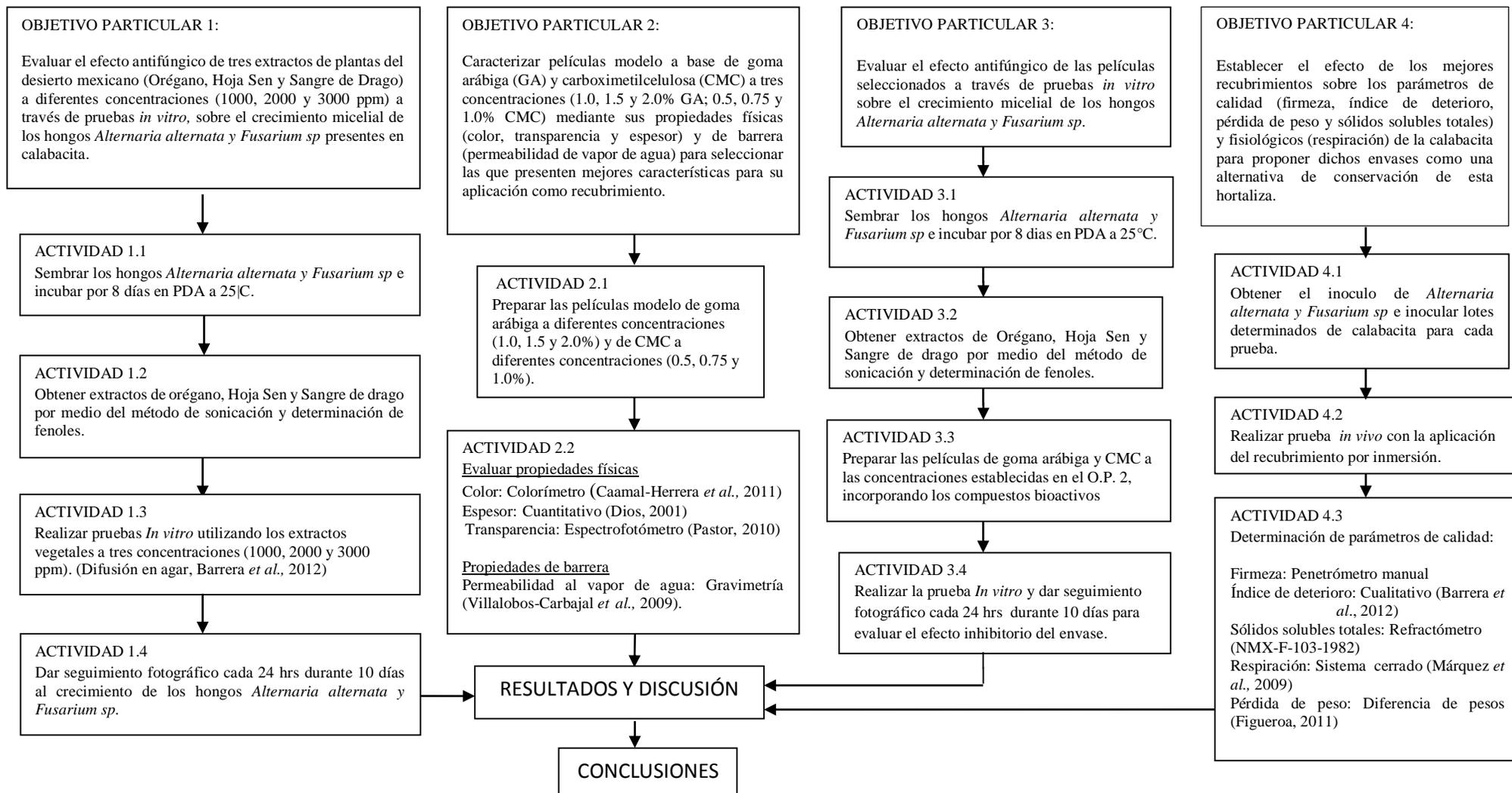


4.1 Cuadro Metodológico

[Escriba aquí]

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antifúngica de recubrimientos a base de goma arábica y carboximetilcelulosa adicionados con compuestos bioactivos de extractos de plantas del desierto mexicano (Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago) para controlar la pudrición causada por *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* en calabacita y prolongar su vida útil.





4.2 Material biológico

Para las pruebas *in vitro* se utilizaron plantas del desierto mexicano: Orégano (*Lippia graveolens*), Hoja Sen (*Flourensia cernua*) y Sangre de Drago (*Jaropha dioica*) se adquirieron en Saltillo, Coahuila y fueron almacenadas en el laboratorio de poscosecha a temperatura ambiente hasta su utilización.

Para las pruebas *in vivo* se sometieron a evaluación calabacitas (Figura 10) adquiridas en la central de abastos de la Ciudad de México; primero se seleccionaron las que presentaron mejores condiciones físicas, después se lavaron y desinfectaron, luego se inició su tratamiento.



Figura 10. Calabacitas como material biológico.

4.3. Obtención del extracto vegetal

En los tres casos de las plantas del desierto mexicano, se realizó una extracción sólido-líquido con los siguientes pasos: pulverización en un molino (marca KRUBS) y tamizado en tamiz malla 40 serie Tyler, posterior se realizó una mezcla en relación 1:5 (10 g de planta pulverizada en 50 mL de disolvente etanólico al 70%) en un matraz Erlenmeyer y sometidas a la extracción por ultrasonido en un sonicador (marca Cole Parmer 8891) durante 90 minutos (dejando un reposo del equipo por 15 min en cada lapso de 30 min).

Una vez transcurridos los 90 minutos, se filtró el contenido del matraz Erlenmeyer a temperatura ambiente ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) y, se aforó a 50 mL de extracto final con etanol al 70% y se procedió al cálculo para determinar fenoles totales de acuerdo a la técnica descrita en el apartado 4.9.1.



4.4. Pruebas *in-vitro* del extracto vegetal

4.4.1. Crecimiento del hongo *Alternaria alternata* y *Fusarium sp*

Previo a las pruebas *in-vitro*, se realizó una siembra en agar papa dextrosa (PDA) de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* previamente identificados macroscópica y microscópicamente (Figura 11). Los hongos se incuban a 25°C durante 10 días.

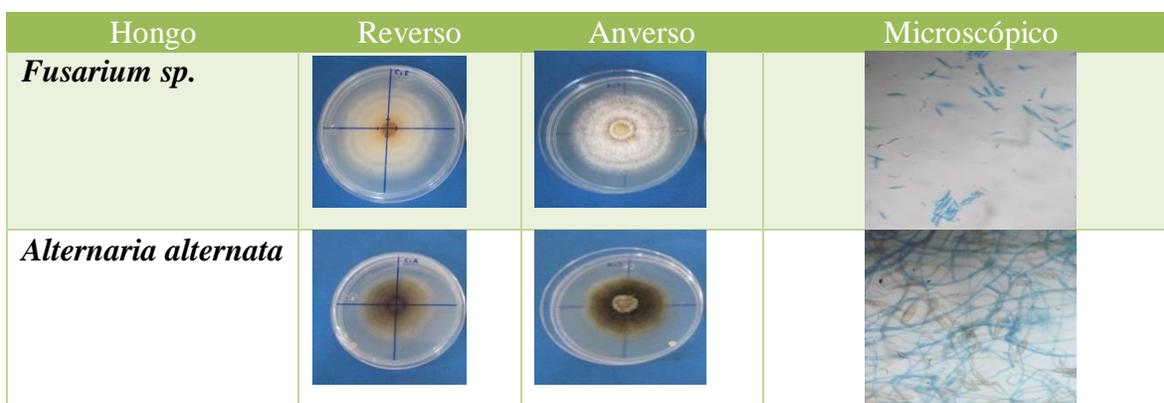


Figura 11. Imagen macroscópica y microscópica de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.*

Para evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos, se utilizó el método de difusión en agar escrito por Grover y Moore (1962) con algunas modificaciones.

Las evaluaciones se realizaron en cajas Petri estériles de 8 cm de diámetro, a las cuales se le adicionaron 20 mL del medio de agar PDA previamente esterilizado en un autoclave; antes del vaciado en las cajas, se adicionó en cada una por triplicado, las cantidades de cada extracto necesario para alcanzar las concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.

Después que el medio gelificó a temperatura ambiente, se colocó al centro de cada caja un explante del cultivo de los hongos a evaluar con ayuda de un sacabocados estéril de 1 cm de diámetro. Adicionalmente se realizaron los respectivos controles de *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* Las cajas se incubaron durante 10 días a 25°C y se midió el diámetro de crecimiento micelial cada 24 horas.



4.5 Elaboración de recubrimientos

Para la elaboración de los recubrimientos se utilizaron carboximetilcelulosa (CMC) y goma arábica como matriz, las cuales fueron empleadas a diferentes concentraciones (Tabla 12).

Tabla 12. Formulación del recubrimiento.

Formulaciones	Componentes (%)		
	Goma	Glicerol	Tween 80
	Arábica		
1	1		
2	1.5	0.6	0.4
3	2		
	CMC		
4	0.50		
5	0.75	0.6	0.4
6	1.00		

En la preparación de la matriz de goma arábica y de carboximetilcelulosa (CMC) se utilizó agua destilada, la cual se llevó a $T=60^{\circ}\text{C}$ en agitación permanente sobre parrilla por 30 minutos. Una vez hidratada la matriz, se agregaron los aditivos; glicerol a 0.6% como plastificante y tween 80 a 0.4% como surfactante. Estas dispersiones se dejaron reposar hasta que llegaron a T° ambiente y poder adicionar los μL necesarios de los tres extractos en cada matriz para generar una concentración de 3000 ppm.

Las 6 formulaciones obtenidas se vaciaron (30 mL) en cada plato de plástico con diámetro de 15 cm para dejar reposar a T° ambiente por 48 horas sobre una mesa nivelada y una vez secos proceder a la evaluación de sus propiedades.



4.6. Caracterización de películas modelo

La caracterización de las películas modelo tanto las elaboradas con goma arábica como con CMC, se realizó con la medición de sus propiedades físicas (color, espesor y transparencia) y de barrera (permeabilidad al vapor de agua) según la metodología en el apartado 4.9 que describe las técnicas analíticas.

4.7. Pruebas *in vitro* de películas

Para realizar las pruebas *in vitro* de las películas, se procedió de la misma forma que en el apartado 4.4.1 con la modificación en cuanto a la incorporación del recubrimiento en el agar previamente esterilizado. Se realizaron pruebas con proporciones de recubrimiento comestible 20 mL del recubrimiento y 40 mL de medio agar para el llenado de 3 réplicas.

Al momento de vaciar, se mezclaron hasta quedar homogéneos e inmediato agregar los μL necesarios de cada extracto para generar las 3000 ppm. Esta mezcla final se dejó solidificar para colocarle al centro el explante de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* con crecimiento de 10 días (Figura 12). Incluyendo a los controles que no contenían extractos.

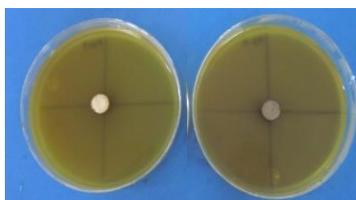


Figura 12. Recubrimiento con extracto de Hoja Sen, prueba para *Fusarium* (izquierda) y *Alternaria* (derecha).

Finalmente se procedió a incubar a 24°C durante 10 días, donde cada 24 horas se midió en cm, el crecimiento de los hongos en el medio adicionado con extracto



4.8. Pruebas *in vivo* en calabacita

4.8.1. Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo se requirieron varias cajas petri de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* con 10 días de crecimiento previa a 25°C en agar papa dextrosa. A dichas cajas se adicionaron 5 mL de tween a 0.5% esterilizado para facilitar el raspado de las esporas de cada hongo con ayuda de un bisturí y obtener un filtrado con gasas estériles que dieron lugar al inóculo.

Al obtener el inóculo se realizó el conteo de esporas en una cámara de Neubauer que es un instrumento utilizado en cultivo celular para realizar conteo de células en un medio de cultivo líquido. Consta de dos placas de vidrio, entre las cuales se puede alojar un volumen conocido de líquido. Una de las placas posee una grilla de dimensiones conocidas y que es visible al microscopio óptico.

Para contar las células de un cultivo líquido, se agregó una gota de este entre estas dos placas y se observó al microscopio óptico la cantidad de células presentes en un campo determinado de la grilla.

Con base en la cantidad de células contadas, conociendo el volumen de líquido que admite el campo de la grilla, se calculó la concentración de células por unidad de volumen de la solución de medio de cultivo inicial, donde se observaron para el caso de *Alternaria alternata* 385×10^5 esporas/mL y para *Fusarium sp.* 5×10^4 esporas/mL (Alvarado *et al.*, 2011).

4.8.2 Inoculación en la calabacita

La metodología de inoculación se realizó después de asegurar que el material vegetal seleccionado y lavado fuera desinfectado con una solución de cloro al 2% durante 1 min y secado con aire forzado durante 20 minutos.



Materiales y Métodos

Una vez obtenido el inóculo de cada hongo en cuestión, se procedió en los siguientes grupos: 3 lotes de 15 cada uno para verter 5 μ L sobre el pedúnculo de las calabacitas; control infectado (CI), control infectado recubierto (CIR) y control infectado recubierto con extracto (CIRE).

Los lotes fueron almacenados en una incubadora a 25°C durante 12 horas para después aplicar el recubrimiento.

4.8.3. Aplicación del recubrimiento en calabacita inoculada

La metodología de aplicación (Figura 13) del envase activo con efecto antifúngico se realizó con la matriz de CMC a 0.5% y el extracto de Hoja Sen a 3000 ppm por el método de inmersión durante 3 min y un tiempo de secado de 40 min con corriente de aire forzado.

Después de asegurar el completo secado del recubrimiento en las calabacitas, éstas se almacenaron por lotes en charolas de plástico sin tapar en una cámara de refrigeración a 14°C durante 12 días para realizarles los análisis respectivos y determinar la eficacia antifúngica del envase activo.

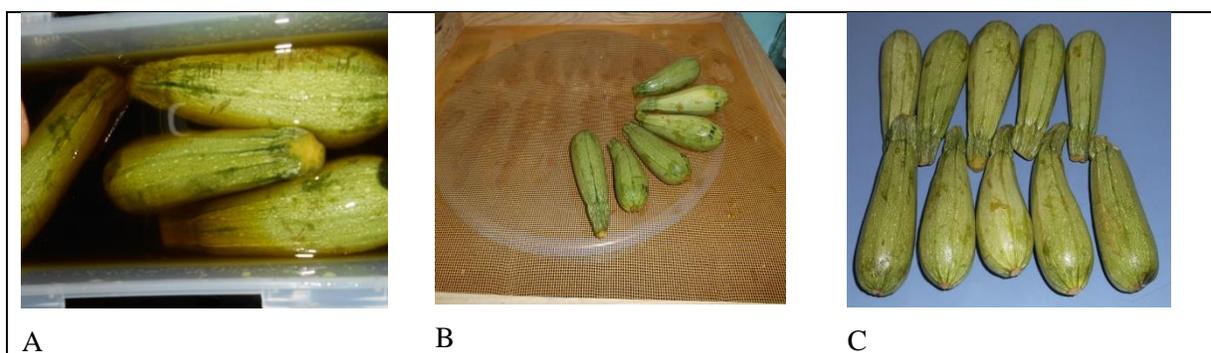


Figura 13. Metodología de aplicación del envase activo. A (inmersión en el recubrimiento), B (secado de las calabacitas) y C (lote con envase activo para almacenar).



4.9. Técnicas analíticas

4.9.1 Cuantificación de fenoles totales en los extractos

Para cuantificar los fenoles totales en cada extracto, se empleó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu reportado por Paladino (2008). El cual infiere que los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin- Ciocal-teu, el cual contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce por oxidación de los fenoles presentes, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}), de color azul, siendo proporcional la intensidad del color con el grupo de hidroxilos en la molécula y poseen una absorción máxima de luz a 765 nm. La intensidad de la absorción de luz a esa longitud de onda, es proporcional a los compuestos fenólicos (Gutiérrez-Avella *et al.*, 2008).

La técnica emplea el ácido gálico como compuesto de referencia para elaborar la curva de calibración. La cual se preparó en tubos de ensaye con agitación de 1 min y reposo de 30 min. Después de realizar la curva patrón, se sustituyen los volúmenes de ácido gálico y agua destilada por 200 μ L de cada extracto.

Los resultados obtenidos se expresaron en mg de Ac. gálico/mL de extracto. A partir de éste cálculo se determinó el volumen necesario en μ L de cada extracto para obtener tres concentraciones (1000, 2000 y 3000 ppm).

4.9.2. Determinación de propiedades físicas en las películas

- **Color**

Esta determinación se realizó según la metodología reportada por Caamal *et al.* (2011) en la que se realizaron cortes de cuadrícula en las películas de medidas 2x2 cm para tomar las lecturas sobre cada cuadro con un colorímetro (Minolta CR-300) (Figura 14), que utiliza una fuente de luz e iluminar la muestra a medir. La luz reflejada fuera del objeto pasa a través de



unos filtros de vidrio rojo, verde y azul para simular las funciones del observador para un iluminante en particular. Estas señales se muestran con valores L, a y b (Moreno *et al.*, 2006).

A partir de los datos en cada letra se calculó la luminosidad, la intensidad de color y el tono:

Luminosidad = valor directo de L

Intensidad de color (croma) = $\sqrt{a^2 + b^2}$

Tono de color (Hue) = $\arctan b/a$



Figura 14. Colorímetro

- **Espesor**

La determinación del espesor de las películas se realizó con un micrómetro (Mitutoyo IP65) conformado por un cuerpo en forma de herradura en el que uno de los extremos tiene un tope y en el otro una pantalla digital que sostiene la tuerca fija; el extremo del tornillo tiene forma de varilla cilíndrica y forma el tope móvil, su cabeza está unida al tambor con la pantalla digital. Al hacer girar el tambor, el tornillo se enrosca o desenrosca en la tuerca fija y el tambor avanza o retrocede junto con el tope (Dios, 2001).

Dicha técnica fue realizada según Alfonso (2011) quien realizó la determinación de espesor tomando diez datos de cada película por triplicado, colocando el recuadro de película entre los topes del micrómetro y registrar la medición en la pantalla. Los resultados se expresaron en mm.



- **Transparencia**

Los métodos electroscópicos se basan en la capacidad de las sustancias de absorber o emitir radiación electromagnética. El aparato detecta la cantidad de luz transmitida o absorbida a través de la solución en la celda y la compara con la que se transmite o absorbe a través de una solución de referencia denominada “blanco”. La lectura en la escala ya está convertida en absorbancia (Pastor, 2010).

En ésta técnica se seleccionó una longitud de onda de 600 nm. En cada caso de película obtenida se cortaron con un bisturí rectángulos de aproximadamente 0.5 x 2 cm y se colocaron dentro de las celdas, anteponiendo a la primer lectura una celda vacía como blanco. La siguiente ecuación representa el cálculo para la medición de la transparencia cuyos resultados se reportaron en nm/mm.

Transparencia = A_{600} / espesor de la película [nm / mm]

4.9.3. Determinación de propiedades de barrera en las películas

- **Permeabilidad a vapor de agua**

La técnica para determinar la permeabilidad de vapor de agua se basa en dos mecanismos: difusión y adsorción; el mecanismo para el flujo de vapor de agua o gas por la película o cubierta, es por medio de una difusión activa en la que se incluye la solubilización del gas en la película. El segundo paso del proceso depende del tamaño, forma y polaridad del penetrante, así como la cristalinidad, enlaces y movimiento de las cadenas poliméricas correspondientes a las matrices de las películas comestibles (Villalobos-Carbajal *et al.*, (2009).

La permeabilidad de vapor de agua se realizó por el método estándar modificado de E 96-95 utilizado por Arévalo *et al.* (2010) con ligeras modificaciones. Las muestras fueron cortadas en círculos, colocadas sobre cajas Petri abiertas, las cuales contenían cloruro de calcio (Ca_2Cl) para generar una humedad relativa de 0%. Las cajas se sellaron de manera hermética con las películas elaboradas y posteriormente pesadas (peso inicial); después fueron introducidas dentro de una cámara controlada con humedad interna del 100%.



La pérdida de peso se fue registrando cada 2 horas durante 24 horas, los resultados se expresaron en g/m s Pa.

La siguiente ecuación se aplicó a los datos obtenidos:

$$WPV = (WVTR * X) / (P3 - P2) \quad \text{ec. 1}$$

$$P2 = P - (P - p1) \left(\frac{R * T * \Delta Z * WVTR}{P * D} \right) \quad \text{ec. 2}$$

Donde;

WVTR = pendiente de la regresión lineal de la tasa de transmisión de vapor

X = espesor de la película (m)

P3 = presión de vapor de agua dentro de la cámara (KPa)

P1 = presión parcial de vapor de agua en la superficie del desecante dentro de la celda ($p1=0$)

T = temperatura absoluta durante la prueba

R = constante universal de los gases ($m^3 * KPa / g * K$)

D = coeficiente de difusividad del vapor de agua en el aire ($m^2 / día$)

ΔZ = espacio entre la solución y la película

4.9.4. Determinación de parámetros de calidad de calabacita

- **Pérdida de peso**

Esta medición se llevó a cabo por diferencia de pesos, se registró el peso inicial de 5 calabacitas en cada lote menos su peso al final del experimento (12 días). El resultado se expresó en % de pérdida de peso.



- **Índice de decaimiento**

En la evaluación de índice de decaimiento se llevó a cabo un registro por grado de daño causado por los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* Sobre las calabacitas utilizando una escala (Tabla 13). Los resultados se reflejaron gráficamente utilizando la ecuación:

$$\text{Índice de decaimiento} = (\# \text{ frutos} * \text{nivel de daño}) / \# \text{ frutos totales}$$

Tabla 13. Escala de índice de decaimiento.

Grado de daño	Equivalencia
1	Fruto sin daño
2	Daño ligero
3	Daño moderado
4	Daño severo

- **Sólidos solubles**

Los sólidos solubles se determinaron con un refractómetro en el cual sólo parte de la luz incidente en el prisma de medición es transmitida (aquella que sólo lo hace menor al ángulo crítico), debido a esto se produce una división neta del campo en dos zonas, una clara y una oscura (Dios, 2001).

La medición de sólidos soluble se realizó colocando una gota de jugo extraído de cada calabacita al ser perforada, la cual se colocó directamente sobre la pantalla del refractómetro y se leyó el resultado, éste se expresó en °Brix.

- **Firmeza**

Para evaluar la firmeza que presentaron las calabacitas en el transcurso de 12 días de almacenamiento se tomó una pieza de cada lote y sobre la mesa de trabajo se realizó una perforación sobre el fruto con un penetrómetro manual el cual mide la firmeza expresada en (Kg/cm²).



- **Respiración**

La tasa respiratoria de las calabacitas se evaluó en función a la producción de CO₂ que reportaron 5 piezas de cada lote contenidas en frascos de vidrio y selladas herméticamente durante 1 hora a temperatura ambiente.

Transcurrida la hora se tomó la lectura del % CO₂ con el analizador de gases, el cual está equipado con una bomba de vacío que arrastra los gases a través de una manguera insertada en el tubo del contenedor de la muestra y de ahí al analizador de gases, donde una muestra de gas pasa al interior del analizador; una emisión de luz infrarroja es proyectada a través de la muestra de gas. Diferentes partículas en el gas, evitan que ciertas porciones de la luz emitida, puedan alcanzar el receptor opuesto al emisor. Los sensores determinan la cantidad de luz remanente y producen una alimentación para el procesador; el procesador determina la cantidad de los gases presentes en la muestra (CO₂ y etileno), el cuarto gas (oxígeno) es medido por un sensor independiente (Restrepo y Aristizabal, 2010).

Los resultados se expresaron en mg CO₂/Kg h.

4.10. Análisis estadístico

Todas las pruebas se realizaron por triplicado y los resultados fueron sometidos al análisis estadístico de varianza (ANOVA) para el que se realizó un diseño completamente al azar.

Dicho análisis se realizó por medio del paquete estadístico SPSS y con los datos obtenidos se realizó una comparación de rango múltiple (Tukey).



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Pruebas *in vitro* de los extractos vegetales

Las pruebas *in vitro* son una réplica de las características del alimento evaluado, con respecto a sus nutrientes que tiene como objetivo observar y cuantificar el crecimiento del microorganismo bajo condiciones óptimas para su desarrollo (Barrera *et al.*, 2012).

Estas pruebas también se aplican en el área farmacéutica, tal es el caso de la preparación que realizaron León y Santiago (2007) de películas de quitosano-alcohol polivinílico por radiación gamma, embebidas en extractos acuoso, hidroalcohólico y alcohólico de Sangre de Drago, encontrándose actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y que son aplicables sobre heridas. En el área de alimentos Michel-Aceves *et al.* (2012) identificaron y aislaron agentes causantes de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill para evaluar la capacidad antagónica *in vitro*. Es así que en el presente trabajo dicha prueba se realizó utilizando la técnica microbiológica de difusión en agar, en la cual se adicionaron los extractos etanólicos para cuantificar el porcentaje de inhibición de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.*

En la Figura 15 se muestra el porcentaje de inhibición de *Alternaria alternata* el cual tuvo una tendencia a disminuir en el transcurso de 10 días en las concentraciones de 1000 ppm que fueron evaluadas y en los controles, sin embargo hubo una inhibición con los tres extractos haciéndose más evidente en el medio con extracto de Sangre de Drago y Hoja Sen respecto al control, ya que la inhibición fue del 100% durante los 10 días con dichos extractos a 3000 ppm. A diferencia del efecto que hubo con el extracto de Orégano a la misma concentración de 3000 ppm, el cual al día 6 comenzó a disminuir su inhibición al 97% llegando al día 10 con 87% de inhibición.

En concentración de 3000 ppm con el extracto de Sangre de Drago y Hoja Sen, la inhibición fue 86.5% mayor respecto al control, mientras que en Sangre de Drago a 2000 ppm fue 83.8% mayor respecto al control.

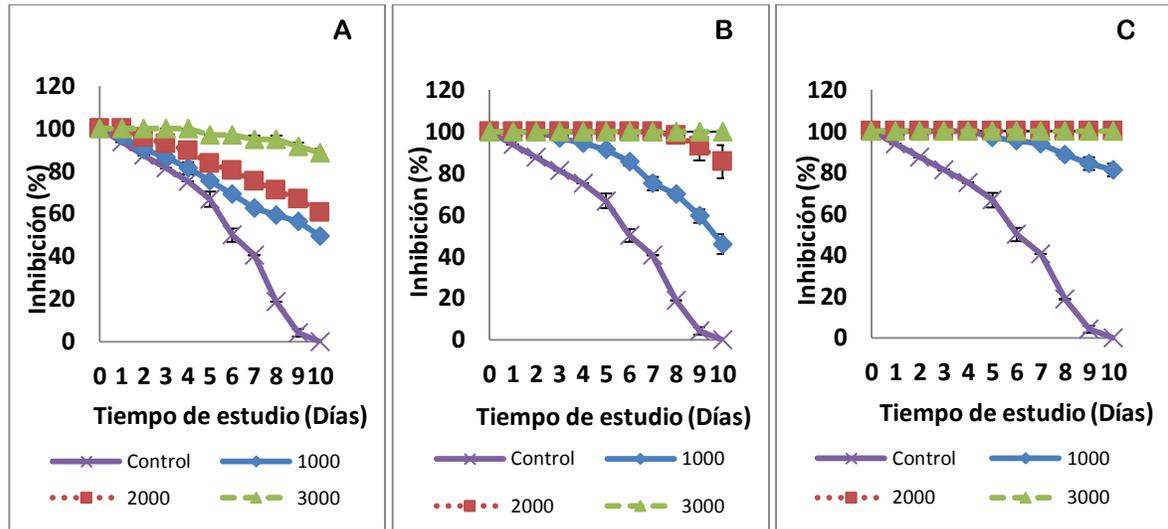


Figura 15. Porcentaje de inhibición de *Alternaria alternata* por el efecto de extractos de Orégano (A), Hoja Sen (B) y Sangre de Drago (C) a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.

El extracto de Orégano a 1000 ppm al final de la prueba fue 10% mayor que Hoja Sen pero 31% menor que Sangre de Drago a la misma concentración al inhibir el crecimiento del hongo. Sin embargo la diferencia se marca más en la concentración a 2000 ppm donde el extracto de Orégano es 22% menor que Hoja Sen y 35% menor que Sangre de Drago y en cuanto a la concentración de 3000 ppm el extracto de Orégano es sólo 12.5% menor que los otros dos.

El mecanismo de acción de los extractos se asocia con la capacidad de interactuar con el citoplasma del patógeno y su medio de acción parece estar estrechamente relacionado con la solubilidad de cada compuesto, es por ello que la adición de extracto de Orégano puede ser una alternativa eficaz para la inhibición del crecimiento del hongo *Alternaria alternata* a partir de concentraciones mayores a 3000 ppm, mientras que Hoja Sen puede aplicarse para resultados efectivos a partir de concentraciones de 2000 ppm y finalmente la aplicación de Sangre de Drago resulta eficaz desde concentraciones de 1000 ppm.



Resultados y discusión

En función al análisis estadístico, la adición del extracto de Orégano tuvo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al control a partir del día 2 en las tres concentraciones hasta el final del experimento. Para el caso de Hoja Sen hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 4 en concentración de 2000 y a 3000 ppm la diferencia se reflejó al día 9, siendo que dicho extracto presentó mayor inhibición frente a *Alternaria alternata* con respecto a Orégano. Mientras que en el caso del extracto de Sangre de Drago, la diferencia significativa ($p \leq 0.05$) se observó hasta el día 6 en concentraciones de 2000 y 3000 ppm, lo que representa la mayor inhibición respecto a Hoja Sen y Orégano.

Por lo tanto se concluye que al utilizar extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago se presentó actividad antifúngica sobre el hongo *Alternaria alternata*, haciéndose más evidente conforme aumentaba la concentración y siendo el más efectivo Sangre de Drago, lo que pudo deberse a los compuestos bioactivos que contiene como resveratrol, ácido tartárico y naringinol, cuyo efecto biológico en éste caso es el antifúngico. Dichos flavonoides pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas transportadoras de hormonas y ADN; quelar iones metálicos transitorios como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos positivos en pruebas *in-vitro* sobre el control de bacterias y hongos (Martínez-Flores *et al.*, 2002).

El efecto inhibitorio de los extractos se visualiza con las imágenes del seguimiento fotográfico (Tabla 14) donde el control presentó crecimiento micelial de blanco a grisáceo y al centro café claro y negro con textura aterciopelada en el transcurso de 10 días, donde al día 4 se observó el cambio de color por el envés de la caja petri, debido a la maduración del hongo hasta llegar al color negro característico del hongo maduro. El medio agar con extracto de Orégano tomó un color café, haciéndose más intenso conforme aumentaba la concentración, lo cual no impidió la apreciación del crecimiento del hongo, observándose el efecto inhibitorio conforme aumentaba su concentración.



Resultados y discusión

Las pruebas in vitro por el método de adición del extracto en el medio de cultivo presentó color verde claro haciéndose más intenso conforme aumentó la concentración de Hoja Sen, en donde la inhibición del hongo se observó a una concentración de 2000 y 3000 ppm quedándose con escaso crecimiento micelial color grisáceo y poco esponjoso. La coloración que aportó Sangre de Drago fue café rojiza y el color del hongo permaneció grisáceo con escaso crecimiento micelial de color blanco alrededor del biodisco durante los 10 días de experimentación.



Tabla 14. Apariencia visual de pruebas *In vitro* del hongo *Alternaria alternata*.

Muestra		Días					
		0	2	4	6	8	10
Control	ppm						
Orégano	1000						
	2000						
	3000						
Hoja Sen	1000						
	2000						
	3000						
Sangre Drago	1000						
	2000						
	3000						



El crecimiento micelial del hongo *Fusarium sp.* presentó tendencia decreciente conforme aumentó la concentración de los extractos, la aplicación del extracto de Orégano (Figura 16 A) provocó un 25% de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium sp.* a 1000 ppm aumentando sólo 10% a 2000 ppm a diferencia del 80% de inhibición que presentó a 3000 ppm, respecto al control al día 10.

El extracto de Hoja Sen a 1000 ppm el menos efectivo (Figura 16 B) ya que presentó 15% menos inhibición respecto al control; a 2000 ppm inhibe 25% al día 10 pero a 3000 ppm el 100% durante los 10 días. Mientras que, para el caso de Sangre de Drago el efecto inhibitorio fue mayor en las tres concentraciones respecto al control (Figura 16 C); a 1000 ppm inhibió 55%, mientras que a 2000 y 3000 ppm un 65 y 100% al día 10.

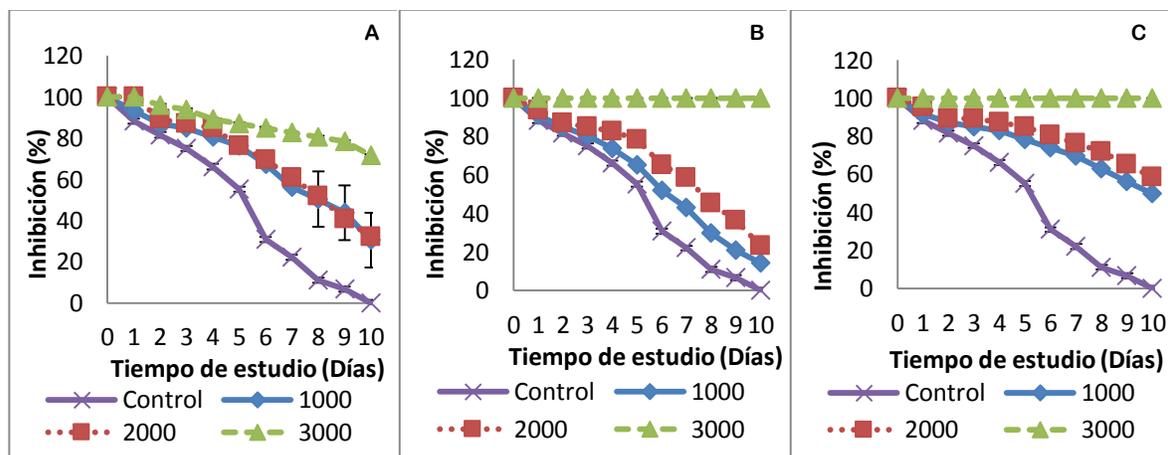


Figura 16. Porcentaje de inhibición de *Fusarium sp.* por el efecto de extractos de Orégano (A), Hoja Sen (B) y Sangre de Drago (C) a concentraciones de 1000, 2000 y 3000 ppm.

El extracto de Sangre de Drago a 1000 ppm inhibió 25% más que Orégano a la misma concentración y 40% más que Hoja Sen a 1000 ppm. De igual manera se observó 30% mayor inhibición a 2000 ppm respecto a Orégano y 40% más que Hoja Sen a la misma concentración al día 10.

En función al análisis estadístico, hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los tres extractos a partir del primer día respecto al control, manteniendo a su vez diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en concentración de 3000 ppm en los tres extractos durante la experimentación.



Resultados y discusión

Por lo que se puede concluir que el extracto más efectivo en la inhibición del hongo *Fusarium sp.* fue Sangre de Drago, esto se puede deber a que la planta contiene 8 mg equivalentes de catequina/ g de planta seca, según lo reportado por Aguilar (2010), siendo la catequina uno de los flavonoides que presenta actividad antifúngica, además de contener algunos fitoquímicos obtenidos de las fracciones hexánicas de la planta las cuales poseen también un efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*. Además Pieters *et al.*, (1993) han reportado que Sangre de Drago contiene derivados polifenólicos: abundantes derivados gálicos y catequicos, diterpenoides tipo clerodano: korberinas A y B y *b*-sistosterol. Estos compuestos son responsables de la actividad antifúngica en cada extracto.

En la Tabla 15 se presenta el seguimiento fotográfico del efecto que tuvieron los extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago en las diferentes concentraciones analizadas, teniendo un control en el cual se observó una esporulación muy rápida a partir del día 6 de micelio blanco que al paso de la maduración de *Fusarium sp.* se tornó color crema con tonalidades salmón o rosadas del centro hacia fuera de apariencia algodonosa, que son característica de este hongo.

En la adición del extracto de Orégano se observó tonalidad amarillo claro ya que el color del extracto en el medio agar se tornó café claro, aumentando un poco su tono al aumento de la concentración, sin embargo el crecimiento del hongo se observó con el micelio blanco algodonoso que en concentración de 1000 ppm tuvo crecimiento expansivo al día 10.

Sin embargo, en la concentración más alta (3000 ppm) el crecimiento del hongo aumentó a partir del día 6, observándose poco crecimiento micelial color blanco y poco algodonoso.

El la adición del extracto de Hoja Sen presentó una coloración verde claro sin afectar el color del hongo, mientras que a mayor concentración de extracto se inhibió el crecimiento micelial de *Fusarium*, a 3000 ppm éste fue nulo, no se observó desarrollo del hongo.

Quedando así el efecto que tuvo el extracto de Sangre de Drago como el más eficiente al inhibir desde 1000 ppm el crecimiento de *Fusarium sp.*, medio en el cual se observó crecimiento de poco micelio amarillento sin apariencia algodonosa, esto pudo deberse al efecto antifúngico que incluso demostró a bajas concentraciones.



Tabla 15. Apariencia visual de pruebas *in-vitro* del hongo *Fusarium*

Muestra		Días					
	ppm	0	2	4	6	8	10
Control							
	1000						
Orégano	2000						
	3000						
	1000						
Hoja Sen	2000						
	3000						
	1000						
Sangre Drago	2000						
	3000						



5.2. Caracterización de películas

5.2.1. Efecto de los parámetros físicos en películas con matriz de goma arábica.

- **Color**

La luminosidad es la capacidad de reflejar la luz desde el blanco hasta el negro (Mandujano, 1993). Es así que al comparar las películas con matriz de GA respecto al control (películas sin extracto) en cada concentración de goma, se observa (Figura 17 A) que las películas con extracto de Sangre de Drago fueron las que presentaron mayor luminosidad con valores cercanos a los del control.

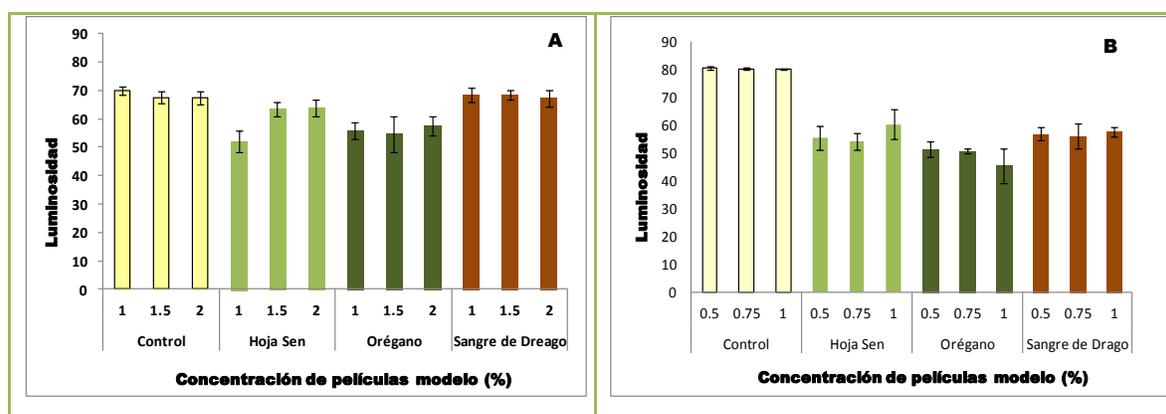


Figura 17. Luminosidad de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y con carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B), adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las películas con extracto de Hoja Sen también presentaron luminosidad alta aunque sólo en las concentraciones de 1.5 y 2.0%, teniendo sólo 8 y 5.5% menos luminosidad respecto a Sangre de Drago, en dichas concentraciones, respectivamente. Mientras que, la luminosidad en las películas con extracto de Orégano fue más baja respecto al control y a las demás películas; con un 25% menos luminosidad a concentración de 1%; y un 19 y 15% menos a 1.5 y 2.0%, respectivamente.

Con respecto a la matriz con CMC (Figura 17B) se puede observar que la diferencia de la luminosidad en el control fue muy marcada con respecto a las demás películas, siendo los valores muy similares entre sí para cada concentración, sin embargo en las concentraciones de 0.5 y 0.75% las películas con mayor luminosidad fueron las elaboradas con extracto de



Resultados y discusión

Sangre de Drago, mientras que a concentración de 1.0% presentó mayor luminosidad la de Hoja Sen.

Por lo tanto, la película que presentó mayor luminosidad fue la elaborada con extracto de Sangre de Drago al 1.0% de concentración de matriz de GA, ya que presentó sólo 2% menos luminosidad respecto al control, mientras que, la película con matriz de CMC a 1.0%, la que presentó mayor luminosidad fue la elaborada con Hoja Sen. Teniendo que, estadísticamente las películas elaboradas con extracto de Sangre de Drago y Hoja Sen fueron similares al no presentar diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la luminosidad pero sí con respecto al control y Orégano, mientras que la concentración de las películas no generó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre la luminosidad de éstas. Esto quiere decir que el color que aportaron los extractos generó un cambio en la luminosidad de las películas y que la concentración de éstas no afectó dicho parámetro.

- Tono

Es el ángulo de Hue y representa la tonalidad de la muestra, donde Hue 0= rojo-púrpura, 90 = amarillo, 180 = azul-verde y 270 = azul. Por lo tanto todas las películas presentaron tonos rojizos-púrpura, teniendo que para el control tuvieron valores entre 46 y 58 al tratarse de matriz de goma arábica (Figura 18 A) y con valores de 58 a 64 para la matriz de CMC (Figura 18 B).

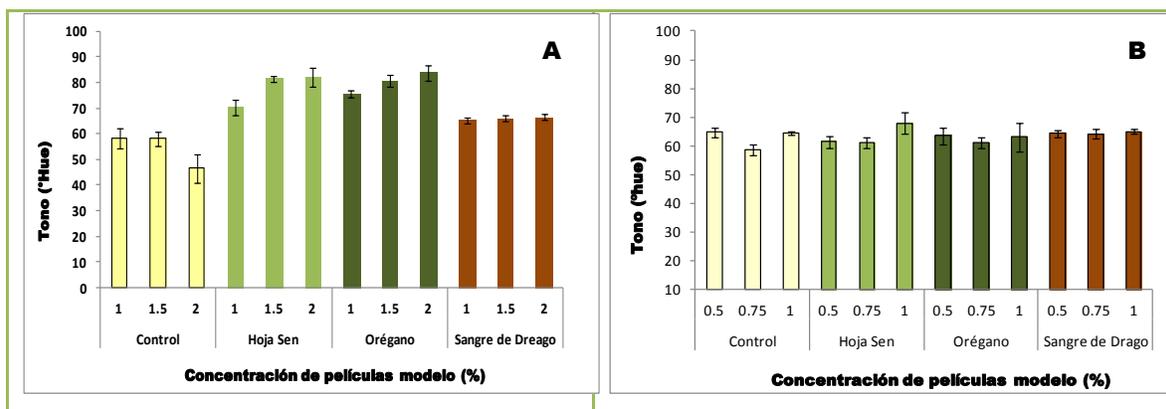


Figura 18. Tono de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



En las películas elaboradas con matriz de GA se observó que Sangre de Drago mantuvo los valores de tono similar entre las tres concentraciones, no así para Orégano y Hoja Sen, los cuales tuvieron valores entre 70 y 83, estos valores representan 30% en promedio, mayor tonalidad que los controles, lo que significa que las películas con extracto de Orégano y Hoja Sen tienden a ser más amarillos que rojos. Esto se puede deber a la diferencia de compuestos en cada planta como los flavonoides que se relacionan al color de las plantas como los flavonoles, flavonas y antocianinas que al estar presentes de manera natural aportan la pigmentación que permanece aún en la concentración que se utilizó (3000 ppm) dándole a la película un tono distinto a las control.

Respecto a las películas elaboradas con CMC los valores promedio oscilan entre 61 y 68 °Hue, lo que representa sólo 6% mayor tonalidad respecto a los controles, el comportamiento de este parámetro en las películas con CMC se mantuvo con un nivel bajo de variación, siendo la película a 1.0% de CMC adicionada con extracto de Hoja Sen la que presentó mayor tonalidad.

Es así que estadísticamente para las películas con matriz CMC, al variar el extracto, el control y las películas adicionadas con Orégano, fueron similares, en cuanto a las adicionadas con extracto de Hoja Sen, éstas presentaron similitud con Orégano, Sangre de Drago y el control, siendo Sangre de Drago la que presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al control y a Orégano. A diferencia de las películas con matriz de GA que sí tuvieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por extracto adicionado y por concentración de matriz empleada.

- Croma:

El croma indica la saturación o intensidad del color. En la Figura 19 se observa que las películas control presentaron baja intensidad de color con valores entre 7 y 10, lo que representa 30% menor con respecto al valor mayor y menor de las películas adicionadas con extractos.

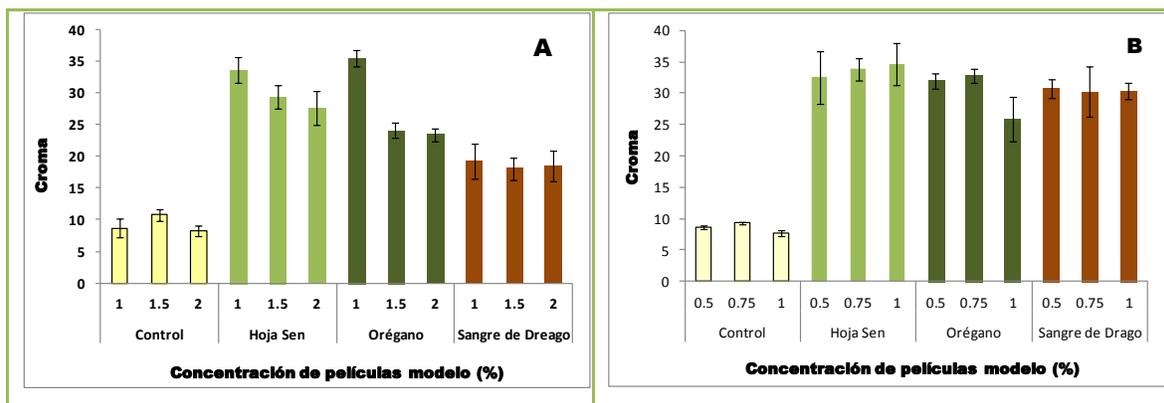


Figura 19. Croma de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las películas con matriz GA adicionadas con extractos (Figura 19 A) tuvieron comportamiento decreciente al aumentar la concentración a excepción de Sangre de Drago que mantuvo un croma de 18 y 19. A diferencia del comportamiento con matriz CMC con extractos (Figura 19 B) donde los valores de croma oscilaron entre 25 y 35.

Las películas de GA con extracto de Hoja Sen (Figura 19 A) presentaron 29% en promedio, mayor saturación respecto al control, mientras que las elaboradas con Orégano difieren 50% a concentración de 1.5 y 2%, pero 66% en la concentración de 1.0% del polisacárido respecto a los controles respectivos por concentración. Y para las películas con extracto de Sangre de Drago la diferencia fue de 48% mayor en promedio respecto al control.

Con la matriz CMC, la película con menor croma fue la adicionada con Orégano a 1.0% que tuvo valor promedio de 25, seguida de las adicionadas con Sangre de Drago en las tres concentraciones con valores de 30. Mientras que, las adicionadas con extracto de Hoja Sen no difieren mucho presentando valores entre 32.5 y 35, siendo éstas últimas las que presentaron una diferencia de 74% mayor croma que los controles respectivos a cada concentración.



La adición de los diferentes extractos presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) al utilizar GA como matriz al igual que al emplear CMC con excepción de no encontrar diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las películas con extracto de Orégano y Sangre de Drago con ésta última matriz, esto pudo ser porque el color de los extractos de dichas plantas son similares en cuanto a saturación o intensidad a diferencia del extracto de Hoja Sen que es más claro. Sin embargo, los cambios de color durante la maduración de la mayoría de los frutos son producto principalmente de la clorofila y de la síntesis de pigmentos tales como carotenoides y antocianinas (Figuroa *et al.*, 2011).

En cuanto a los resultados por concentración de GA presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) las de 1.5% respecto al control y no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con dicha matriz a 1.0 y 2.0%. Sin embargo al utilizar CMC como matriz, sólo hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las concentraciones de 0.5 y 0.75% con respecto al control y a la concentración más alta.

- **Espesor**

La determinación del espesor está vinculada con otros parámetros como la permeabilidad al vapor de agua. Algunos autores atribuyen el efecto del espesor a cambios en la estructura de la película ocasionados por el hinchamiento que provoca el agua en el polímero.

Las películas con matriz de GA (Figura 20 A) presentaron espesor promedio de 0.08 mm a concentración de 1.0%, incrementando 7% las elaboradas con 1.5% y las de mayor espesor (0.1 mm) fueron las de concentración 2.0%, siendo éstas las más gruesas con una diferencia de 11% más que la película con Hoja Sen a la misma concentración, igual de gruesa que la que contiene extracto de Orégano y sólo 7% más que la adicionada con extracto de Sangre de Drago.

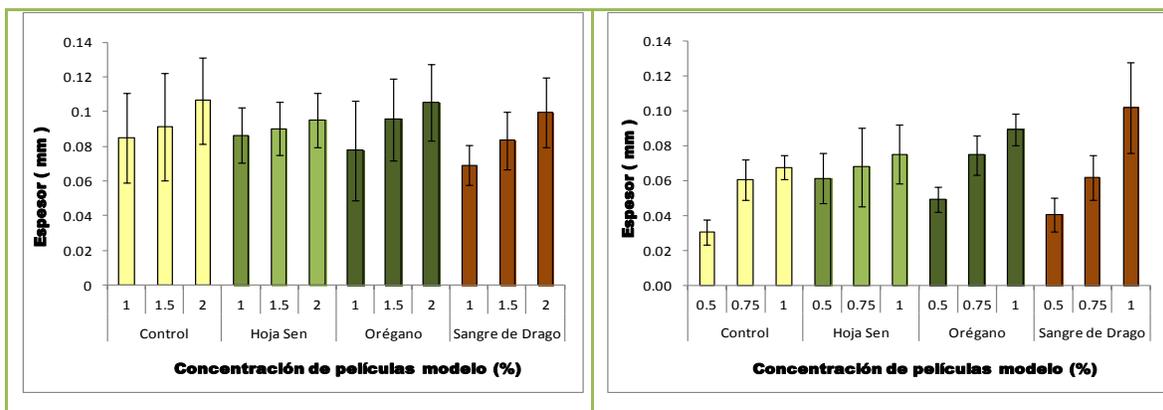


Figura 20. Espesor de las películas modelo con matriz de goma arábica en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

En las concentraciones de 1.0 y 1.5% de GA adicionadas con extracto de Hoja Sen, existe una diferencia mínima de 1.5% mayor en su espesor respecto a sus controles. En el caso de las películas adicionadas con extracto de Orégano y Sangre de Drago, el espesor incrementó alrededor de 10% en proporción al incremento de la concentración.

Respecto al espesor que presentaron las películas elaboradas con CMC, los valores fueron menores que los de GA ya que se utilizaron concentraciones más bajas. Teniendo que en la concentración más baja (0.5%) de CMC el espesor promedio fue de 0.03 mm, a concentración más alta (1.0%) el espesor promedio fue de 0.07 mm, siendo éste 55% más grueso respecto a concentración más baja y sólo 7% más gruesa que a 0.75% de CMC.

Las películas elaboradas con extracto de Hoja Sen mantuvieron una relación proporcional de 10% en el incremento de espesor al aumentar la concentración y los valores de espesor para éstas fueron muy similares respecto al control a excepción de la concentración más baja que fue 50% mayor respecto al control. Mientras que para las películas con extracto de Orégano y Sangre de Drago el incremento en el espesor tuvo mayor diferencia a medida que aumentaba la concentración; en el caso de las películas con extracto de Orégano presentaron



Resultados y discusión

una diferencia de 40% más gruesas las de concentración mayor respecto a la menor y en las películas con extracto de Sangre de Drago la diferencia fue 60% más gruesas las de 1.0% de CMC que las de 0.5%.

Al formar películas, haciendo dispersión de sus componentes, se esperaría que fueran delgadas, debido a que las partículas pequeñas tienen mayor superficie de contacto y por tanto forman películas finas. Se debe probablemente a la formación de enlaces intramoleculares entre el polisacárido y el extracto (Espino-Díaz *et al.*, 2010).

Al utilizar matriz de CMC, el espesor presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por concentración, mientras que las adicionadas con Hoja Sen y Sangre de Drago no presentaron diferencia significativa entre sí ($p \geq 0.05$) y ambas fueron similares tanto al control como a las adicionadas con extracto de Orégano.

En las películas con matriz de GA, el espesor presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) al adicionar extracto de Sangre de Drago con respecto al control y a las demás películas; sin embargo permanece muy similar respecto a las adicionadas con Hoja Sen y éste a su vez es similar al control y a las adicionadas con Orégano. En cuanto al cambio de concentración hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las elaboradas con 1.0% de GA respecto al control y a las de concentración 2.0%, siendo ésta similar respecto a la concentración de 1.5%.

- **Transparencia**

La transparencia es un parámetro a medir en películas comestibles, el cual se refiere a la facilidad que presenta la película para dejar pasar la luz. Las películas que presentaron mayor transparencia fueron las que no modifican las características propias del alimento al que se aplica.

En la Figura 21 se muestran los resultados de este parámetro, en el que las películas control con matriz de GA (Figura 21A) presentaron mayor transparencia al ir aumentando la concentración con valores de 2.45, 3.54 y 4.5 Abs/mm a concentración de 1.0, 1.5 y 2.0% respectivamente, por el contrario, en las películas control con matriz CMC (Figura 21B) la transparencia disminuye al aumentar la concentración con valores de 3.9 Abs/mm a 0.5% de CMC siendo éste 47% más transparente que a 0.75% y 50% más transparente que a 1.0% .

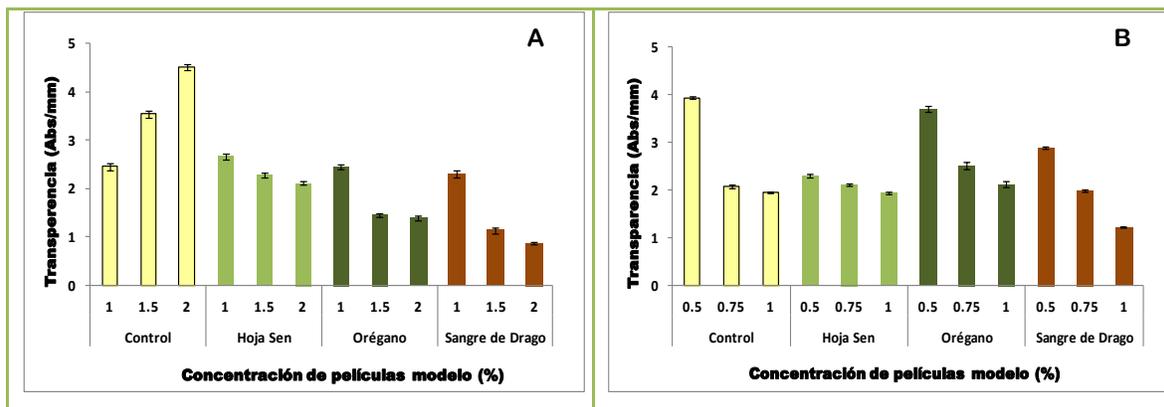


Figura 21. Transparencia de las películas modelo con matriz de goma arábiga en concentraciones de 1.0, 1.5 y 2.0% (A) y carboximetilcelulosa (CMC) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% (B) adicionadas con extractos de Hoja Sen, Orégano y Sangre de Drago a 3000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Al adicionar con los diferentes extractos las películas, éstas presentaron un comportamiento similar en ambos casos de matriz utilizada, siendo que al adicionar extracto de Hoja Sen, la relación inversamente proporcional de la transparencia respecto a la concentración presentó una diferencia de 8% de disminución de transparencia al aumento de la concentración.

En el caso de las películas con Orégano y Sangre de Drago, a concentraciones más bajas de ambas matrices, representaron 40% mayor transparencia que en concentraciones más altas. Es así que al variar la concentración de ambos polisacáridos, no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la transparencia de las películas. Pero al adicionar los extractos si hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) y sólo en el caso de las películas con extracto de Sangre de Drago tuvieron similitud respecto al control y a las adicionadas con Hoja Sen al utilizar matriz CMC.

Dichos resultados infieren que la adición de los diferentes extractos, tuvieron una emisión considerable de luz respecto a los controles que se detectó en el análisis espectrofotométrico y por el contrario al ir aumentando la concentración de los polisacáridos utilizados, la cantidad de luz es absorbida por éstos debido a que existen más sólidos en la película, lo que



los hace menos transparentes. Siendo la película con matriz CMC a 0.5% adicionada con extracto de Orégano la que presentó mayor transparencia.

- **Permeabilidad**

En la caracterización de películas comestibles es importante medir este parámetro, ya que presenta relación estrecha con el espesor y la adición de aditivos como los plastificantes y agentes antifúngicos. Se requiere de baja permeabilidad al vapor de agua (PVA) para evitar el desarrollo de microorganismos no deseados.

La Figura 22 muestra que las películas con matriz CMC a 1.0% presentaron mayor permeabilidad con valor de 3.3×10^{-8} g / msPa y resultaron 48% mayor respecto a las de concentración 0.75 y 53% mayor que a concentración más baja (0.5%).

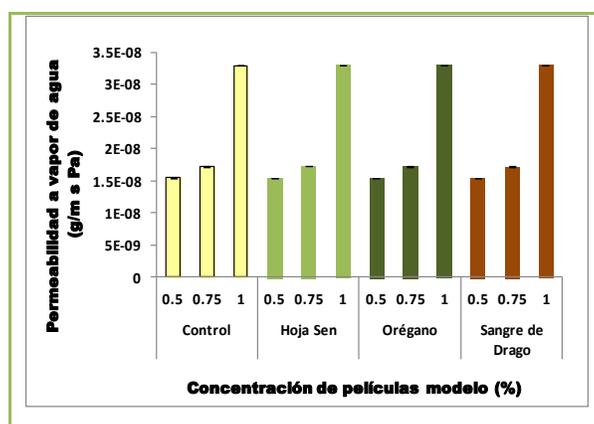


Figura 22. Permeabilidad al vapor de agua de las películas modelo con matriz CMC a concentración de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con extractos vegetales. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

La adición de los diferentes extractos no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la PVA de las películas de CMC, mientras que al variar la concentración de la matriz si hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$), esto pudo deberse a que la mayoría de los films comestibles son de naturaleza hidrofílica y se ha encontrado una relación de pendiente positiva entre la permeabilidad al vapor de agua y el espesor de las películas. Se considera que a medida que el espesor del film aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través



Resultados y discusión

de ella, en consecuencia, la presión parcial de vapor de agua de equilibrio en la superficie inferior de la películas se incrementa (Bertuzzi *et al* 2002).

Es así que la película al actuar como barrera, permite un transporte difusional facilitado que podría atribuirse a una asociación entre las moléculas de agua y los grupos funcionales polares de CMC porque dichas asociaciones provocan hinchamiento y cambios en la estructura que permiten la difusión de gases y vapores (Bertuzzi *et al* 2002).

Es también por tal motivo que no se presentaron los resultados de PVA para las películas de GA, debido a que al realizar la prueba éstas se rompieron y no resistieron más de 2 horas antes de comenzar a deshidratarse por completo, reduciendo su área de contacto y finalmente quebrándose, esto podría atribuirse a las asociaciones entre las moléculas de agua y los grupos funcionales polares de la goma arábica, por lo que a partir de los resultados en esta prueba las películas con dicha matriz fueron descartadas como una alternativa funcional como envase activo para las calabacitas.



5.3. Pruebas *in vitro* de los envases activos

Al evaluar el efecto antifúngico de los prototipos de envases activos, se descartaron las formulaciones a base de goma arábica por los resultados obtenidos en las pruebas de permeabilidad de vapor de agua; así como las adicionadas con extracto de Sangre de Drago y de Orégano como alternativa para inhibir a los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* que atacan a la calabacita, ya que Sangre de Drago presentó contaminación a pesar de haber tenido buenas propiedades antifúngicas en las pruebas *in vitro* (objetivo particular 1), puesto que al ser combinada para la elaboración de las películas presentó una rápida aparición de levaduras. Mientras que el extracto de Orégano presentó el menor porcentaje de inhibición contra los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp.* y el efecto que tuvo en los parámetros físicos fue menor respecto a los extractos de Hoja Sen y Sangre de Drago.

Por lo tanto, la evaluación del envase activo se elaboró con matriz de CMC y extracto de Hoja Sen, el cual tuvo 3 concentraciones (8, 16 y 33%) de las cuales a la concentración mayor se logró un efecto antifúngico contra *Alternaria alternata* del 75% al quinto día, siendo 26% mayor respecto al control y 18% mayor respecto a la concentración más baja (Figura 23). Al día 10 presentó 23% de inhibición, lo que equivale a 19% mayor respecto al control.

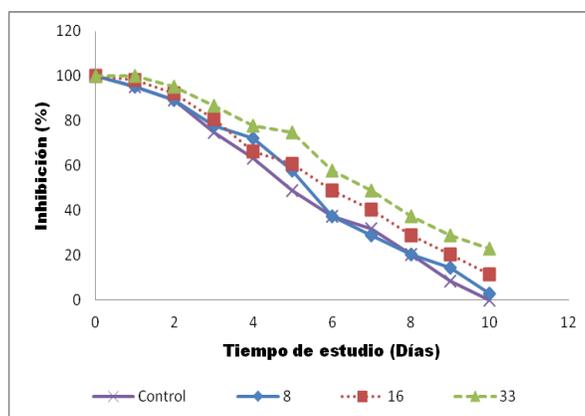


Figura 23. Porcentaje de inhibición de *Alternaria alternata* en envase activo con extracto de Hoja Sen a concentración de 8, 16 y 33 %. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



En función al análisis estadístico se presentó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del primer día en las concentraciones de 16 y 32% respecto al control y a la concentración de 8%, siendo ésta similar al control excepto en los días 3,4 5 y 9. Las concentraciones 16 y 33% permanecieron similares hasta el día 2 donde hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) siendo similar al control hasta el día 4 y similar a la concentración 5 en el día 5, mientras que la concentración 20 presentó diferencia significativa a partir del día 3.

El seguimiento fotográfico se presenta en la tabla 16 en la que se observó que el hongo que creció solamente en PDA (control) fue desarrollando un color negro a partir del gris y en el centro se cubrió de micelio blanco esponjoso conforme éste maduraba, de apariencia aterciopelada que cubrió totalmente el medio agar transparente al día 10.

Tabla 16. Efecto de los envases activos de CMC –Hoja Sen sobre *Alternaria alternata*.

		Concentración (%)						
		0	2	4	6	8	10	
Control	0							
	8							
H.S	16							
	33							

Respecto a los envases adicionados con extracto de Hoja Sen, presentaron coloración verde claro, haciéndose más intensa al aumentar la concentración de extracto y el crecimiento del hongo fue menor respecto al control, ya que en los tres casos su coloración permaneció negro con el centro blanco ligeramente esponjoso sin llegar a cubrir totalmente el área de experimento.



En cuanto al efecto que tuvo el envase activo sobre el hongo *Fusarium sp* se puede observar en la Figura 24, que la inhibición mayor la presentó en su máxima concentración (33%), ya que al día 4 tuvo 57% de inhibición, siendo 18% mayor respecto al control aunque en las otras concentraciones la inhibición fue muy similar con tan sólo 5% menos a concentración de 16% y 9% menor en concentración de 8% respecto a la de 33%

Al término de la experimentación en todos los casos llegaron con 0% de inhibición; sin embargo con la máxima concentración se tuvo que en el día 8 la inhibición llegó a ser de 5.5% para el mismo día. Por lo que se concluye que la concentración mayor de extracto en el envase activo inhibe de manera considerable el crecimiento de los hongos estudiados aunque para el caso de *Alternaria alternata* la inhibición fue mayor ya que presentó 32% mayor inhibición al día 5 respecto a *Fusarium sp*.

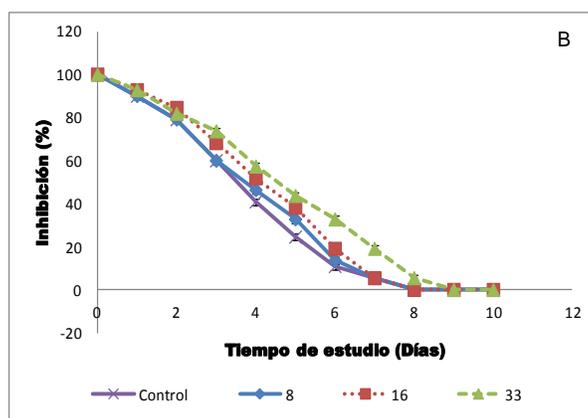


Figura 24. Porcentaje de inhibición de *Fusarium sp* en envase activo con extracto de Hoja Sen a concentración de 8,18 y 33%. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de 8% en los días 4, 5 y 6 respecto al control y a partir del segundo día la diferencia fue con respecto a 16 y 33%. Para la concentración 16% hubo diferencia significativa del día 2 al 6 con respecto al control y del día 7 al 10 no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) respecto al control y a la concentración de 8%, mientras que en la concentración de 33% hubo diferencia significativa a partir del día 2 con respecto al control y a las otras concentraciones, permaneciendo similar en el día 9 y 10 respecto a todos.



En la Tabla 17 se muestra el comportamiento durante 10 días del efecto inhibitorio que presentó el envase activo con matriz de CMC donde el efecto antifúngico que aportó el extracto de Hoja Sen en tres concentraciones, se enfatizó más en la concentración 33%, ya que a pesar de que hubo crecimiento del hongo, éste se mostró color café claro sin apariencia algodonosa a diferencia del control y de las otras concentraciones en las cuales se dio un crecimiento de *Fusarium sp* de color blanco a amarillo paja conforme pasaban los días y el hongo maduraba.

Tabla 17. Efecto de los envases activos de CMC –Hoja Sen sobre *Fusarium sp*.

Película	Concentración (%)	Día					
		0	2	4	6	8	10
Control							
H.S	8						
	16						
	33						

Los resultados obtenidos concuerdan en parte con los reportados por López-Benítez *et al.* (2005) quienes trabajaron con extractos acuosos de clavo, canela, Gobernadora y Hoja Sen a 5 y 10% de concentración para inhibir *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* y *Verticillium dahliae*, incubados por 72 horas, donde lograron inhibir 53.8 y 71.6% a *Fusarium oxysporum* a concentración de 5 y 10% respectivamente, por lo que al aumentar la concentración del extracto la inhibición fue mayor, sin embargo no así cuando extendieron a 144 horas la incubación.



5.4. Pruebas *in vivo* en las calabacitas con envases activos

5.4.1. Parámetros de calidad

♣ Pérdida de peso

El mecanismo principal de pérdida de peso o de humedad en frutos y hortalizas frescos es la difusión de vapor de agua, esto se debe a un gradiente de presión entre el interior y el exterior del fruto. Las películas sobre la superficie de los frutos actúan como barrera a la difusión de vapor de agua, lo que se traduce en menores tasas de pérdida de humedad (Figuroa *et al.*, 2011).

En la evaluación de la pérdida de peso se obtuvo que para las calabacitas que no fueron infectadas pero sí tratadas con recubrimiento (CR) y con recubrimiento+extracto (CRE), las que presentaron menor pérdida de peso fueron las CR con un 40% menos con respecto al control al día 6; mientras que las que fueron adicionadas con extracto de Hoja Sen disminuyeron un 53% (Figura 25A).

Cuando las calabacitas fueron infectadas con *Alternaria alternata* (Figura 25B) el comportamiento fue diferente al presentar una diferencia del 26% mayor pérdida de peso respecto al control para ambos tratamientos en promedio a partir del día 6.

Para las calabacitas infectadas con *Fusarium sp.* (Figura 25C), las recubiertas (CFR) presentaron mayor pérdida de peso respecto al control y al lote recubierto+extracto (CFRE), presentando éste último 11% en promedio menor pérdida de peso respecto a las recubiertas (CFR) en el transcurso de los 12 días de experimentación pero 30% mayor respecto al control.

Estadísticamente al comparar las calabacitas sin infectar y las recubiertas presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del segundo día y el lote con recubrimiento+extracto (CRE) no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) respecto al control, sino hasta el día 6.

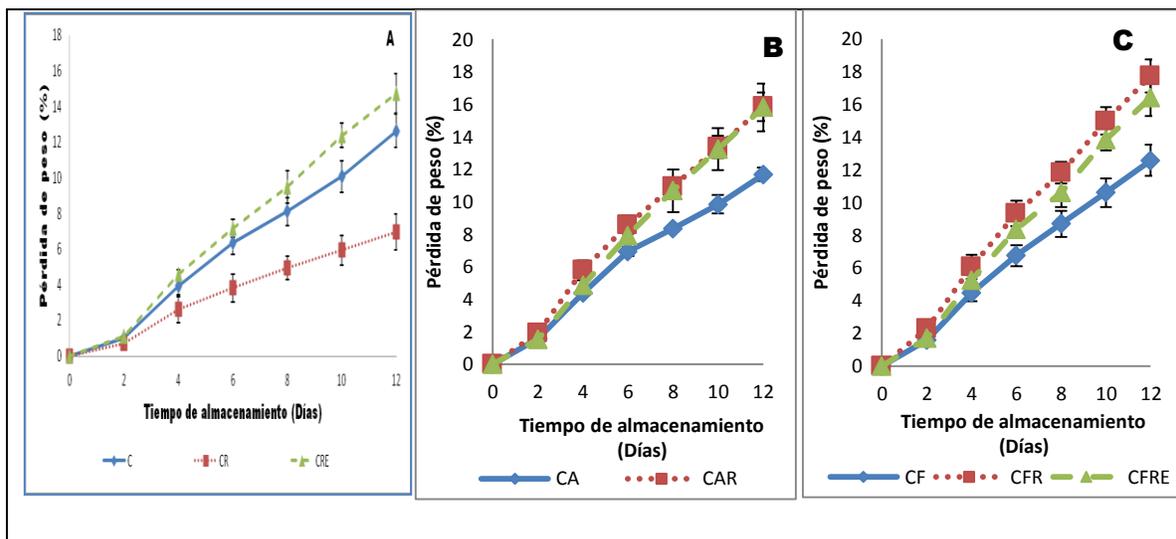


Figura 25. Porcentaje de pérdida de peso en calabacitas sin infectar (A), infectadas con *Alternaria alternata* (B) e infectadas con *Fusarium sp* (C). Donde: C=control; CR=recubrimiento CMC 1%; CRE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen; A=*Alternaria*; F=*Fusarium*. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

En el caso de los tratamientos infectados con *Alternaria alternata* tanto el control como el recubierto, presentaron diferencia significativa a partir del segundo día, mientras que para el recubrimiento+extracto a partir del día 6 no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto al recubierto, pero sí con respecto al control infectado (CA). Para los lotes tratados con *Fusarium sp.* en los tres casos hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 4 donde el lote recubrimiento+extracto fue similar al control infectado como al recubierto y del día 10 al 12 fue similar al lote recubierto, presentando en dichos días diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto al control.

En general estas diferencias enmarcan una afectación de la aplicación de los recubrimientos y en mayor medida de los recubrimientos con extractos ya que la matriz formadora carece de un complemento hidrofóbico, el cual ejercería una barrera al agua más eficaz, estos resultados concuerdan con Johnston y Banks (1998) quienes pusieron de manifiesto que los recubrimientos hidrofílicos no ejercen una barrera al vapor de agua efectiva y observaron que la aplicación de recubrimientos de carboximetilcelulosa al 2% no reducía la pérdida de peso en aguacates.



♣ Índice de decaimiento

La evaluación de este parámetro de calidad fue con objetivo de cuantificar el deterioro que causan los hongos en cuestión sobre las calabacitas por medio de un seguimiento fotográfico y de acuerdo a la escala establecida en el apartado 4.9.4.

De acuerdo a la Figura 26 A el lote de calabacitas recubiertas con CMC a 1.0% y extracto de Hoja Sen a 33% (CRE), presentó un índice de decaimiento (IQ) 69% menor respecto al control al final de la prueba (día 12), mientras que el lote sólo con recubrimiento presentó 42% menor IQ respecto al control al mismo día.

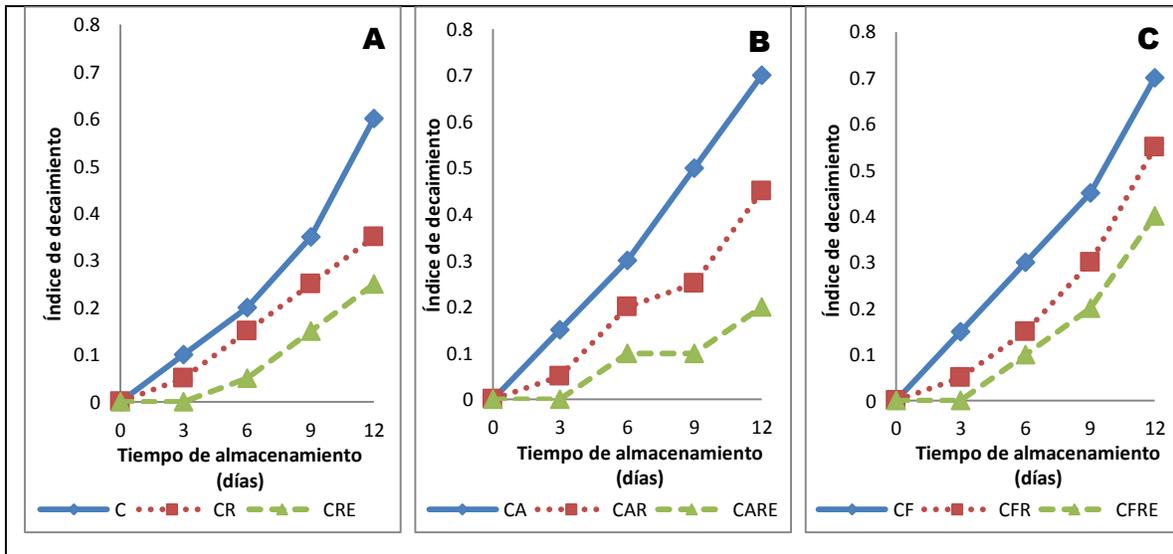


Figura 26. Índice de decaimiento en calabacitas sin infectar (A), infectadas con *Alternaria alternata* (B) e infectadas con *Fusarium* sp (C). Donde: C=control; CR=recubrimiento CMC 1%; CRE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen, A=*Alternaria*; F=*Fusarium*.

Mientras que, para los lotes tratados con *Alternaria alternata* (Figura 26 B) los que fueron recubiertos con CMC 1.0%+extracto presentaron 33% menor IQ respecto al control al día 6 y 31% mayor que el lote recubierto con. Al día 12, presentó 72% menor IQ respecto al control y 56% menor que el recubierto.

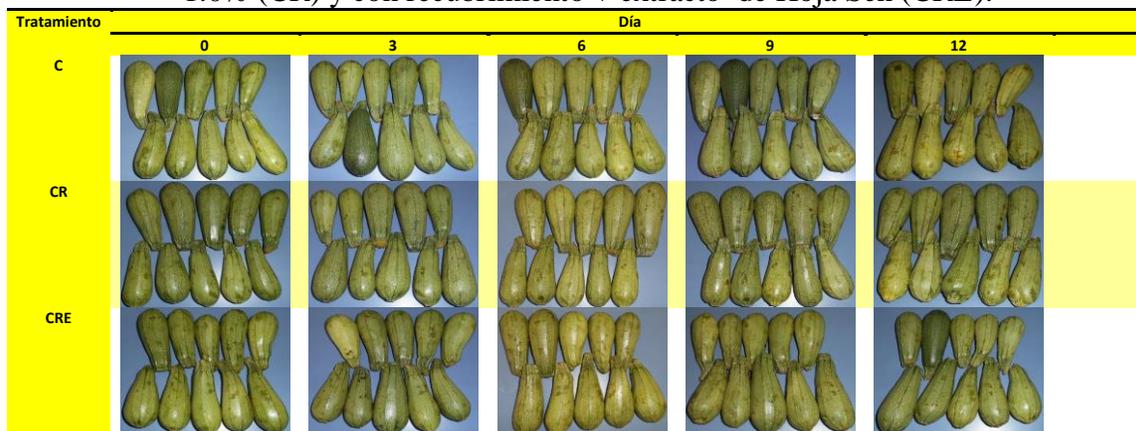


Resultados y discusión

En los lotes tratados con *Fusarium sp*, el control presentó 0.7 IQ, el recubierto 0.55 IQ y el recubierto+extracto 0.4 IQ, esto representó para el recubierto+extracto: 43% menor IQ respecto al control y 28% menor respecto al recubierto, lo que significa que el envase activo de matriz CMC adicionado con extracto de Hoja Sen tuvo un efecto antifúngico mayor que al utilizar solamente la matriz, ya que los compuestos bioactivos inhibieron el desarrollo del hongo en cuestión al presentar el menor índice de decaimiento haciéndose más evidente en los tratamientos con el hongo *Alternaria alternata*.

En función a los resultados obtenidos en dicho parámetro de calidad se presenta un seguimiento fotográfico en el que se observa el grado de deterioro de las calabacitas (Tabla 18) en la que las calabacitas control que no fueron recubiertas, presentaron mayor deterioro respecto a las recubiertas (CR) y con recubrimiento+extracto (CRE) al presentar opacidad en su color, deshidratación y algunas síntomas de enfermedad al día 12.

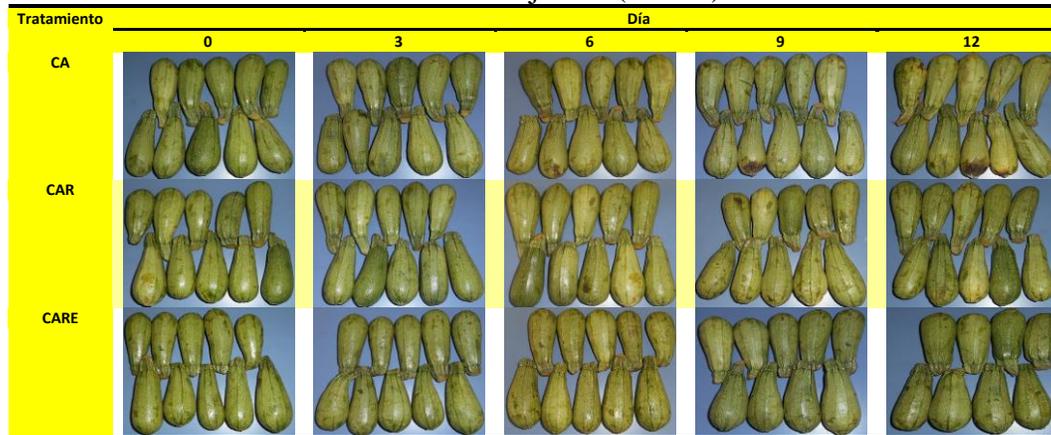
Tabla 18. Apariencia visual de calabacitas control (de campo) (C), con recubrimiento CMC 1.0% (CR) y con recubrimiento + extracto de Hoja Sen (CRE).



En la Tabla 19 se observa que transcurridos 12 días, los controles infectados presentaron los síntomas que causa el hongo *Alternaria alternata* incluso se pudo observar el micelio en algunas calabacitas que resultaron más dañadas a diferencia de las recubiertas que presentaron menor deterioro y las recubiertas con extracto aún menor, incluso el brillo que le aporta el recubrimiento les confiere una apariencia de calabacita fresca.



Tabla 19. Apariencia visual del índice de deterioro para calabacitas infectadas con *Alternaria alternata* (CA), con recubrimiento CMC 1.0% (CAR) y con recubrimiento + extracto de Hoja Sen (CARE).



El índice de deterioro registrado en las calabacitas infectadas con *Fusarium sp* se hizo más evidente ya que hubo productos con daño severo desde la mitad del almacenamiento, a diferencia de un menor deterioro que se relaciona con el color de verde y no amarillo en las calabacitas que se recubrieron y de mejores características aquellas a las que se les aplicó el envase activo liberador de un compuesto antifúngico como resultó ser el extracto de Hoja Sen.

Tabla 20. Apariencia visual del índice de deterioro para calabacitas infectadas con *Fusarium sp.* (CF), con recubrimiento CMC 1.0% (CFR) y con recubrimiento+extracto Hoja Sen 33% (CFRE).





♣ Sólidos solubles totales

Durante el proceso de maduración en frutos y hortalizas se generan cambios en la composición química, color, textura, tasa respiratoria y cambios químicos en los carbohidratos de la pared celular, que al degradarse incrementan el nivel de azúcares que contribuyen a mejorar la palatabilidad del fruto. Los sólidos solubles están formados por azúcares reductores y no reductores y por ácidos orgánicos. La cantidad de sólidos solubles se expresa en °Brix (Figuroa *et al.*, 2011).

En la Figura 27 se observa el comportamiento de la maduración tanto de los controles como de los lotes tratados con los hongos estudiados. Al iniciar la evaluación de los sólidos solubles, los controles presentaron valores de 5.2°Brix para el lote sin infectar, 6.7°Brix para el recubierto sin extracto y 6°Brix en promedio para el lote recubierto con extracto.

Al comparar las calabacitas con recubrimiento sin extracto los sólidos solubles fueron muy similares del día 3 al 6 respecto al control sin infectar y para el día 12 presentó tan sólo 7% mayor °Brix respecto al control y 10% más que las calabacitas recubiertas con extracto.

En los lotes infectados con *Alternaria alternata* (Figura 27B), el infectado con recubrimiento presentó un valor promedio de 5.7°Brix, que fue mayor respecto al control infectado como al recubierto con extracto con 28 y 13% mayor respectivamente. Mientras que para el día 6, el control presentó mayor cantidad de sólidos solubles siendo 17% mayor que el infectado recubierto y 13% mayor que el recubierto con extracto. Para el último día de almacenamiento presentaron valores de casi 7°Brix en los tres casos.

Finalmente para los lotes infectados con *Fusarium sp.* al inicio del almacenamiento presentaron valores promedio de 5°Brix en los tres casos (Figura 27C) el control infectado tuvo 18% más sólidos solubles que los recubierto con y sin extracto, permaneciendo éstos últimos con valores similares. Mientras que el lote infectado tuvo un ligero descenso del 3% a partir del día 9 y por el contrario los lotes con y sin extracto aumentaron 30% en promedio del día 3 al día 9 la cantidad de sólidos solubles.

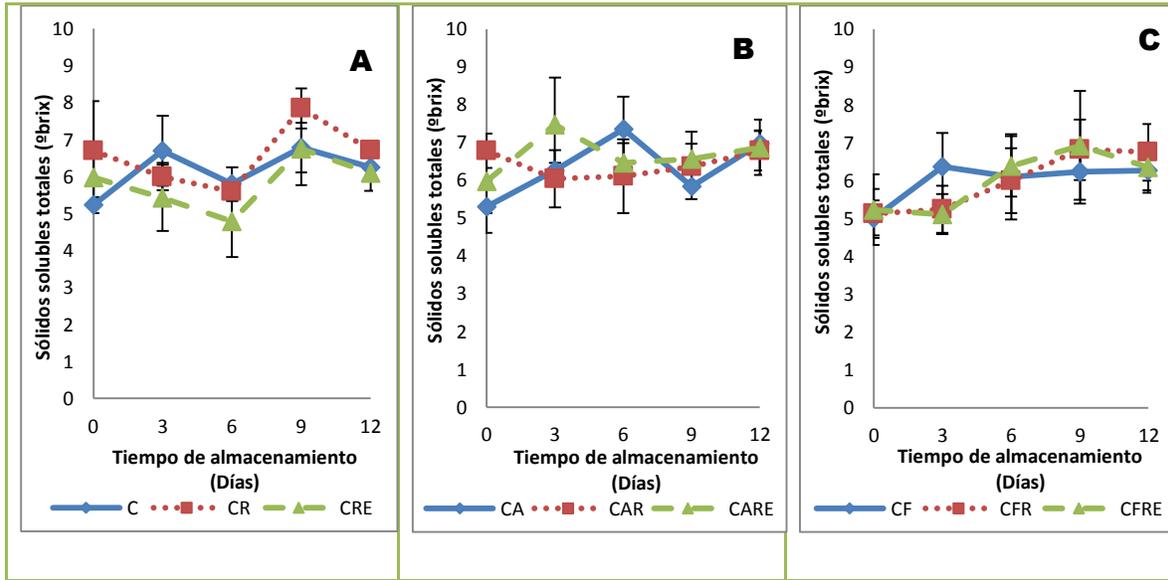


Figura 27. Sólidos solubles totales en calabacitas sin infectar (A), infectadas con *Alternaria alternata* (B) e infectadas con *Fusarium sp* (C). Donde: C=control; CR=recubrimiento CMC 1%; CRE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen; A=*Alternaria*; F=*Fusarium*. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los lotes control sin infectar a partir del día 3. En lotes infectados con *Alternaria alternata* hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) desde el inicio del almacenamiento a excepción del lote infectado recubierto con extracto que presentó semejanza con respecto al control y al recubierto sin extracto.

En el caso de los lotes infectados con *Fusarium sp*. no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) a excepción del día 3 para el control infectado y al día 9 para el infectado recubierto el cual fue similar al infectado y al recubierto con extracto.

Por lo tanto se puede decir que la aplicación del recubrimiento con extracto de Hoja Sen afectó de manera positiva al incrementar los sólidos solubles a pesar de la presencia del hongo, lo que significa que los compuestos bioactivos están inhibiendo el crecimiento del hongo en cuestión y que cuando los sólidos solubles presentan un aumento al final del almacenamiento es por la maduración propia del fruto.



♣ Firmeza

La firmeza es un parámetro que influye en la percepción de calidad y se relaciona con la hidrólisis de componentes de la pared celular, pérdida de azúcares, degradación del almidón y pérdida de turgencia que se manifiesta por el debilitamiento de las paredes celulares y posterior ablandamiento debido a la liberación de etileno y la acción enzimática (Barco, *et al.*, 2011).

En la Figura 28 A se observó un comportamiento similar constante de los tres lotes hasta el día 6. En el lote control sin infectar se mostró una pérdida de firmeza conforme al tiempo, disminuyendo 32% del día 6 al 9 y 43% del día 9 al 12. Mientras que para los recubiertos y los recubiertos+extracto, la firmeza disminuyó del día 6 al 9 60 y 70% respectivamente, en tanto que para el día 12 su firmeza aumentó 46 y 53% respectivamente, quedando inversamente proporcional al lote control sin infectar.

En el caso de las calabacitas infectadas con el hongo *Alternaria alternata* la pérdida de firmeza se mantuvo constante para el control (Figura 28 B) y las calabacitas con recubrimiento y recubrimiento+extracto presentaron un comportamiento muy similar a los controles sin infectar, presentando diferencia de 30% mayor firmeza las calabacitas infectadas recubiertas que las no infectadas recubiertas, mientras que las recubiertas con extracto presentaron 8% mayor firmeza respecto al lote sin infectar al día 12.

Las calabacitas infectadas con *Fusarium sp.* (Figura 28 C) presentaron mayor pérdida de firmeza del día 0 al 9 y recuperando 46% de firmeza del día 9 al 12. No así para los lotes infectados con recubrimiento y con extracto los cuales presentaron una firmeza constante de 2.3 Kg/cm² en promedio hasta el día 6, tiempo en el que las calabacitas infectadas y recubiertas solamente disminuyen 3% su firmeza hasta el final del almacenamiento, mientras que las infectadas recubiertas con extracto disminuyen 70% de firmeza del día 6 al 9 y vuelve a aumentar firmeza 31.5% del día 9 al 12.

Estadísticamente hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los controles desde el día 0 a excepción del día 6 donde los tres casos fueron similares y al día 9 los recubiertos y los recubiertos+extarcto fueron similares.

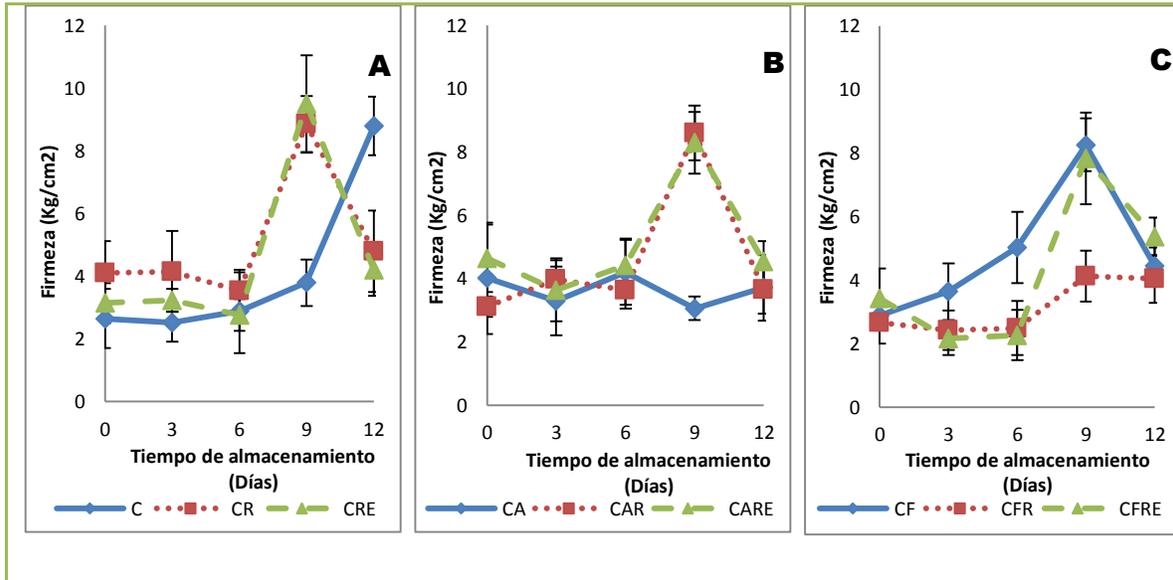


Figura 28. Firmeza de las calabacitas sin infectar (A), infectadas con *Alternaria alternata* (B) e infectadas con *Fusarium* sp (C). Donde: C=control; CR=recubrimiento CMC 1%; CRE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen; A=*Alternaria*; F=*Fusarium*. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

En las calabacitas infectadas con *Alternaria alternata* no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) a excepción del día 9 donde las recubiertas y las recubiertas+extracto fueron similares entre si y diferentes respecto al control infectado. Finalmente para las calabacitas infectadas con *Fusarium* sp hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 3 con respecto al control infectado, sin embargo hasta el día 6, las recubiertas y las recubiertas +extracto presentaron similitud y en el día 9 fueron similares.

♣ Respiración

La respiración es un proceso fisiológico que se basa en la degradación y síntesis de metabolitos en el fruto aún después de la cosecha y siguen obteniendo la energía necesaria del proceso de respiración aeróbica, requiere como sustrato principal el oxígeno el cual va disminuyendo por la barrera física que ejercen los recubrimientos comestibles, por ello se espera que su aplicación reduzca la tasa de respiración del fruto (Figuroa *et al.*, 2011).

Los resultados observados en la Figura 29 A presentaron una respiración muy similar el control y el control recubierto a lo largo de los 12 días de almacenamiento presentando valor



Resultados y discusión

promedio de 2900 mg CO₂/ Kgh al día 12 a excepción del día 2 donde las calabacitas recubiertas con extracto respiraron 26.5% más que el control. A diferencia de las calabacitas solo con recubrimiento las cuales mantuvieron los niveles de respiración 34% menor respecto al lote recubierto con extracto y respecto al control de igual manera a partir del día 4 a lo largo de los 12 días.

En las calabacitas infectadas con *Alternaria alternata* (Figura 29B) el lote con recubrimiento+extracto (CARE) inicia con 20 y 27% menor respiración respecto al control infectado (CA) y al recubierto (CAR), respectivamente. Manteniéndose del día 2 al 8 un comportamiento similar en los tres casos, incrementando 60% en promedio la tasa respiratoria y decreciendo 23% al día 10, mientras que al día 12 aumenta 36% el lote recubierto+extracto y solo 24% el control y el recubierto.

En el último caso de las calabacitas infectadas con *Fusarium sp.* (Figura 29C) el control (CF) y el recubierto (CFR) mostraron una tendencia similar entre sí y con respecto a los controles sin infectar, ya que iniciaron con 2500 mg CO₂/ Kgh en promedio y al día 12 su tasa de respiración promedio aumentó 23% para ambos casos. No así para el lote infectado recubierto (CFR) el cual presentó mayor tasa de respiración con 25% más en promedio respecto al recubierto+extracto y 26% mayor respecto al control.

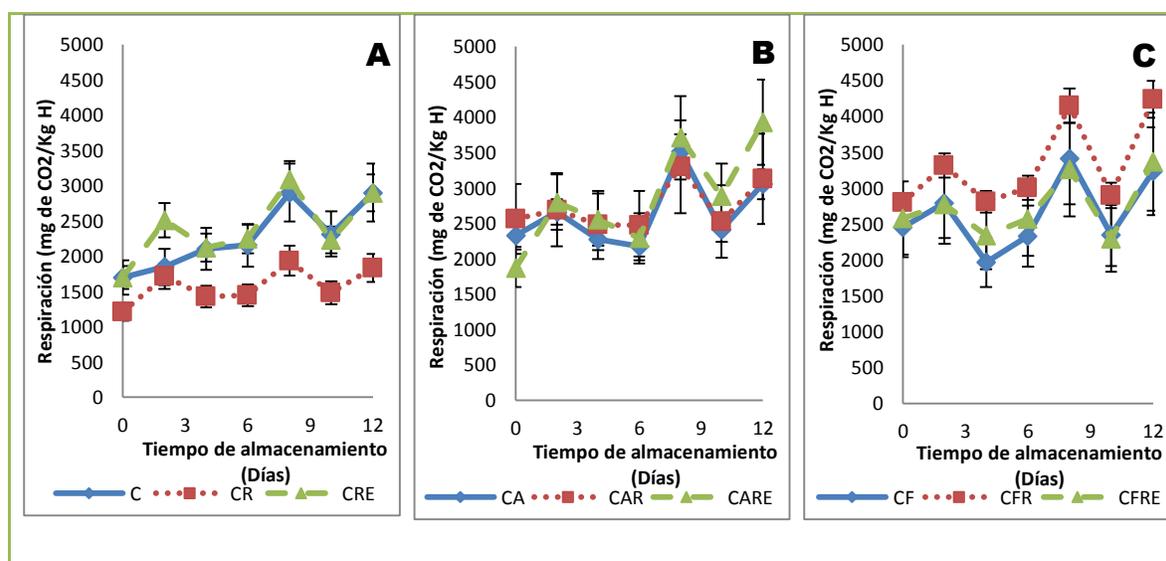


Figura 29. Respiración de las calabacitas sin infectar (A), infectadas con *Alternaria alternata* (B) e infectadas con *Fusarium sp.* (C). Donde: C=control; CR=recubrimiento CMC 1%; CRE=recubrimiento CMC 1%+extracto Hoja Sen; A=*Alternaria*; F=*Fusarium*. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Estadísticamente hubo diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el control sin infectar respecto al recubierto pero no respecto al recubierto con extracto a excepción del último día de almacenamiento donde no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en los tres casos sin infectar.

En las calabacitas infectadas con *Alternaria alternata* no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) del día 2 al 8 en ninguno de los tratamientos, pero si en los días 0 y 10 al 12, siendo las calabacitas infectadas recubiertas similares tanto al control como a las infectadas recubiertas con extracto.

Para los lotes de calabacita infectada con *Fusarium sp.* tampoco se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) a excepción de los días 4, 6 y 12 donde los lotes con recubrimiento y recubrimiento con extracto difieren del control, siendo al día 12 el recubierto+extracto similar al control y al recubierto.

Dichos resultados concuerdan con los que presentó Navarro (2007) quien reporta que los frutos recubiertos mostraron un índice de respiración similar a los controles y éstos a su vez se contraponen a los obtenidos por otros autores como Banks *et al.* (1993) y Cisneros-Zevallos y Krochta (2003) quienes observaron que los recubrimientos crean una barrera semipermeable a los gases CO_2 y O_2 y reducen la tasa de respiración de las mismas.

Es así que los resultados del presente trabajo respecto a la tasa de respiración infieren que la aplicación del envase activo no disminuyó dicho parámetro debido posiblemente a un estrés causado en las calabacitas durante la manipulación del experimento ya que los cambios de temperatura al salir de la cámara de refrigeración para realizar dicha prueba, pudieron también afectar los resultados.



6. CONCLUSIONES

En función a los resultados obtenidos a lo largo de la experimentación, se concluye que:

- ❖ La actividad fungicida con base en la inhibición del crecimiento micelial de los hongos *Alternaria alternata* y *Fusarium sp* fue confirmada en los extractos etanólicos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago, sin embargo se observó una variación en la efectividad de la inhibición. en función del extracto utilizado y las concentraciones, para el moho *Alternaria alternata* los tres extractos utilizados tuvieron 100% de inhibición en el crecimiento micelial durante los 10 días de estudio con la concentración de 3000 ppm y mostrando que en las demás concentraciones el extracto de Hoja Sen fue el de mayor poder antifúngico, seguido de Sangre de Drago y Orégano, y para el moho de *Fusarium sp* se presentó que sólo los extractos de Hoja Sen y Sangre a la concentración de 3000 ppm tuvieron 100% de inhibición en el crecimiento micelial durante el tiempo de estudio, por lo que el extracto de Orégano fue el que menos tuvo efecto inhibitorio.
- ❖ Las propiedades de las películas modelo (color, espesor, transparencia y permeabilidad a vapor de agua) fueron variadas de acuerdo a la matriz utilizada (GA y CMC), concentración evaluada, así como del extracto adicionado a cada una de ellas. En el color, las películas elaboradas independientemente de la matriz utilizada presentaron coloraciones dependientes del extracto adicionado, mientras que el espesor, transparencia y permeabilidad de las películas dependieron de la concentración utilizada, teniendo mayor espesor las películas con GA, mayor transparencia y menor permeabilidad las de CMC.
- ❖ En las pruebas *in vitro* del recubrimiento de CMC al 1% adicionado con extracto de Hoja Sen a 3000 ppm, se presentó efecto inhibitorio de los hongos estudiados, siendo a la concentración del 33% v/v de recubrimiento en medio papa dextrosa la de mayor inhibición en el crecimiento micelial.
- ❖ Esta propuesta de envase activo juega un papel muy importante como barrera a las condiciones externas de los alimentos porque pudo proveer la inclusión de los agentes antifúngicos para aumentar la calidad de la calabacita.



Conclusiones

- ❖ Al evaluar los parámetros de calidad como índice de decaimiento, firmeza, respiración, pérdida de peso y sólidos solubles, en general se observaron mejores resultados en las calabacitas con la aplicación del envase activo logrando extender su vida útil, mejorando características y propiedades de inicio.
- ❖ La aplicación de éste envase activo puede ser una alternativa en productos hortofrutícolas que tengan características similares a la calabacita. Se recomienda su uso y aplicación principalmente para productos orgánicos.



7. RECOMENDACIONES

Con el objetivo de ampliar el campo de investigación tanto de la aplicación del envase activo como del producto a evaluar, se hacen las siguientes recomendaciones:

- ♣ Aplicar el recubrimiento en otras variedades de calabacita para evaluar su efecto.
- ♣ Evaluar la sinergia de otros aditivos (surfactante y plastificante) con la matriz de CMC, ya que este polisacárido requiere de la presencia de un compuesto hidrofóbico para aportar características de resistencia en los recubrimientos. Además de que los aditivos permiten tener películas flexibles haciéndolas menos quebradizas.
- ♣ Utilizar otros extractos como de canela, clavo, gobernadora, etc. para evaluar su efecto como agentes antimicrobianos.
- ♣ Evaluar un recubrimiento sobre la misma hortaliza pero con otra matriz de formación como quitosano, goma gelana, zeína, hidroxipropilmetilcelulosa y combinación de matrices.
- ♣ Evaluar la actividad antifúngica de los extractos de Orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago sobre otros hongos como *Rhizoctinia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Botrytis*, etc.
- ♣ Aplicar el envase activo estudiado sobre la calabacita u otra hortaliza semejante mínimamente procesadas.
- ♣ Considerar un análisis microbiológico al inicio y al final de la experimentación del producto a tratar.
- ♣ Aplicar compuestos antimicrobianos extraídos de semillas de las propias frutas u hortalizas como las de semillas de jitomate.



8. REFERENCIAS

- Aguilar, C. (2010). Técnicas y tecnologías para aprovechamiento y transformación de Sangre de Drago. Universidad Autónoma de Coahuila. México.
- Alfonso, A. (2011). Caracterización de películas comestibles de quitosano y la afectación de las propiedades por aplicación de aceites esenciales. Trabajo de grado para obtener el título de especialista en Ciencia y Tecnología en Alimentos. Universidad Nacional de Colombia.
- Alvarado, H., Barrera N., Hernández L y Velázquez V. (2011). Actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. Fr.), agente causal de la pudrición blanda del tomate. Revista Colombiana de biotecnología. 13(2): 127-134.
- Andrés, R. (2012). Estudio preliminar para el desarrollo de una colección de mutantes en calabacín. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Almería, España.
- Arcilla, L., Loarca P., Lecona U y González de M. (2004). El Orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Archivos Latinoamericanos de nutrición. 54 (1): 100-111.
- Arévalo, A. (1996). Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos. Revista latinoamericana de biotecnología. 26(1): 188-202.
- Arévalo, N., Alemán H., Rojas V. y Morales R. (2010). Películas biodegradables a partir de residuos cítricos: propuesta de envases activos. Revista Latinoamericana de Biotecnología, 1(2):124-134.
- Azuola, R., Vargas P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). Tecnología en marcha. 20(4): 30-40.
- Banks, N. H., Cleland, D. J., Cameron, A. C., Beaudry, R. M., Kader, A. A. (1993). Proposal for rationalized system of units for postharvest research in gas exchange. HortScience. 30(6): 1129–1131.
- Barco, H., Burbano, D., Mosquera, S., Villada, C y Navia, P. (2011). Revista Lasallista de investigación. 8(2): 96-103.
- Barrera, B., Gil, L., García, P., Durango, R., Gil, G. (2012). Empleo de un recubrimiento con Propóleos para el manejo poscosecha de frutos de papaya. (*Carica papaya L. cv. Hawaiian*) Revista Fac. Nal. Agr. Medellín. 65 (1). 6497-6506.



Referencias

Bayer Crop Science (2013). Enfermedades de conservación del tomate. Disponible en:

<http://www.bayercropscience.es>

Consultado en: marzo de 2013.

Bernal, A., Zamora, N., Virgen, C y Nuño, R. (2005). Actividad biológica *in vitro* de extractos de *Lupinus spp.* Sobre hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de fitopatología. 23(2): 140-145.

Bertuzzi, M. A., Armada, M., Gottifredi, J. C., Aparicio, A. R y Jimenez, P. (2002). Estudio de la permeabilidad al vapor de agua de films comestibles para recubrir alimentos. Congreso Regional de Ciencia y Tecnología. Argentina.

Bullok, M. (2006). Imágenes microscópicas en fitopatología. Disponible en: <http://www.bing.com/imagenes/fusarium.selected.Index>.

Consultado en: abril de 2013.

Caamal, H., Pereira, P y Madera, S. (2011). Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta*. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 12(1): 100-109.

Camacho, M.M.; Martínez-Navarrete, N. y Chiralt, A. (2005). Rheological characterization of experimental dairy creams formulated with locust beamgum (LBG) and λ -carrageenan combinations. *International Dairy Journal*. 15: 243-248.

Carmona R, López O, González M, Muñoz A. (2006). Optimización del proceso de obtención del extracto acuoso de *C. officinalis*. Revista Cub. Plant. Med. 11: 3-4.

Carrillo, L. (2013). Los hongos de los alimentos y forrajes. Conjunto Tecnológico. Estación Experimental Agrícola. Puerto Rico

Cisneros-Zevallos, L y J. M. Krochta. (2003). Whey protein coatings for fresh fruits and relative humidity effects. *Journal of Food Science*. 68(1): 176-181.

Comisión Nacional Forestal. (2003). Sangre de Drago. Disponible en: <http://www.conafor.gob.mx>.

Consultado en: marzo de 2013.

Chien, P.J.; Sheu, F. y Yang, F.S. (2007). Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *Journal of Food Engineering*. 78: 225–229.

Costamagna, V. (2009). Modificación química de películas poliméricas utilizadas para envases de alimentos. Revista Asociación Argentina de Materiales, 6, 2:20-31.



Referencias

- Denzi, P. (2013). Hoja Sen (*Fluorensia cernua*). Disponible en: <http://www.remediosherbales.com>. Consultado en: abril de 2013.
- Dios, A.J. (2001). Métodos para medir propiedades físicas en la industria de alimentos. Acribia, España.
- Escalante, S. (2006). Desarrollo rural, regional y medio ambiente. Economía UNAM. 3(8): 70-94.
- Espino-Díaz, M., Ornelas-Paz, J., Martínez-Tellez, M., Santos, C., Barbosa, C. G., Zamudio, F., Olivas, G. (2010). Development and Characterization of edible films base don mucilage of *Opuntia ficus-indica* (L). Journal of Food Science 75(6): 347-352.
- Figuroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R y Narvaez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva al uso del propóleo en su formulación. Revista Colombiana. 3(2): 386-400.
- Financiera Rural. (2011). La producción de hortalizas en México. Dirección general Adjunta De Fomento y Promoción De Negocios. 14(2): 1-47.
- Food and Agricultural Organization (FAO) (2013). Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de zorzamora. Disponible en: <http://apps.fao.org/faostat>. Consultado en: marzo de 2013.
- Fornaris, R. (2012). Cosecha y Manejo Postcosecha. Conjunto Tecnológico para la producción de Calabaza. Estación Experimental Agrícola. Puerto Rico.
- Galiotta, G., Harte F., Molinari D., Capdevielle R., Diano W. (2005). Aumento de la vida útil poscosecha de tomate usando una película de proteína de suero de leche. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 6:117-123.
- Gamboa, A., Hernández, C., Guerrero, R., Sánchez, A y Lira, S. (2002). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* mont (de bary) con extractos vegetales metanólicos de Hoja Sen (*fluorencia sernu*a). Revista Mexicana de Fitopatología. 21(1): 13-18.
- García, M.A., Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings. Journal of Food Science 65:941-947.



Referencias

- García, M.A.; Martino, M.N. y Zaritzky, N.E. (2004). Edible starch films and coatings characterization: SEM, water vapor and gas permeabilities. *J. Scanning Microscop.* 21(5):348-355.
- Grover, R.K. y J.D. Moore. (1962). Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. *Phytopathology* 52(1): 876-880.
- Guerrero, R., Solís, G., Hernández, C., Flores, O., Sandoval, L y Jasso, C. (2007). Actividad biológica in vitro de extractos de *Fluorencia cernua* D.C en patógenos de postcosecha: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Penicillium digitatum*. *Revista mexicana de fitopatología.* 25(1): 48-53.
- Gutiérrez Avella, D.M., Ortiz García, C.A., Mendoza Cisneros, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Centro Nacional de Metrología.* 20(1): 12-19.
- Johnston, J. W., Banks, N. H. (1998). Selection of a surface coating and optimization of its concentration for use on Hass avocado (*Persea American Mill*) fruit. *N. Z. J. Crop. Hort. Sci.* 26: 141-143.
- Kader, A.A. (2002). Modified atmospheres during transport and storage. In: Kader. A.A. (Ed.), *Postharvest technology of horticultural crops.* 3rd edition. University of California, Agriculture and Natural Resources. USA. Publication 3311: 135-145.
- León, K. y Santiago J. (2007). Propiedades antimicrobianas de películas de quitosano-alcohol polivinílico embebidas en extracto de sangre de grado. *Revista de Sociedad Química. Perú.* 73(3): 158-165.
- López-Benítez, A. López-Betancourt, S y Vázquez-Badillo, M. (2005). Inhibición de crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend sp. *Lyvopersic* Snyder y Hansen, *Rhizoctinia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología.* 23(1): 183-190.
- Mandujano, B. R (1993). El papayo. *Agronomía frutícola.* Boletín técnico. México, 37 p.
- Márquez, C., Cartagena, J., Pérez, M. (2009). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.). *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.* 16(3), 304-310.



Referencias

- Martínez, B., Ayala B, Abiega G, Gálvez g, (2012). Caracterización fisicoquímica de la *Cucurbita pepo* para su aprovechamiento integral. Consultado en: Abril de 2013, Disponible en <http://revista.tukuru.com/v01n01dic2010/articulo02.pdf>.
- Martínez-Flores, S., González- Gallego, J., Culebras, J. M., Tuñón, M. J., (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*. 318(6): 271-278.
- McHung, T., y Senesi, E. (2000). Apple Wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Journal of Food Science*. 65:480-485.
- Michel-Aceves, A., Otero S. M., Martínez R. D., Ariza F. R., Barrios A.A., Robledo M. A. (2011). Control biológico *in vitro* de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum Mill.* *Avances en investigación agropecuaria*. 12(3): 55-68.
- Moreno, S., González, L., Salcedo, S., Cárdenas, Pérales, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhibición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. *Polibotánica*. 32(1), 193-205.
- Moreno, P.M., Martínez, D.T., Reyes, L.D., Peña, L.A., Pérez, A.C. (2006). Intensidad de color y contenido de antocianinas en chile guajillo (*Capsicum annum* L.). *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 12(1): 135-140.
- Murillo, M. (2008). Evaluación de propiedades fisicoquímicas y antimicrobianas de películas comestibles adicionadas con nisina y/o glucosa oxidasa. Tesis de Maestría en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. D.F. México.
- Navarro, T. (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en la calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas. Tesis doctoral por la Universidad Politécnica de Valencia. España.
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y Derivados. Determinación de grados Brix. Norma Mexicana. Dirección general de normas. México.
- Olivas, G. y Barbosa-Cánovas, G. (2009). *Edible films and coatings for fruits and vegetables*. In: Embuscado, M.E., Huber, K.C. (Eds.), *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer, New York-U.S.A., pp. 211-244.
- Paladino, S. C. (2008). Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera*). Tesis para obtener el grado de Magister en Alimentos del Posgrado regional cooperativo en alimentos. Argentina.



Referencias

- Pastor, C., Vargas, M., González-Martínez, C. (2005). Recubrimientos comestibles: Aplicación a frutas y hortalizas: Alimentación, Equipos y Tecnología. 197:130-135.
- Pastor, N.C. (2010). Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa: caracterización y aplicación. Tesis para obtener el grado de doctor en ingeniero en alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- Parzanese M. (2012). Tecnologías para la Industria Alimentaria. Películas y recubrimientos comestibles, Alimentos Argentinos, 7: 1-11.
- Patiño, R., Moreno, C., Chaparro, G. (2012). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible antimicrobial y antioxidante a partir de aceite de orégano en la calidad y vida útil de la lechuga mínimamente procesada refrigerada. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Bogotá, Colombia, 26:110-127.
- Pérez-Gago, M.B.; Serra, M.; Del Río, M.A. (2006). Color change of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*. 39:84–92.
- Pieters, L., Bruyne, T., Claeys, M y Vietinch, J. (1993). The biologically active compounds of Sangre de Drago. Tradicional South American drug. University Antwerp department farmaceutische. Germany.
- Ponce, A. G., Roura S. I., del Valle C. E., Moreira M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology* (49) 294 – 300.
- Quintero, C., Falguera, V y Muñoz, H. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. Revista Tumbaga (5): 93-118.
- Ramos, G., Bautista, B y Barrera, N. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. Revista mexicana de fitopatología. 28: 44-57.
- Restrepo, F.J y Aristizábal, T. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria xananasa* Duch cv Camarosa) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis* miller) y cera de carnúba. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica. 3(7): 252-263.



Referencias

- Roberts RG (2000). RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-spored *Alternaria* species and species groups. *Mycological Research* 104: 151-160.
- Rojas-Grau. (2006). Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: una nueva estrategia de conservación. Tesis doctoral. Universidad de Lleida. España.
- Rosa, M. (2012). Enfermedades. Conjunto Tecnológico para la producción de Calabaza. Estación Experimental Agrícola. Puerto Rico
- Rodríguez, S. (2011). Uso de agentes antimicrobianos Naturales en la conservación de frutos y hortalizas. *Ra Ximhai*. 7 (1):153-170.
- Sánchez-Domínguez. D., Bautista, B y Castillo, O. (2007). Efecto del quitosano en el desarrollo y la morfología de *Alternaria alternata* Fr Keissl. *Anales de Biología*. 29: 23-32.
- Sánchez, G., Vargas, M., González, M., Cháter, M., Chiralt, A. (2008). Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. VIII Congreso SEAE. Consultado en: abril de 2013. Disponible en: <http://www.agroecología.met/recursos/publicaciones2009/congresoscalidad3.pdf>.
- SAGARPA (2012). Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Resumen nacional de producción agrícola de zarzamora. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350. Consultado el 13 de Octubre del 2012.
- Silva-Belmares, S., Oranday, L., Rivas, M y Verde, S. (2002). Estudio químico de los componentes con actividad antimicrobiana y citotóxica de *Euphorbia pulcherrima*, *Euphorbia trigona*, *Jatropha dioica*, *Ricinus communis* y *Schinus molle*. *Congreso Nacional de Investigación Biomédica*.
- Trejo Márquez A., Ramos López K., Pérez-Guillén, C. (2007). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina sobre la calidad de fresa (*Fragaria vesca* L.) almacenada en refrigeración. V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones, Caratgena, España.
- Vargas-Martínez, MG. y Trejo M, M.A. (2013). Desarrollo de recubrimientos biorgánicos a partir de fitomoléculas de especies del semidesierto mexicano y microorganismos



Referencias

- antagonistas para alargar la vida de anaquel en frutas y hortalizas. Informe técnico de proyecto del Fondo de Innovación Tecnológica Secretaría de Economía- CONACYT.
- Ventosa, F. (2001). Empleo de coberturas a partir de polímeros naturales como método de envasado activo de hortalizas. Tesis para obtener el grado de Master en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana. Cuba.
- Villalobos-Carbajal, R., Hernández-Muñoz, P., Albors, A., Chiralt, A. (2009). Barrier and optical properties of edible hydroxypropyl methylcellulose coatings containing surfactans applied to fresh cut carrot slices. *Food hydrocolloids*. 23(1): 526-535.
- Zavala, C., Carrillo, L., Alvarado, S y Sánchez, Ch. (2010). Evaluación de la toxicidad aguda de un extracto alcohólico de hojas de Hoja Sen (*Fluorencia cernua*). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 41(3): 50-54.

