



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Extracción de aceite esencial de eucalipto y su
aplicación como agente antifúngico en un
envase activo para conservación de frambuesa”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:
VERÓNICA TREJO RAMÍREZ

ASESORA: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CO-ASESORA: M. en C. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Universidad Nacional
Autónoma de México

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

A. EN. 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 continuación usted que realiza su Trabajo de Tesis

Extracción de aceite esencial de anís y su aplicación como agente antifúngico en un envase activo para conservación de frambuesas

Que presenta la docente: Verónica Trujillo Ramírez
Con número de cuenta: 410085104 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 ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Mex. a 01 de Diciembre de 2014

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	TIRMA
PRESIDENTE	<u>Dr. Miriam Álvarez Velasco</u>	
VOCAL	<u>Dra. María Andrea Trujillo Munguez</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. Ana María Salazar de la Cruz Javier</u>	
1er. SUPLENTE	<u>QFA Luis Alberto Pura Quintero</u>	
2do. SUPLENTE	<u>M. en C. Anna Adela Lira Vargas</u>	

NOTA: Los profesores integrantes del Jurado de Exámenes se reúnen el día y hora del Examen Profesional (art. 117)

HPM/ea

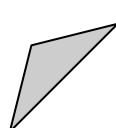
El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPPIT: **Desarrollo de envases activos para la conservación de productos frescos y mínimamente procesados (IT201513)**, de la Dirección General de Asuntos del personal Académico de la UNAM.



Dedicatoria

Con todo mi amor y cariño a las personas más importantes de mi vida, quienes hicieron todo lo posible para que pudiera concluir mi sueño, que sin importar las adversidades siempre creyeron en mí, me motivaron, estuvieron conmigo y jamás me abandonaron, infinitamente les estaré agradecida con todo mi corazón por brindarme la oportunidad de luchar por mis metas, por toda la confianza, felicidad, amor durante todos estos años, los amo:

Mami y Papi



Agradecimientos

A Dios por haberme brindado salud, una familia amorosa, comprensible, una vida llena de tan buenos amigos y por permitirme seguir aquí e ir por más cada día.

A mis padres, por todo el apoyo, confianza, amor, dedicación brindada para alcanzar mis objetivos, por nunca dejarme sola y estar ahí siempre para apoyarme pese a todas las adversidades, por siempre les estaré eternamente agradecida.

A mis hermanos, Alfonso y Josué por siempre creer en mí, animarme en los momentos difíciles, no perder la esperanza en mí, darme su amor, comprensión y cariño.

A mi mejor amiga, eli te quiero mucho, siempre estuviste a lo largo de todos estos años, por tu apoyo incondicional, no abandonarme, estar siempre en los momentos difíciles, por compartir grandes experiencias, sabes que siempre contarás con mi apoyo y estaré para cuando lo necesites.

A mis profesoras, Dra. Andrea Trejo por brindarme el apoyo y oportunidad para realizar este proyecto, por las facilidades para poder llevar a cabo la experimentación, así como la experiencia de estar en el taller, de aprender nuevas cosas, conocimientos, tiempo, diversión, convivencias, viajes, congresos y el ambiente que se tiene en el CAT no se compara con nada, gracias por todo y por ser mi asesora. A la M. en C. Selene Pascual gracias por ser mi coasesora por exigirme, por estar siempre ahí, por los consejos y disposición para que este proyecto llegara a su culminación. A la M. en C. Alma Adela Lira, por motivarme, por tus consejos, dedicación, apoyo y tiempo dedicado en este proyecto.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme formar parte de ella, brindarme todas las facilidades para terminar un sueño, una meta.

A mis sinodales, I.A Miriam Álvarez, Ana María Luis Alberto Parra Oaxaca, M. en C. Alma Adela Lira Vargas, por el tiempo dedicado a este proyecto, ya que sus comentarios hicieron mejorar esta tesis

A mis compañeros del CAT, Gaby, Saddam, Andreina, Tiare, Alejandra, Eli, Aide, Dasia, Leslie que hicieron que esos momentos de experimentación, estrés, fueran más llevaderos, tranquilos e inolvidables. También agradezco a todas y cada una de las personas que han formado parte de mí vida que directa o indirectamente, me han brindado su apoyo para la culminación de esta etapa de mi vida.

Porque la culminación de ésta etapa solo es el comienzo de cosas mejores, nuevos retos, sueños e ilusiones...

Una persona usualmente se convierte en aquello que él cree que es. Si yo sigo diciéndome a mí mismo que no puedo hacer algo, es posible que yo termine siendo incapaz de hacerlo. Por el contrario si yo tengo la creencia que si puedo hacerlo, con seguridad yo adquiriré la capacidad de realizarlo aunque no lo haya tenido al principio

- Gandhi

No es verdad que las personas paran de perseguir sueños porque se hacen viejos, se hacen viejos porque paran de perseguir sus sueños

-Gabriel García Márquez





ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE TABLAS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. ANTECEDENTES.....	8
2.1 Generalidades de la frambuesa.....	8
2.1.1 Origen.....	8
2.1.2 Morfología y taxonomía.....	9
2.1.3 Variedades de frambuesa.....	10
2.1.4 Importancia económica.....	12
2.1.4.1 Mercado internacional.....	12
2.1.4.2 Mercado nacional.....	14
2.1.5 Composición química y valor nutrimental.....	16
2.1.6 Compuestos fenólicos presentes en la frambuesa.....	18
2.1.6.1 Propiedades de los fenoles como antioxidantes.....	21
2.1.7 Plagas y enfermedades de la frambuesa.....	23
2.1.7.1 Podredumbre gris.....	25
2.1.8 Métodos de conservación de frambuesa.....	30
2.2 Generalidades de películas y recubrimientos comestibles.....	31
2.2.1 Definición.....	31
2.2.2 Importancia y funciones.....	32
2.2.3 Ventajas y desventajas de los recubrimientos comestibles.....	33
2.2.4 Principales propiedades de los recubrimientos comestibles.....	35
2.2.5 Principales componentes de los recubrimientos.....	37



Índice

2.2.5.1 Materiales y propiedades.....	37
2.2.5.1.1 Carboximetilcelulosa (CMC).....	38
2.2.5.1.2 Mucílago de nopal.....	40
2.2.5.2 Aditivos.....	42
2.2.6 Generalidades de los aceites esenciales.....	43
2.2.6.1 Definición de aceite esencial.....	44
2.2.6.2. Clasificación de los aceites esenciales.....	45
2.2.6.3 Mecanismo de acción del aceite esencial sobre microorganismos.....	46
2.2.6.4 Métodos de extracción.....	46
2.2.6.5 Eucalipto.....	48
2.2.6.5.1 Usos medicinales tradicionales.....	50
2.2.6.5.2 Composición química del aceite esencial de eucalipto.....	50
3. OBJETIVOS.....	55
3.1 Objetivo General.....	55
3.2 Objetivos Particulares.....	55
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
4.1 Material biológico.....	58
4.2 Obtención de aceite esencial.....	58
4.3 Evaluación de las propiedades antifúngicas del aceite esencial de eucalipto.....	60
4.3.1 Crecimiento del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	60
4.3.2 Pruebas <i>in vitro</i> de las propiedades antifúngicas del aceite esencial.....	61
4.4 Elaboración de películas comestibles modelo.....	62
4.5 Caracterización de las propiedades de las películas modelo.....	63
4.6 Pruebas <i>in vivo</i> en frambuesa fresca.....	63
4.6.1 Tratamiento de la muestra.....	63
4.6.2 Obtención del inóculo.....	64
4.6.3 Aplicación de los recubrimientos comestibles en las frambuesas frescas.....	65



Índice

4.7 Técnicas analíticas.....	67
4.7.1 Propiedades físicas de las películas.....	67
4.7.1.1 Determinación de color.....	67
4.7.1.2 Determinación de espesor.....	68
4.7.1.3 Determinación de transparencia.....	69
4.7.2 Parámetros de calidad de las frambuesas.....	70
4.7.2.1 Determinación de color.....	70
4.7.2.2 Determinación de pérdida de peso.....	71
4.7.2.3 Determinación del índice de decaimiento.....	71
4.7.2.4 Liberación de líquido.....	72
4.7.3 Parámetros fisicoquímicos.....	73
4.7.3.1 Determinación de sólidos solubles.....	73
4.7.3.2 Determinación de pH.....	73
4.7.3.3 Determinación de acidez titulable.....	74
4.7.4 Parámetros químicos.....	74
4.7.4.1 Determinación de antocianinas.....	74
4.7.4.2 Determinación de capacidad antioxidante.....	76
4.7.5 Parámetros sensoriales.....	77
4.8 Análisis estadístico.....	77
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	79
5.1 Evaluación del rendimiento en la extracción del aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación.....	80
5.2 Evaluación de las propiedades antifúngicas de aceite esencial de eucalipto.....	83
5.2.1 Pruebas in vitro del aceite esencial de eucalipto sobre el crecimiento micelial del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	83
5.3 Evaluación de las propiedades de las películas comestibles.....	88
5.3.1 Propiedades físicas de las películas.....	88
5.3.1.1 Determinación del color.....	88



Índice

5.3.1.2 Determinación de transparencia.....	93
5.3.1.3 Determinación de espesor.....	96
5.4 Evaluación de las pruebas <i>in vivo</i> de los recubrimientos comestibles a base de mucílago de nopal o carboximetilcelulosa adicionados con aceite esencial de eucalipto en frambuesa.....	98
5.4.1 Parámetros de calidad.....	98
5.4.1.1 Determinación de color.....	98
5.4.1.2 Determinación de pérdida de peso.....	104
5.4.1.3 Determinación de índice de decaimiento.....	108
5.4.1.4 Liberación de líquido.....	113
5.4.2 Parámetros fisicoquímicos.....	116
5.4.2.1 Determinación de sólidos solubles.....	116
5.4.2.2 Determinación de pH.....	120
5.4.2.3 Determinación de acidez titulable.....	122
5.4.3 Parámetros químicos.....	126
5.4.3.1 Determinación de antocianinas.....	126
5.4.3.2 Determinación de capacidad antioxidante.....	130
5.4.4 Determinación de parámetros sensoriales.....	133
6. Conclusiones.....	138
7. Recomendaciones.....	141
8. Referencias.....	144



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Clasificación taxonómica de la frambuesa.	9
Tabla 2.- Descripción morfológica de la frambuesa.	10
Tabla 3.- Variedades de frambuesa.....	11
Tabla 4.- Composición química por 100g de porción comestible de frambuesa.....	16
Tabla 5.- Composición nutrimental por 100g de porción comestible de frambuesa.....	17
Tabla 6.- Características de los principales compuestos fenólicos presentes en las frambuesas.....	20
Tabla 7.- Principales enfermedades en la frambuesa.....	24
Tabla 8.- Clasificación taxonómica de <i>Botrytis cinerea</i>	26
Tabla 9.- Métodos de conservación en frutillas.	31
Tabla 10.- Usos posibles de películas comestibles y recubrimientos.....	33
Tabla 11.- Ventajas y desventajas del uso de los recubrimientos comestibles.....	35
Tabla 12.- Propiedades de los recubrimientos comestibles.....	36
Tabla 13.- Materiales empleados en las películas y recubrimientos comestibles.....	38
Tabla 14.- Aditivos empleados en la formulación de películas y recubrimientos comestibles.....	42
Tabla 15.- Aceites esenciales y su componente con actividad antimicrobiana.....	45
Tabla 16.- Clasificación de los aceites esenciales.....	45
Tabla 17.- Métodos de extracción de aceites.....	47
Tabla 18.- Extractos vegetales analizados de algunas especies de plantas antifúngicas y grupos químicos encontrados.....	51
Tabla 19.- Composición del aceite esencial de eucalipto por cromatografía de gases con detector por espectrometría de masas GCMS.....	51
Tabla 20.- Aplicación de diversas formulaciones de recubrimientos comestibles.....	53
Tabla 21.- Escala subjetiva empleada para evaluar índice de decaimiento.....	72
Tabla 22.- Escala hedónica empleada para los parámetros sensoriales de frambuesas.....	77



Índice

Tabla 23.- Seguimiento fotográfico del efecto del aceite esencial de eucalipto en la inhibición del crecimiento del hongo <i>B. cinerea</i> . a diferentes concentraciones..	85
Tabla 24.- Seguimiento fotográfico de las frambuesas recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.....	111
Tabla 25.- Seguimiento fotográfico de las frambuesas recubiertas a base de mucílago de nopal a 0.5% adicionadas con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm para el parámetro de índice de decaimiento.....	112



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Imagen de un racimo de frambuesas.....	8
Figura 2.- Producción mundial de frambuesa de los principales países del año 2011 en toneladas métricas.....	13
Figura 3.- a) Principales entidades productoras de frambuesa. b) Porcentaje de producción de frambuesa en México.....	15
Figura 4.- Producción de frambuesa en México.....	16
Figura 5.- Propiedades de la frambuesa.....	18
Figura 6.- Clasificación de los polifenoles.....	19
Figura 7.- Mecanismo de acción radicales y antioxidantes.....	23
Figura 8.- Crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> en agar papa dextrosa.....	26
Figura 9.- Frambuesa contaminada con <i>Botrytis cinerea</i> en tres diferentes etapas de la enfermedad: (A) Temprana, (B) Intermedio y (C) Avanzada.....	27
Figura 10.- Morfologías de <i>B. cinerea</i> . (a) Macronidios de <i>Botrytis</i> (b) Micro conidióforos (c) Micro conidios y conidios (d) Esclerocios en fresa a bajas temperaturas.....	27
Figura 11.- Ciclo de infección de <i>Botrytis cinerea</i>	28
Figura 12.- Propiedades funcionales de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas.....	34
Figura 13.- Estructura de la carboximetilcelulosa (A). Configuración estereoquímica de una sección de CMC (B).....	39
Figura 14.- Compuestos del mucílago.....	41
Figura 15.- Árbol de eucalipto.....	50
Figura 16.- Frambuesas empleadas en la experimentación.....	58
Figura 17.- Equipo Clevenger en vidrio Pirex.....	59
Figura 18.- Diagrama de proceso para obtener el aceite esencial de eucalipto.....	60
Figura 19.- Crecimiento de <i>Botrytis cinerea</i> después de 10 días.....	61



Índice

Figura 20.- Pruebas <i>in vitro</i> . (A) Marcado para medir el crecimiento micelial del hongo. (B) Obtención de discos de <i>Botrytis cinerea</i> para las pruebas <i>in vitro</i>	62
Figura 21.- Secado de las películas comestibles a base de CMC y mucílago de nopal.....	63
Figura 22.- Frambuesas que no cumplieron con los requerimientos establecidos por la norma de CODEX.....	64
Figura 23.- (A) Solución de Tween al 0.5% y el cultivo de <i>Botrytis cinerea</i> crecido 10 días. (B) raspado de cajas de <i>Botrytis cinerea</i>	64
Figura 24.- Cámara de Neubauer vista al microscopio (40X).....	66
Figura 25.- Diagrama de aplicación de recubrimiento comestible a las frambuesa.....	66
Figura 26.- (A) Porciones cuadrículares de película de CMC (B) Micrómetro digital.....	69
Figura 27.- Vista frontal de la película de CMC en la celda.....	70
Figura 28.- Determinación de color en frambuesas con el colorímetro minolta.....	71
Figura 29.- Determinación de pérdida de peso de frambuesa.....	71
Figura 30.- Determinación de la liberación de líquido.....	72
Figura 31.- Refractómetro digital.....	73
Figura 32.- Potenciómetro manual HANNA.....	74
Figura 33.- Determinación de antocianinas.....	76
Figura 34.- Rendimiento del aceite esencial de eucalipto en las diferentes condiciones de extracción	80
Figura 35.- Porcentaje de inhibición del aceite esencial de eucalipto en pruebas <i>in vitro</i> a tres distintas concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm).....	83
Figura 36.- Luminosidad de las películas de carboximetilcelulosa (A) y mucílago de nopál (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm.....	89
Figura 37.- Tono de las películas de carboximetilcelulosa (A) y mucílago de nopal (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y esencial sin aceite de eucalipto a 2000 ppm.....	90
Figura 38.- Croma de las películas de carboximetilcelulosa (A) y mucílago de nopal (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y sin aceite	



Índice

esencial de eucalipto a 2000 ppm.....	92
Figura 39.- Transparencia de las películas de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1% con y sin adición con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm.....	94
Figura 40.- Espesor de las distintas películas de carboximetilcelulosa (A) y mucílago de nopal (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1%, adicionados con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm.....	97
Figura 41.- Cambios en el croma de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial (AE) de eucalipto almacenadas en refrigeración.....	99
Figura 42.- Cambios en el tono de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto almacenadas en refrigeración.....	101
Figura 43.- Cambios en la luminosidad de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto 2000 ppm almacenadas en refrigeración.....	103
Figura 44.- Pérdida de peso en frambuesas recubiertas (A) carboximetilcelulosa y (B) mucilago adicionado con aceite esencial de eucalipto.....	105
Figura 45.- Índice de decaimiento de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración.....	110
Figura 46.- Liberación de líquido de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración.....	114
Figura 47.- Sólidos solubles de las frambuesas recubiertas con Mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración.....	118
Figura 48.- pH obtenido de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm	



almacenadas en refrigeración.....	121
Figura 49.- Cambios de acidez titulable contenido en las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración.....	124
Figura 50.- Contenido de antocianos en las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) con y sin aceite esencial de eucalipto...	127
Figura 51.- Capacidad antioxidante de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) con y sin aceite esencial de eucalipto...	131
Figura 52.- Perfil sensorial de las frambuesas recubiertas con carboximetilcelulosa al 0.5% con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000ppm. (A) Día 0 (B) Día 15.....	134
Figura 53.- Perfil sensorial de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal al 0.5% con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000ppm. (A) Día 0 (B). Día 15.....	136

Resumen





RESUMEN

Uno de los principales problemas de la comercialización de frambuesa es su alta perecibilidad al ser una fruta muy delicada. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue la extracción del aceite esencial de eucalipto para su aplicación como agente antifúngico en un envase activo a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa para controlar la podredumbre gris y alargar la vida útil de frambuesa.

El aceite esencial de eucalipto se obtuvo por medio de hidrodestilación, previamente las hojas se secaron, molieron a dos diferentes tamaños de partícula: 0.841 y 0.420 mm, dejando un tiempo de extracción de 90, 120 y 180 minutos, con una relación de 50g Hojas: 1 L agua. Posteriormente se evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial a tres diferentes concentraciones 500, 1000 y 2000 ppm, frente al modelo biológico: *Botrytis cinerea*, mediante pruebas *in vitro*. La caracterización de las películas comestibles se realizó con base en las propiedades físicas (color, espesor y transparencia), aplicando sobre ellas la concentración con mayor poder inhibitorio de aceite esencial de eucalipto. Una vez establecida la concentración de inhibición del hongo y concentración de polisacárido, se aplicaron los recubrimientos desarrollados a frambuesas, para determinar el efecto en los parámetros de calidad (color, firmeza del fruto, pérdida de peso e índice de deterioro), fisicoquímicos (sólidos solubles, acidez titulable, pH), químicos (antocianinas y capacidad antioxidante), así como las características sensoriales de las frambuesas. Las frambuesas previamente seleccionadas, lavadas, desinfectadas y sumergidas en el recubrimiento comestibles de mucílago de nopal o carboximetilcelulosa al 0.5%, Tween 80 al 0.6% y 1% de glicerol, adicionada con aceite esencial de eucalipto, con un tiempo de aspersion de la película de 30 segundos, se colocaron en charolas de tereftalato de polietileno para su almacenamiento a 5°C y a una humedad relativa de 85% durante 15 días.

El mejor rendimiento en la extracción del aceite esencial se obtuvo del tamaño de partícula de 0.420 mm a un tiempo de extracción de 90 minutos. La concentración de aceite que tuvo



Resumen

mayor efecto inhibitorio fue la de 2000 ppm, en un 48% al décimo día de incubación del hongo, mostrando mayor potencial inhibitorio. De la caracterización de las películas comestibles, se eligió la concentración de 0.5% que fue la que presentó los valores más elevados en transparencia.

La aplicación de los recubrimientos tanto de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa a 0.5% adicionado con aceite esencial de eucalipto controlaron la pérdida de peso en un 97% en ambos recubrimientos. El comportamiento en el contenido de antocianinas fue de 30 mg/100g al inicio del muestreo, ambos tratamientos tanto el de mucílago y el de carboximetilcelulosa mostraron comportamientos similares, el tratamiento que conservó al final mejor los antocianos fue el recubierto de mucílago de nopal con aceite esencial. La capacidad antioxidante, al inicio del almacenamiento se obtuvieron concentraciones de 27-32 $\mu\text{mol eq Trolox/g}$ fruto, durante el transcurso de los días fue disminuyendo la concentración de antioxidantes en todos los tratamientos, al cabo del último día de seguimiento los tratamientos que conservaron mejor los antioxidantes de la frambuesa fueron el mucílago de nopal con y sin aceite y la frambuesa recubierta con aceite siendo un 6% mayor que la recubierta de carboximetilcelulosa de 17-14 $\mu\text{mol eq Trolox/g}$. En la evaluación sensorial los panelistas se percataron del sabor y olor del aceite esencial de eucalipto en el día 0, mientras que en el día 12 las frambuesas recubiertas se calificaron como “Buenas” y las no recubiertas como: “aceptables como límite de consumo”. Se concluye que los recubrimientos a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa con aceite esencial de eucalipto son una buena alternativa tecnológica para conservación de la frambuesa.

Introducción





1. INTRODUCCIÓN

La frambuesa (*Rubus idaeus*) es un fruto rico en vitamina A en forma de carotenos, vitamina C, que al ser ingerido tienen acción antioxidante, al igual que el ácido elágico y los flavonoides, que tienen algunas propiedades que ayudan a desintoxicar el cuerpo y prevenir enfermedades degenerativas; también es rica en ácido fólico o vitamina B9, aportando el 40% de las necesidades diarias (Gomorra, 2008). En México era prácticamente desconocida, debido a que por mucho tiempo se creyó que no se adaptaría a las necesidades climáticas del país. En estudios climáticos se observó que el país sí tiene condiciones favorables para el desarrollo de la frambuesa, además de ser este cultivo una buena fuente de trabajo rural, que tiene buenas perspectivas de exportación por su época de cosecha más temprana aquí que en la mayoría de los países exportadores (FAO, 2002).

Nuestro país como productor de frutillas, se ha convertido en los últimos 7 años en un actor relevante a nivel mundial, ya que aporta cerca del 7% de la producción mundial y especialmente en el abastecimiento del mercado de EE.UU (FAO, 2002). El cultivo de frambuesa, por su rapidez para entrar en producción (un año las productoras de otoño y dos las de verano), permite al fruticultor evaluar su potencial económico y decidir sobre su explotación, sin incurrir en una gran inversión inicial, además de su elevada rentabilidad, rápido retorno, desde el segundo año, uso intensivo de mano de obra (900 jornales por hectárea), versatilidad de los frutos para su consumo y, grandes posibilidades de exportación (Rodríguez, 1984).

Por tal motivo se está aumentando el área de producción, encontrándose en los estados de México, Michoacán, Jalisco, Guanajuato, Puebla, Tlaxcala (SIAP, 2012). Sin embargo uno de los principales problemas para la comercialización y la vida de anaquel de la frambuesa es su perecibilidad en postcosecha, al ser muy delicadas y tener poca resistencia al manipuleo y transporte; también se ve afectada por diversas enfermedades, la más común es la podredumbre gris, ocasionada por el hongo *Botrytis cinerea* (García-Méndez, 2008;



Introducción

Molina *et al.*, 2004). Por ello existen diversos métodos de conservación de la frambuesa como: las atmósferas modificadas y controladas, la refrigeración y los recubrimientos comestibles que funcionan como envase activo.

Los recubrimientos comestibles pueden ser usados como barrera para reducir los índices de respiración y transpiración a través de la superficie de las frutas, retardando el crecimiento microbiológico y los cambios de color, mejorando la textura y calidad de la fruta (Quintero *et al.*, 2010). Las películas y recubrimientos comestibles y biodegradables representan una alternativa de empaque sin costos ambientales y sin efectos adversos sobre la salud (Miranda *et al.*, 2003). Además del empleo de aceites esenciales, como el eucalipto que ha mostrado poder antifúngico contra hongos filamentosos como: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phytophthora* y *Botrytis* (Flores *et al.*, 2004).

Por lo que el objetivo del presente trabajo es la extracción del aceite esencial de eucalipto para su aplicación como agente antifúngico en un envase activo a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa para controlar la podredumbre gris y alargar la vida útil de frambuesa.

Antecedentes





2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la frambuesa

2.1.1 Origen

La frambuesa roja (Figura 1) corresponde al fruto del frambueso (*Rubus idaeus L.*), el cual es un arbusto frutal de cañas de la familia *Rosaceae*, pertenecientes al género *Rubus*. Son llamadas *red raspberries* en inglés, *himbeeren* en alemán, *framboises* en francés y *jampono* en italiano (Muñoz, 2006). Su origen es de regiones templadas del Norte de Asia y de Europa Oriental; aparece por primera vez en la historia europea en el Monte Ida, en Grecia, de ahí que se le denomine también “Frambueso Rojo Europeo”.

Desde la península helénica fue introducida en Italia por los romanos, de ahí se extendería a los Países Bajos e Inglaterra (se han encontrado semillas de variedades para el cultivo en yacimientos romanos), desde donde fue llevada a América del Norte (Morales *et al.*, 2009).



Figura 1.- Imagen de un racimo de frambuesas.
Fuente: Morales *et al.* (2009).

La frambuesa se cultiva extensamente en algunos países de Europa y Norteamérica y en menor grado en América Central y del Sur, Australia y Nueva Zelanda. A México las primeras introducciones de cultivares de Europa y Estados Unidos se hicieron en 1974 en el área de Chapingo, Estado de México, donde posteriormente el Colegio de Postgraduados evaluó algunos materiales como *mallin exploit*, *citadel* y *heritage* (Rodríguez y Avitia, 1984). De ahí se extendió a otros estados como Puebla, Hidalgo, Michoacán, Jalisco y Guanajuato; sin embargo, se ha extendido poco a la zona norte del país, como es el caso del



Antecedentes

estado de Chihuahua, donde actualmente se tienen 17 hectáreas de frambuesa, con un rendimiento medio de 6 Ton·ha⁻¹ (Parra-Quezada *et al.*, 2008).

2.1.2 Morfología y taxonomía

Las frambuesas son una polidrupa de forma cónica u ovoide de aproximadamente 1 cm de longitud, formada por numerosas y diminutas drupas con piel aterciopelada y muy sensible. Suelen ser color rojo más o menos intenso, también existen especies y variedades de coloración amarilla, blanca o negruzca, que se caracterizan por desprenderse fácilmente (a diferencia de las zarzamoras), quedando el fruto con el interior hueco. Son más apreciadas que las moras por su delicado sabor y perfumado aroma (Box, 2005). Se ha reportado la siguiente clasificación taxonómica de la frambuesa:

Tabla 1.- Clasificación taxonómica de la frambuesa.

Reino	Vegetal
División	Antofita
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Arquiclamidia
Orden	Rosales
Familia	<i>Rosaceae</i>
Género	<i>Rubus</i>
Especie	<i>Idaeus idaeus</i> L. <i>Rubus occidentalis</i>
Nombre científico	<i>Rubus</i> sp.
Nombre común	Frambuesa






Fuente: Gomorra (2008).

El arbusto de 40 a 60 cm de altura crece en los lugares pedregosos de las montañas, en terreno granítico (SAGARPA-SIAP, 2013). En la Tabla 2 se muestra una descripción más detallada de las partes que componen la frambuesa.



Antecedentes

Tabla 2. Descripción morfológica de la frambuesa.

Parte de la planta	Descripción
Raíces 	Sistema radicular con desarrollo limitado, raíces primarias y secundarias leñosas, delgadas y superficiales con funciones de sostén, medio de transporte y reserva de elementos nutritivos.
Tallos 	Tiene un tallo subterráneo corto muy ramoso, con corteza gris amarillenta y cubierta de pelos amarillos dorados, que emite cada año ramas aéreas (vástagos) de dos años de duración. Éstos se desarrollan durante el primer año y en el segundo florecen y fructifican. En el segundo año la corteza se vuelve gris oscura, sembrados de agujijones delgados, espesos o raros.
Hojas 	Hojas imparipinadas o ternadas, según sea la planta más o menos vigorosa; foliolos más o menos variables por el tamaño y forma, siendo ovales, más o menos alargadas, acuminadas, aserradas, verdes por el haz y blanquecinas aterciopeladas por el envés.
Flores 	Flores escasas en racimo terminal sencillo, pequeñas, blanco verdosas o teñidas de rosa, llevadas por un pedúnculo largo y espinoso. Cáliz con cinco sépalos largos y persistentes; cinco pétalos caducos. Estambres muy numerosos, pistilos numerosos y completamente libres, inscritos en un receptáculo muy convexo.
Fruto 	El fruto, llamado frambuesa, está formado por muchas drupas convexas, deprimidas, rugosas, aproximadas en piña y que destacan fácilmente. El color más común es el rojo o amarillento, pero existen variedades de frutos blanco y negro. Cada drupa tiene adherido un pelo de color amarillo oro.

Fuente: SAGARPA–SIAP/INFOAGRO (2013).

2.1.3 Variedades de frambuesa

Las variedades de frambueso difieren según las características de sus frutos, tiempo de madurez, hábito de crecimiento de la planta, tolerancia a enfermedades, resistencia a plagas, objetivo de producción, entre otras; sin embargo, en un contexto general se clasifican según su origen, color o época de producción, siendo estas dos últimas las más tradicionales formas de clasificación. En la Tabla 3 se muestran las diferentes variedades de frambuesa, se dividen en Remontantes que son aquellas variedades que florecen en cañas y en hijuelos durante la misma temporada y en No Remontantes que son las que solo producen los primordios florales en las cañas.



Antecedentes

Tabla 3. Variedades de frambuesa.

Variedades Según su época de producción	
Variedad	Descripción
	Remontantes
Heritage 	Planta vigorosa de crecimiento erecto, con gran número de espinas, altamente productiva. Su fruto es de forma cónica, de 2.2 g, rojo brillante, de buena consistencia y dulzor, con 12.8°Brix y 2.2% de acidez.
Amity 	Produce alrededor de 8 días antes que Heritage. Requiere alta acumulación de frío para obtener altos rendimientos. Es color rojo oscuro con tonalidades moradas. Tiene forma redonda cónica, con un peso de 2.4 g, con 11.9°Brix.
Autumn Bliss 	Planta vigorosa con espinas color púrpura, altamente productiva, madura 14 días antes que Heritage. Tiene muy baja firmeza, presenta un peso de 2.7 g, de forma cónica, color rojo intenso y brillante con drupeolos grandes, de mejor sabor que Heritage, tiene 10°Brix y acidez de 1.8%.
Ruby 	Planta vigorosa con altos niveles de productividad, con cañas sin espinas. Su fruta es de forma cónica alargada, con alta firmeza, peso promedio 3.2 g, color rojo brillante de consistencia mediana y buen sabor, tiene 10°Brix y una acidez de 2.3% en fruta de caña y 3.7% en fruta proveniente del hijuelo. Presenta maduración irregular.
No Remontantes	
Chilliwack 	Planta con cañas vigorosas, con escaso número de espinas. Mediano a largo, dulce de muy buen sabor, color rojo brillante, firme, buena para el mercado fresco y procesado. Presenta buena resistencia a problemas de pudrición durante la postcosecha, es susceptible al ataque de <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
Meeker 	Planta vigorosa y de crecimiento arqueado. Excelente variedad para ser congelado por su fruto de color rojo oscuro y brillante, peso promedio de 2.2 g, con 11.8°Brix y acidez de 1.7%. Bien adaptado a cosecha mecanizada.
Glen Ample 	Variedad vigorosa, de crecimiento erecto, con cañas sin espinas. Presenta buen comportamiento para el mercado fresco y procesado. Requiere alta acumulación de horas de frío para alcanzar rendimiento promedio de 16 ton/ha. Su fruto es de color rojo brillante, buen calibre, peso promedio de 4 g, de 10°Brix y acidez promedio del 2%.

Fuente: Morales *et al.* (2009).



Antecedentes

2.1.4 Importancia económica

El mercado de la frambuesa se divide por las formas de procesamiento de este producto, en fresco y congelado. En fresco significa que la frambuesa pasa por el proceso de cosecha, selección, envasado y comercialización, siendo distribuida en forma natural recibiendo el frío necesario para conservarla. Esto implica rapidez en su distribución por ser una fruta fácilmente perecible, por lo tanto la llegada a destino deben tratar de realizarse en un lapso no mayor de 5 a 7 días, ya que la alta perecibilidad del producto determina que este se deteriore en un tiempo no mayor de 10 días. En cambio la frambuesa congelada pasa por el proceso de cosecha, congelado, selección, envasado y comercialización, para lo cual es absolutamente necesario contar con una planta procesadora que tenga los equipos adecuados de frío para aplicar el procedimiento de congelado rápido (IQF) en el producto, lo que permite mayores tiempos de tránsito. En cualquiera de los casos sea fresco o congelado el desarrollo de una adecuada cadena de frío y la cercanía a zonas aeroportuarias sobre todo para el producto fresco, garantizarán que la frambuesa llegue en las mejores condiciones al consumidor final (Parodi, 2012).

2.1.4.1 Mercado Internacional

En general el desarrollo del mercado mundial de frambuesa se ha movido en mayor grado sobre fruta congelada que en fresca. En el 2004, el tamaño del mercado mundial de frambuesa congelada superaba las 85,033 TM, con un valor superior a los US\$ 310 millones, el cual representaba el doble del mercado mundial de frambuesa fresca. Al 2010 de las 462,000 TM que se producían de frambuesa a nivel mundial aproximadamente entre un 80 a 90% de esta producción se procesó como fruta congelada (IQF), mientras que el porcentaje restante se ofertó como fruta fresca (Parodi, 2012).

Dentro de los principales mercados consumidores de frambuesa se encuentra Alemania, Reino Unido, Francia, Estados Unidos, Canadá y Japón, como se muestra en la Figura 2. Actualmente la producción mundial de frambuesas es estimada entre 400,000–460,000 toneladas métricas anuales, buena parte de esta producción proviene de Rusia, Serbia,



Antecedentes

Polonia además de EE.UU y Chile. El panorama productivo en los próximos años se vislumbra con tendencia al incremento en la oferta de frambuesas debido principalmente al desarrollo de más áreas instaladas con este frutal, la generación de nuevas variedades y la participación de un mayor número de países en el cultivo de esta frutilla (Parodi, 2012).

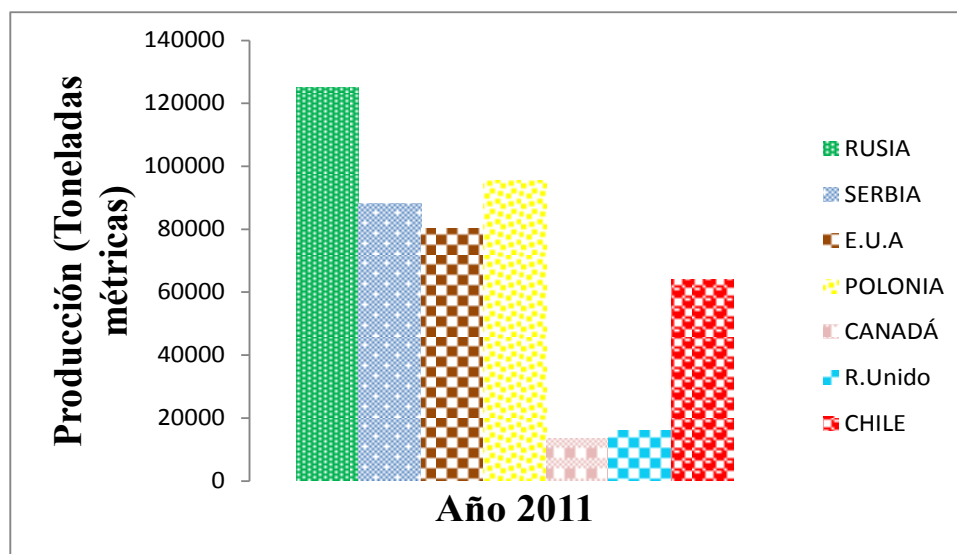


Figura 2. Producción mundial de frambuesa de los principales países del año 2011 en toneladas métricas.

Fuente: FAOSTAT (2011).

Dentro de los principales abastecedores de frambuesas procesadas para el mercado norteamericano se encuentran Chile seguido muy de lejos por Canadá, China y México, mientras que a nivel de frambuesas frescas quien lidera de manera sustancial la oferta hacia los EE.UU es México habiéndose posicionado en los últimos años con el 92.7% de las importaciones de este mercado, lo cual afectó seriamente los envíos realizados tanto por Chile como del Canadá. En general, las importaciones de fruta a nivel de los EE.UU se han incrementado sensiblemente, atribuyéndose este hecho al interés creciente del gobierno y la población por los alimentos sanos, nutritivos y seguros, habiéndose desarrollado desde tiempo atrás gran cantidad de campañas publicitarias que buscan concientizar al poblador norteamericano respecto a las bondades del consumo de frutas y hortalizas frescas, aspecto que ha traído como consecuencia un aumento constante de este tipo de productos en los EE.UU, tendencia que no tiende a revertirse en los últimos años (Parodi, 2012).



Antecedentes

2.1.4.2 Mercado Nacional

En los últimos 7 años México se ha convertido en una potencia relevante a nivel mundial en producción de frutillas, particularmente en su contribución al abastecimiento del mercado de Estados Unidos. Entre los cultivos principales que forman parte de esta categoría, la frambuesa es la frutilla con mayor producción y comercio a nivel internacional; sin embargo la participación de México en este cultivo es marginal, por diversos motivos. Las razones de su producción son: la elevada rentabilidad; el rápido retorno (desde el segundo año), el uso intensivo de mano de obra, la versatilidad de los frutos para su consumo; y las grandes posibilidades de exportación. Y es precisamente en este último punto donde México tiene una ventaja comparativa, ya que cerca del 50% de sus exportaciones se realiza en la ventana de invierno (octubre a enero), en la que se obtiene un precio más alto debido a la escasez de oferta. Sin embargo una desventaja que tiene México según un estudio de la Fundación Mexicana para la Investigación Agropecuaria y Forestal (FUMIAF) realizado en 2005 reveló que un factor limitante del incremento de las exportaciones es la falta de organización de los pequeños productores. A esto se suma el hecho de que más del 85% de dichos productores disponen de menos de dos hectáreas, por ello es difícil para los agentes exportadores alcanzar volúmenes que justifiquen la exportación (FAO, 2013).

México ha participado con envíos de frambuesa fresca y congelada al mercado de EUA (26 mil toneladas valoradas en 193 millones de dólares en 2012), siendo Canadá el principal competidor, además de Chile, Costa Rica, Brasil y Guatemala, entre otros. México cuenta con excelentes condiciones edafoclimáticas para la producción de frutillas en general, entre los estados que presentan estas características se encuentran Baja California, Chihuahua, Nayarit, Colima, Michoacán, Jalisco, Guanajuato, Hidalgo, Morelos, Estado de México, Veracruz y Puebla (FAO, 2013). En la Figura 3 se muestran las principales entidades productoras de frambuesa en México así como el porcentaje de producción de cada una.



Antecedentes

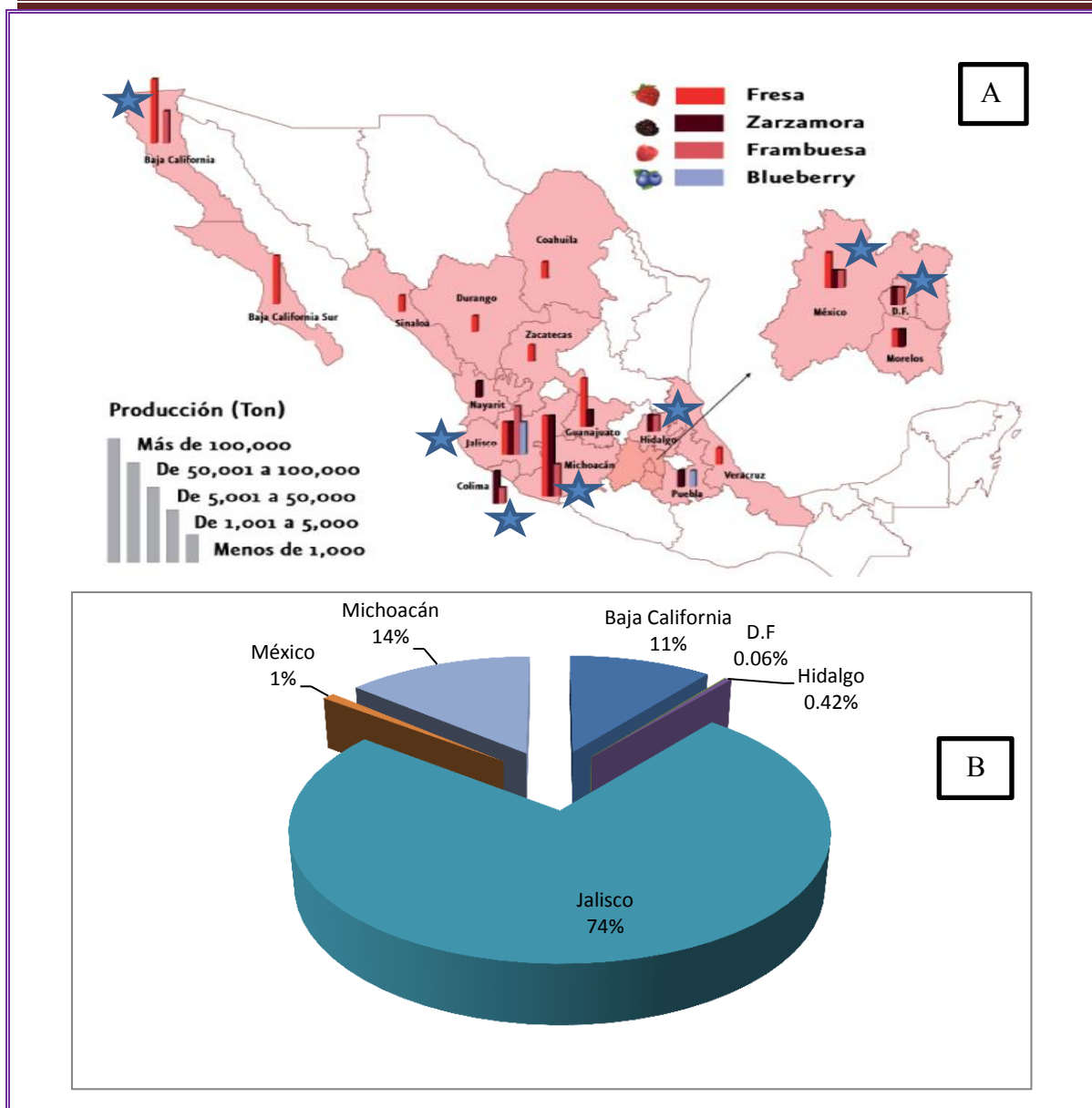


Figura 3.- A) Principales entidades productoras de frambuesa. B) Porcentaje de producción de frambuesa en México.
Fuente: SIAP (2012).

En la Figura 4 se muestra la producción de frambuesa a lo largo del periodo de 2006-2012.



Antecedentes

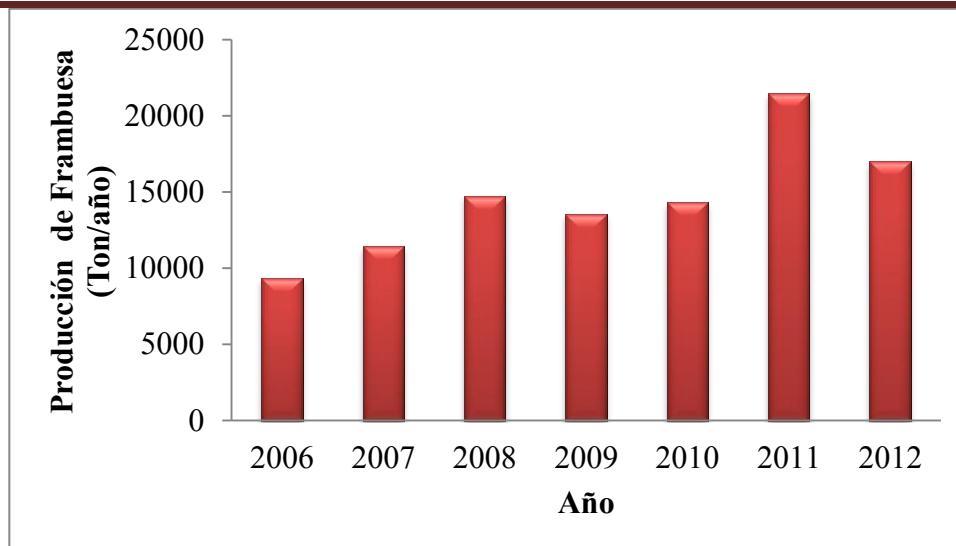


Figura 4.- Producción de frambuesa en México.
Fuente: Elaboración propia con datos de SIAP (2013).

2.1.5 Composición química y valor nutrimental

La composición química dependerá en gran medida, del tipo de fruto y de su grado de maduración. El componente mayoritario en la frambuesa es el agua, que constituye en general entre el 80 y 90% del peso de la parte comestible. Le siguen en importancia cuantitativa los azúcares (con porcentajes que oscilan entre el 8 y 15 %), polisacáridos y ácidos orgánicos (0.5-6 %), como se observa en la Tabla 4 (Gomorra, 2008).

Tabla 4.- Composición química por 100g de porción comestible de frambuesa.

Componente	Cantidad
Agua (g)	81
Hidratos de carbono (g)	8
Fibra (g)	4.7
Ácidos orgánicos (g)	2.1
Proteína (g)	0.9
Grasa total (g)	0.6
Energía (Kj)	142
(Kcal)	33

Fuente: Souci-Fachmann-Kraut (1999).

El fruto de la frambuesa suministra gran cantidad de vitaminas y minerales (Tabla 5), como vitamina C, la cual tiene acción antioxidante, al igual que el ácido eleágico y los



Antecedentes

flavonoides (pigmentos vegetales). Dicha vitamina interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorecen la absorción de hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones. El ácido fólico interviene en la producción de glóbulos rojos y blancos, en la síntesis de material genético y formación de anticuerpos del sistema inmunológico. El potasio es necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso, para la actividad muscular normal e interviene en el equilibrio de agua adentro y fuera de la célula. El magnesio se relaciona con el funcionamiento del intestino, nervios y músculos, forma parte de huesos y dientes, mejora la inmunidad posee un suave laxante (Gomorra, 2008).

Tabla 5. Composición nutrimental por 100g de porción comestible de frambuesa.

Componente	Cantidad	Componente	Cantidad	Componente	Cantidad
Sales minerales (g)	0.5	Hidratos de carbono		Vitaminas	
Sodio (mg)	1	Glucosa (mg)	1.780	Carotenos (µg)	80
Potasio (mg)	170	Fructosa (mg)	2.050	Vit. E (µg)	480
Magnesio (mg)	30	Sacarosa(mg)	960	Vit. B ₁ (µg)	25
Calcio (mg)	40	Xilitol (mg)	3	Vit. B ₂ (µg)	50
Manganeso (µg)	1.200	Sorbitol (mg)	9	Nicotinamida (µg)	300
Hierro (mg)	1	Lípidos		Ácido pantoténico (µg)	300
Cobre (µg)	140	Ácido palmítico (mg)	20	Vit. B ₆ (µg)	75
Zinc (µg)	530	Ácido Esteárico (mg)	5	Biotina (µg)	2
Fósforo (mg)	45			Vit. C	25
Yodo (µg)	1				
Aminoácidos		Ácido Oleico (mg)	25	Ácido málico (mg)	400
Triptofano (mg)	15	Ácido Linoleico (mg)	105	Ácido Cítrico (mg)	1.720
			90	Ácido Oxálico(mg)	16
		Ácido Linolénico (mg)		Ácido-salicílico (µg)	5.100

Fuente: Souci-Fachmann-Kraut (1999).

Dentro de la composición nutrimental de la frambuesa existe la vitamina E, útil para la absorción de hierro y vitamina C, contiene vitaminas del grupo B, que favorecen el metabolismo de la energía y al mismo tiempo desempeñan un papel importante en la etapa de crecimiento, son buena fuente de fibra, tiene propiedades diuréticas, pequeñas cantidades de calcio, potasio, hierro y magnesio minerales vitales que son absorbidos eficazmente por el cuerpo gracias a la vitamina C, el té de las hojas de la frambuesa ayuda a



Antecedentes

evitar los cólicos menstruales se considera anticancerígeno, ayuda a la hipertensión y a la producción y generación del impulso nervioso y muscular (Gomorra, 2008).

2.1.6 Compuestos fenólicos presentes en la frambuesa

Es sabido que la principal propiedad natural de los frutos rojos son los polifenoles, a los cuales está universalmente atribuida una función específica de contraste al envejecimiento celular. Los polifenoles son el producto del metabolismo secundario de las plantas y resultan particularmente activos en prevenir la oxidación de las sustancias grasas. Los alimentos de color rojo mejoran las funciones de la memoria, mantiene el corazón y el tracto urinario saludables, ayudan a la prevención del cáncer relacionado a hormonas como cáncer de mama, de próstata y ovario, y también ayudan en el control de los síntomas del síndrome pre-menstrual (Figura 5). Según estudios realizados en 2006, los frutos rojos como la zarzamora, la grosella, la fresa, la frambuesa o el arándano están entre los primeros cincuenta mejores alimentos (Ronald, 2010).

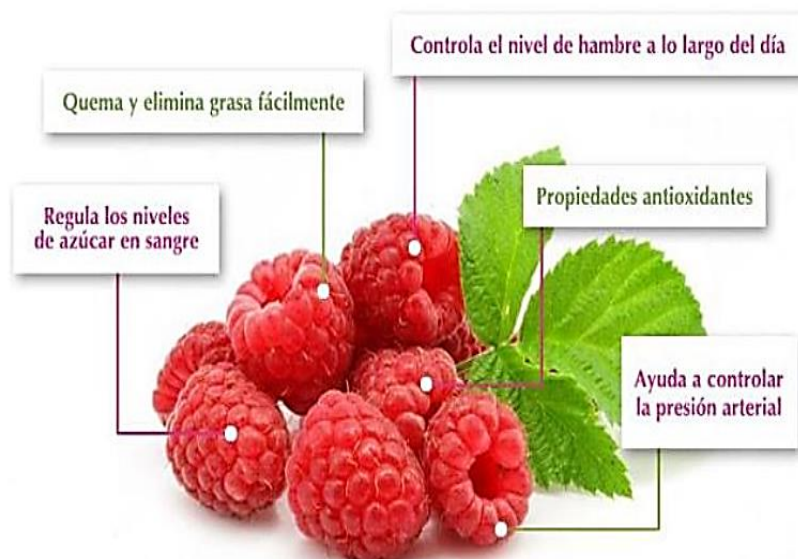


Figura 5.- Propiedades de la frambuesa.
Fuente: Gomorra (2008).

Al ser un grupo heterogéneo de moléculas, los polifenoles comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos fenólicos, tienen al menos un anillo aromático al que

Ingeniería en Alimentos



Antecedentes

están unidos uno o más grupos hidroxilo; se encuentran en una gran variedad de plantas comestibles, frutos, hortalizas, bebidas como té, café, cerveza y vino tinto, en el aceite de oliva, en cereales y en algunas semillas como las de leguminosas. Los frutos contienen concentraciones relativamente altas de derivados de quercetina, kaempferol, hesperetina, etc. y ácidos fenólicos entre ellos los derivados cinámicos (Ronald, 2010).

Se pueden clasificar en grupos como los ácidos fenólicos (benzoicos y cinámicos), flavonoides (antocianinas, flavonoides, flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas), estilbenos y lignanos, como se ve en la Figura 6. Algunos estudios han demostrado que muchos flavonoles y ácidos fenólicos son antioxidantes considerablemente más potentes que la vitamina C y la vitamina E, se ha demostrado que hay una correlación entre el contenido total de ácidos fenólicos y flavonoides y la actividad antioxidante de un alimento (Collado *et al.*, 2011).

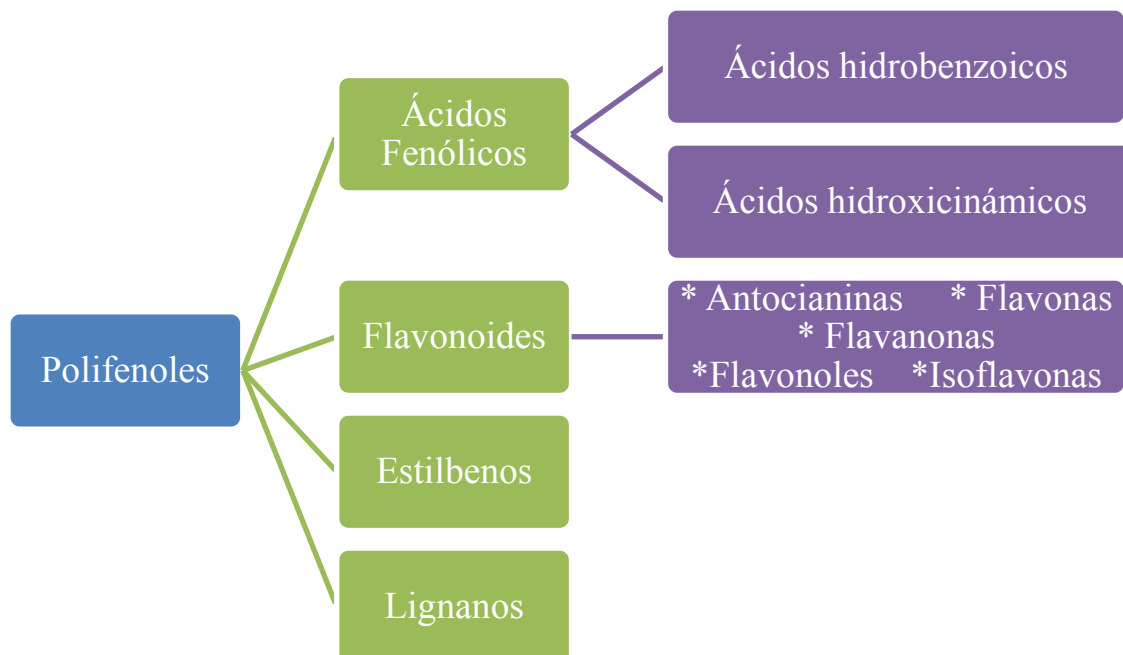


Figura 6.- Clasificación de los polifenoles.
Fuente: Collado *et al.*, (2011).

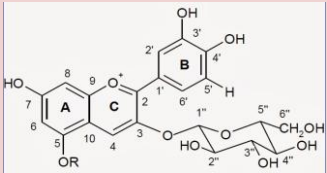
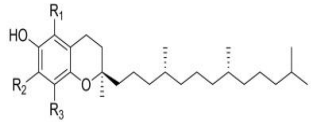
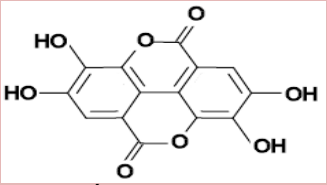


Antecedentes

Es una fruta que posee cantidades importantes de estos compuestos, particularmente ácido elálgico, elagitaninos, antocianinas, ácidos fenólicos y algunos otros flavonoides (Peña-Varela *et al.*, 2006).

En la Tabla 6 se muestran las características de los compuestos fenólicos presentes en la frambuesa.

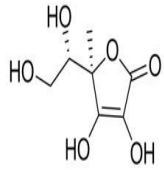
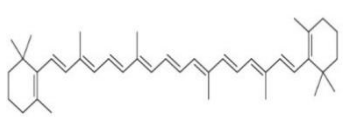
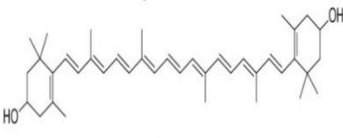
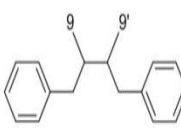
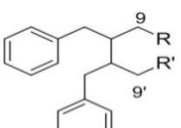
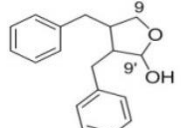
Tabla 6.- Características de los principales compuestos fenólicos presentes en las frambuesas.

Compuesto	Características	Ejemplos	Estructura
Antocianinas	Son pigmentos naturales que contienen un azúcar en su estructura: Cianidina-3-glucósido, cianidina-3-sambubiosido y cianidina-3-soforosido. Poseen actividad antioxidante, son beneficiosos en enfermedades de la vista, enfermedades cardíacas y desórdenes neurodegenerativos relacionados con la edad.	Cianidina, delphinidina, peonidina, malvidina, pelargonidina y petunidina.	 <p>Cianidina-3-glucósido, R=H Cianidina-3,5-diglucósido, R=glucosa</p>
Tocoferoles	α -, β -, γ - y δ - <i>tocoferol</i> se consideran formas de la Vitamina E. Influyen en el metabolismo de los ácidos nucleicos y en la síntesis de varios ácidos grasos. Además, evita la oxidación de algunos constituyentes celulares.	α -tocoferol β -tocoferol γ -tocoferol δ -tocoferol	<p>α-tocoferol: R₁=CH₃, R₂=CH₃, R₃=CH₃ β-tocoferol: R₁=CH₃, R₂=H, R₃=CH₃ γ-tocoferol: R₁=H, R₂=CH₃, R₃=CH₃ δ-tocoferol: R₁=H, R₂=H, R₃=CH₃</p> 
Ácido elálgico	Es un ácido hidroxibenzoico dietético presente en plantas en forma de elagitaninos hidrolizables (ésteres de glucosa con un análogo del ácido difénico). Con efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos.	Elagitaninos o ácido elálgico	 <p>Ácido elálgico</p>
Vitamina C	Ayuda a reducir el estrés oxidativo, facilita la absorción de otras vitaminas y minerales, ofrece protección frente a los radicales libres (ROS). Si se mantiene una	Ácido ascórbico o vitamina C	



Antecedentes

Tabla 6.- Cuadro resumen de las características de los principales compuestos fenólicos en frambuesa (Continuación).

Compuesto	Características	Ejemplos	Estructura
Vitamina C	dosis de vitamina C de 0.9 mg/dl en plasma, disminuye el riesgo de padecer aterosclerosis e inflamaciones.		 <p>Ácido ascórbico (vitamina C)</p>
Carotenoides	Son pigmentos naturales biosintetizados principalmente por plantas. Se dividen en dos clases, carotenos (contienen carbono e hidrógeno) y xantófilas (además de carbono e hidrógeno también contienen oxígeno). Precursores de la vitamina A, tienen efecto protector relacionado con la degeneración muscular.	<i>B</i> -caroteno luteína mixol, zeaxantina, aloxantina y osciloxantina.	 <p>B-caroteno</p>  <p>Luteína</p>
Lignan	Compuestos fenólicos sintetizados por las plantas, considerados como fitoestrógenos (compuestos que sintetizan los efectos de los estrógenos). Presentan varias actividades farmacológicas como: antiviral, prevención contra el cáncer, anti-inflamatorio, antibacteriano, antioxidante, inmunosupresores, y prevención de la osteoporosis	Taxiresinol podofilotoxina etopósido teripósido pinoresinol dibencilbutano dibencilbutiro- lacto	 <p>Estructura general</p>  <p>Dibencilbutano</p>  <p>Dibencilbutirolactol</p>

Fuente: Collado *et al.* (2011).

2.1.6.1 Propiedades de los fenoles como antioxidantes

En la actualidad hay un interés creciente en los antioxidantes, en particular en aquellos que previenen los efectos nocivos de los radicales libres en el cuerpo humano, existe



Antecedentes

preferencia por los antioxidantes naturales de los alimentos y no de fuentes sintéticas (Martínez-Cruz *et al.*, 2011). Como se mencionó las frutillas presentan actividad antioxidante por los compuestos fenólicos (Peña-Varela *et al.*, 2006), su importancia radica en las implicaciones en la salud humana, como son la disminución a la propensión a enfermedades cardíacas, cerebrovasculares, disminuyen la tasa de mortalidad por cáncer y la protección que tienen contra el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas (Martínez-Cruz *et al.*, 2011).

Los antioxidantes son sustancias que se encuentran en pequeñas concentraciones en comparación a un sustrato oxidable, que retrasa o inhibe significativamente la oxidación del sustrato, y también estabiliza las especies Reactivas de Oxígeno (EROs) mediante la cesión de un H^+ y las convierte en compuestos no radicalarios. Otras definiciones hablan de antioxidante como cualquier sustancia que, al estar presente en bajas concentraciones comparada a las de un sustrato oxidable, previene o retarda la oxidación de dicho sustrato y que protege a los sistemas biológicos frente a efectos potencialmente perjudiciales tanto de procesos como reacciones que causan excesivas oxidaciones (Martínez-Cruz *et al.*, 2011).

Los antioxidantes aportados por la dieta disminuyen los efectos de las EROs. Son variados los alimentos que están constituidos por estas sustancias y cada vez más utilizados por las personas tanto por medio del consumo directo de vegetales y frutas que los incluyen, como también por medio del uso de fármacos. Entre los antioxidantes ingeridos por la dieta se destacan las vitaminas E y C, los betacarotenos, procianidinas y polifenoles (Cuevas-Montilla *et al.*, 2008). La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno a un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático (Duthie *et al.*, 2003). En la Figura 7 se muestra el mecanismo de actuación de los radicales libres y antioxidantes.



Antecedentes

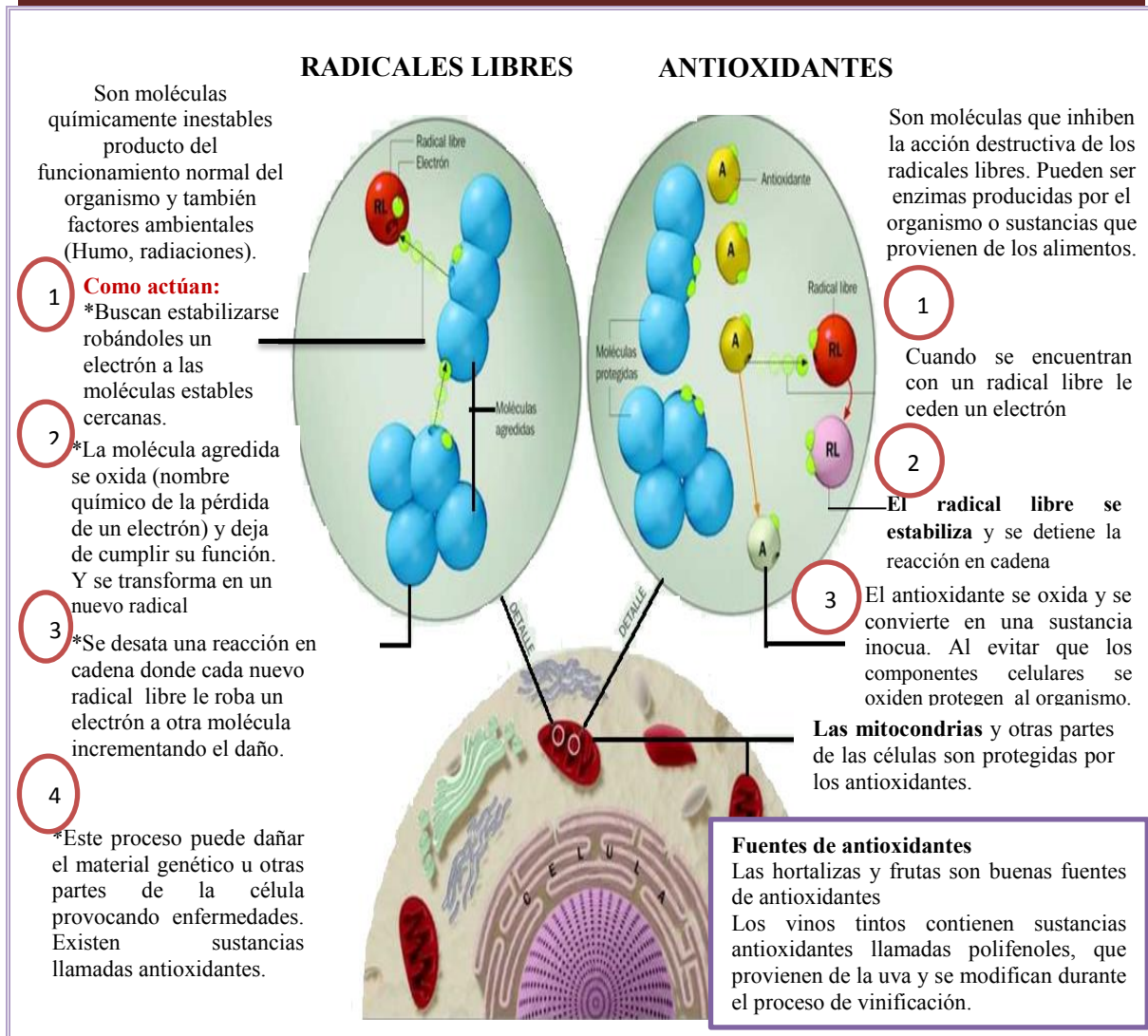


Figura 7.- Mecanismo de acción radicales y antioxidantes.
Fuente: Cuevas-Montilla *et al.* (2008); Duthie *et al.* (2003).

2.1.7. Plagas y enfermedades de la frambuesa.

El frambueso y su fruto, se ven afectados por diferentes plagas y enfermedades que acortan su vida productiva y calidad de la fruta, para manejar estos problemas sanitarios es importante conocer las distintas patologías, el organismo causal y las medidas que disminuyen la incidencias y diseminación entre plantas y huertos, a continuación en la tabla 7 se detallan las plagas principales que afectan a este frutal y cómo manejarlas (González-Céspedes, 2010), entre las principales plagas que la afectan se encuentran el frailecillo



Antecedentes

(*Macrodactylus* spp.), la araña roja (*Tetranychus urticae* Koch), áfidos o pulgones (*Amphorophora rubi*), mosca de la fruta (*Anastrepha* spp). Además de las plagas que afectan al cultivo de las frambuesas, hay enfermedades que de igual manera pueden dañarlas, en la Tabla 7 se muestran las principales plagas que presenta el cultivo de la frambuesa:


Tabla 7.- Principales enfermedades en la frambuesa.

Enfermedades	Agente	Síntomas	Control
Pudrición gris 	<i>Botrytis cinerea</i>	Reconocida enfermedad de la fruta, que también afecta flores, tallos y hojas. Los síntomas son: deshidratación de los drupéolos (granos que conforman el fruto de la frambuesa), lo que produce un cambio de color y opacidad, junto con ablandamiento y secreción de jugo. Sobre los frutos se produce un abundante desarrollo de micelio (cuerpo del hongo) y conidias, que le dan un aspecto algodonoso y de color plumizo.	Se recomiendan plantaciones bien ventiladas, no sobrepasar la recomendación de nitrógeno, uso de calcio foliar, eliminar los restos de poda y baja densidad de cañas. En invierno las cañas se pueden aplicar productos a base de <i>Bacillus subtilis</i> o <i>Trichoderma harzianum</i> . Los extractos cítricos pueden controlar focos incipientes de la enfermedad.
Roya 	<i>Pucciniastrum americanum</i>	Las hojas maduras y basales son las primeras en mostrar signos, se caracterizan por pústulas pequeñas de color amarillo llenas de esporas. Sin embargo el mayor daño se produce cuando las pústulas aparecen en los frutos, lo cual causa el rechazo de la fruta. Frutos inmaduros muestran drupéolos maduros mientras el resto permanece aún verde, mientras que los frutos maduros se observan con numerosas pústulas en los drupéolos, llenas de esporas amarillas a anaranjadas.	Iniciar con los primeros signos, para controlar el patógeno, buscando pústulas amarillas a anaranjadas en las hojas. Si la temporada no ha terminado desfoliar el tercio de las cañas, lo que remueve inóculo y mejora la ventilación. Las aplicaciones de azufre pueden detener infecciones incipientes debido a que la efectividad del producto es reducida. Infecciones más avanzadas se controlan con caldo Bordelés.
Nematosis 	<i>Pratylenchus</i> , <i>Xiphinema</i> , <i>Meloidogyn</i> e, <i>Criconemoid</i> es, <i>Paratylenchu</i> s	Síntomas aéreos no específicos, fácil de confundir con falta de agua, fertilización. Decaimiento y menor vigor. Se transmite por plantas enfermas, por el suelo y riego	Rotación de cultivo, uso de plantas sanas, solarización, guano de gallina corteza de pino, conchuela, organismos nematófagos que están presentes en el compost: <i>Pausteria</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Arthrobotrys</i> , <i>Trichotecium</i> , <i>Monochi ácaros</i> , etc.



Antecedentes

Tabla 7.- Principales enfermedades en la frambuesa (Continuación).

Enfermedades	Agente	Síntomas	Control
Antracnosis 	<i>Elsinoe veneta</i>	Manchas grises rodeadas por halo rojizo en cañas nuevas, peciolo y pedúnculos. Las manchas se profundizan, agrietando los tejidos, muerte de cañas, brotación irregular.	Poda de cañas viejas y enfermas, destrucción de la poda, mejorar aireación, reducir N ₂ , poda rasante. Tratamiento invernal con cobre.

Fuente: Arce-Pérez y Morón (2000); Doñaña *et al.* (2008); González-Céspedes (2010) Parra (2002).

2.1.7.1 Podredumbre gris

Bajo denominación de podredumbre gris, se engloban un grupo de enfermedades de diversos cultivos con una sintomatología común, caracterizada por la presencia sobre distintos órganos vegetales de un moho pulverulento de color grisáceo. Estas enfermedades son producidas por diferentes especies del género *Botrytis*. Este género fue descrito por Micheli en 1729 y Persoon, a principios del siglo XIX, estableció 5 especies dentro del género; en 1973 fue redefinido por Hennebert incluyendo en él 22 especies (Santos, 1998).

La podredumbre gris es causada por el hongo *B. cinerea* considerado como el principal patógeno que afecta el cultivo de la frambuesa en campo que causa importantes pérdidas económicas en un amplio rango de cultivos de importancia agrícola, constituyendo actualmente en Ecuador, México, Chile, Bolivia y otros países, uno de los principales problemas fitosanitarios. Este patógeno puede atacar a los cultivos en cualquier estado de su desarrollo e infectar cualquier parte de la planta, colonizando tallos, hojas, flores y frutos, por lo que las infecciones por este hongo afectan no solo el rendimiento; sino además la calidad de los cultivos, provocando deterioros de gran magnitud incluso durante las etapas de transporte y almacenamiento de los productos (Alencastro, 2011). La enfermedad se presenta inicialmente como una mancha marrón-amarillenta hacia el final de cáliz, y a los pocos días se cubre de una apariencia polvosa de moho gris en toda la superficie de la fruta provocando una pudrición, en las hojas se forman manchas de color café necrosadas en un estado latente para dispersarse y seguir con la infección (Álvarez, 2012).



Antecedentes

Botrytis cinerea

Es un hongo que puede comportarse como parásito y como saprófito, causando daños importantes, sobre todo, en cultivos bajo invernadero. La temperatura y humedad relativa son factores decisivos en su propagación, siendo óptimos 15-20°C y alrededor del 92% respectivamente. Es capaz de afectar a más de 200 especies vegetales (Álvarez, 2012).

Es un moho que produce conidióforos largos, delgados y con frecuencia pigmentados. El micelio es septado; los conidios nacen en células apicales y son de color gris, aunque pueden ser negros; a veces producen esclerocios irregulares (Figura 8) (Juárez-Becerra *et al.*, 2010).

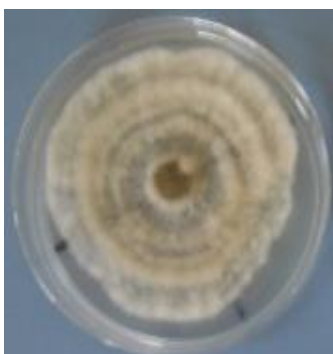


Figura 8.- Crecimiento de *Botrytis cinerea* en agar papa dextrosa.

Fuente: Elaboración propia (2013).

A continuación en la Tabla 8 se presenta la clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea*:

Tabla 8.- Clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea*.

Reino	Fungi
División	<i>Amastigomycota</i>
Subdivisión	<i>Deuteromycota</i>
Clase	<i>Deuteromycetes</i>
Subclase	<i>Hyphomycetidae</i>
Familia	<i>Moniliales</i>
Orden	<i>Moniliaceae</i>
Género	<i>Botrytis</i>
Especie	<i>Cinerea</i>

Fuente: Álvarez (2012).



Antecedentes

El ciclo de vida de *Botrytis cinerea*, consta de una fase asexual y una sexual. La fase asexual es la que con mayor frecuencia se encuentra en la naturaleza y directamente responsable del desarrollo de la enfermedad. Los síntomas provocados por este patógeno, incluyen frutos de consistencia blanda, tizones en inflorescencias, pudrición en frutos, marchitez del tejido, pústulas y manchas foliares, caída de plántulas, canchros en los tallos. Produce un micelio blanquecino y de aspecto lanoso en el tejido infectado, el cual se vuelve gris durante la esporulación, lo cual puede ocurrir dentro de unos pocos días luego que la infección ha iniciado (Alencastro, 2011). En la Figura 9 se observa la propagación de *Botrytis cinerea* en frambuesas en tres diferentes etapas de la enfermedad.

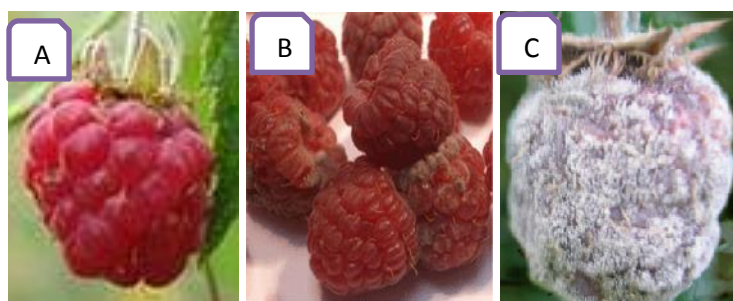


Figura 9.- Frambuesa contaminada con *Botrytis cinerea* en tres diferentes etapas de la enfermedad: (A) temprana, (B) intermedio y (C) avanzada.

En la Figura 10 se muestran algunas morfologías de *B. cinerea*.



Figura 10.- Morfologías de *B. cinerea*. (a) macronidios (b) micro conidióforos (c) micro conidios y conidios (d) esclerocios en fresa a bajas temperaturas.

Fuente: Santos (1998).

El ciclo de infección de *B. cinerea* comienza con sus esporas que pueden ser producidas sobre cualquier material vegetal y transportadas grandes distancias por corrientes de aire, lluvia o los insectos, hasta entrar en contacto con una superficie vegetal e iniciar el ciclo



Antecedentes

(Álvarez, 2012). Una vez que la espora ha alcanzado la superficie del huésped se inicia el ciclo de infección, que se encuentra en la Figura 11.

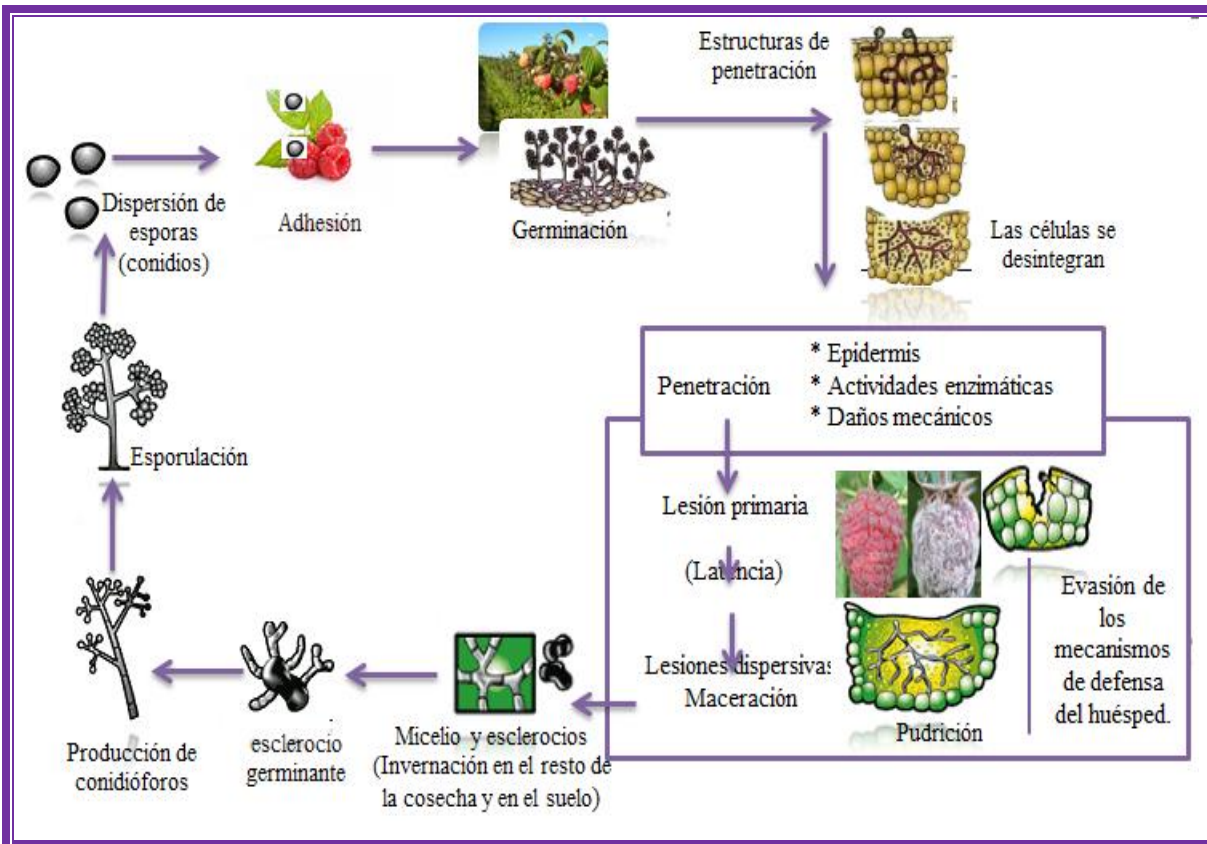


Figura 11.- Ciclo de infección de *Botrytis cinerea*.
Fuente: Benito *et al.* (2000).

El ciclo de infección del *Botrytis cinerea* se explica a continuación:

- 1) La adhesión y germinación** de esporas sobre la superficie del huésped; el conidio se hidrata para establecer interacciones hidrofóbicas y permitir su germinación, mediada por diversos factores como: la disponibilidad de agua, humedad relativa alta (>93%), la dureza e hidrofobicidad de la superficie, la fuente de carbono, los nutrientes y la producción de etileno por parte de la planta. La segunda etapa se presenta al germinar el conidio y se forma una matriz compuesta de lípidos, polisacáridos y melanina que permiten al hongo adherirse a la superficie del huésped.



Antecedentes

- 2) **Penetración en el tejido vegetal**, la infección puede iniciar en tejidos dañados o donde ha sido infectado por otro patógeno, mediante la penetración directa e incluso por aberturas naturales como las estomas; también puede producir sustancias que degradan el material vegetal y facilitan la penetración; como la enzima cutinasa que destruye la cutina, que es la primera barrera de protección de la planta. La pectinasa degrada la pectina de la pared celular y las lipasas, que hidrolizan ésteres de ácidos insaturados de cadena larga que forman parte de la cutícula y la cera presente en este tejido.
- 3) **El establecimiento** del patógeno en la zona de penetración, determina la muerte de las células adyacentes al punto de penetración y da lugar a la formación de una lesión primaria como consecuencia de los mecanismos de defensa de la planta; al penetrar el hongo facilita la invasión del tejido por la difusión de compuestos con actividad fitotóxica como toxinas, metabolitos secundarios e.g. botridial, dihidrobotridial y bocinolina de *B. cinerea*, relacionados con las manchas necróticas. El ácido oxálico al estar presente dentro de la planta forma cristales de oxalato cálcico que actúa como quelante de iones de calcio y cobre. La eliminación del calcio de la pectina provoca una absorción de agua e hinchamiento causando una deformación.
- 4) **Fase de latencia** aquí los mecanismos de defensa de la planta parecen controlar al patógeno que permanece localizado en las áreas de necrosis correspondientes a las lesiones primarias.
- 5) **Colonización y maceración**, se da al transcurrir un tiempo, donde las lesiones primarias causadas por el patógeno vencen las barreras defensivas de la planta e inician su diseminación en el tejido vegetal. La putrefacción del tejido vegetal se presenta cuando hay condiciones que permiten la formación de conidios y conidióforos sobre la superficie del cultivo. Una vez que el hongo ha esporulado la dispersión de los conidios inician nuevamente el ciclo en otra superficie vegetal (Álvarez, 2012; Benito *et al.*, 2000).





Antecedentes

- 6) La morfología de *B. cinerea* y la función de cada una de sus partes le permite infectar a su hospedero, por lo que conocer al patógeno resulta en información para crear nuevas alternativas de control.

2.1.8 Métodos de conservación de frambuesa

Las frambuesas tienen la característica de ser altamente perecederos, su vida media es a temperatura óptima de 4°C durante son 7 días, son recogidas a mano una a una, tienen una epidermis muy fina y sensible a daños, compresión o golpes, son muy susceptibles a hongos, especialmente *Botrytis sp.* y no toleran la humedad libre en su superficie como consecuencia de condensación, rápidamente desarrollan hongos, es un fruto no climatérico, por lo que se cosecha en su estado de madurez de consumo. Su tasa de respiración es alta y varía de 24 a 200 mg CO₂/kg/h a 0-2°C, respectivamente. Además, el calor emitido durante la guarda de la fruta es muy alto (1083 a 1528 Kcal/día a 0°C y 1889 a 2361 Kcal a 4-5°C). Estos hechos, sumados a que el fruto de la frambuesa se desprende del receptáculo, hacen que la fruta sea de corta vida, motivo por lo cual es necesario buscar métodos de conservación que prolonguen la vida útil de la misma, sin modificar sus características organolépticas, físicas y químicas. Algunos de estos métodos se describen en la Tabla 9.

Tabla 9.- Métodos de conservación en frutillas.

Método de conservación	Principio
Refrigeración 	Somete al alimento a bajas temperaturas (0 y 5-6°C) sin llegar a la congelación, manteniendo la temperatura uniforme durante el periodo de conservación, dentro de los límites de tolerancia admitidos, para cada tipo de producto.
Atmósferas modificadas 	El fruto es envasado en materiales con diferentes barreras a la difusión de los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado para disminuir el grado de respiración, reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto.
Envases activos	Tiene como finalidad incrementar el tiempo de conservación de los alimentos y preservar o potenciar sus propiedades organolépticas; liberando sustancias de interés (antimicrobianos, antioxidantes,



Antecedentes

Tabla 9.- Métodos de conservación en frutillas (Continuación).

	<p>aromas) y/o se retiran compuestos indeseables (oxígeno, etileno, olores) del producto envasado o su entorno. Entre ellos se encuentran:</p> <p>*Absorbedores de oxígeno: Reducen los niveles de O₂ diez veces más que el envasado al vacío.</p> <p>*Generadores y absorbedores de CO₂: El CO₂ se difunde entre 2 y 6 veces más rápido que otros gases.</p> <p>*Absorbedores de agua y reguladores de la humedad: Se componen de una película polimérica (sales de poliácridato, amidas modificadas, copolímeros de almidón) con capacidad para retener agua líquida</p> <p>*Absorbedores de etileno: Compuestos químicos con capacidad de adsorción/ absorción y pueden presentarse en bolsas o en láminas. Estos compuestos suelen ser: permanganato potásico inmovilizado sobre un sustrato mineral inerte, Catalizadores metálicos (paladio) inmovilizados sobre carbón activo.</p>
<p>Recubrimientos comestibles</p>	<p>Son matrices continuas formuladas a base de lípidos, proteínas o carbohidratos o mezclas de estos componentes, que les confieren diferentes propiedades fisicoquímicas. Sirven como vehículos para un amplio rango de aditivos, incluyendo compuestos antimicrobianos, saborizantes y pigmentos, proporcionándoles mayores atributos de control de microorganismos, lo que resulta en un incremento en la calidad y vida de anaquel del producto, por tales características son considerados como envases activos.</p>

Fuente: Cartagena (2008); Galet (2009); Ospina *et al.* (2006); Navarrete (2009); Ramos-García *et al.* (2010).

2.2 Generalidades de Películas y Recubrimientos comestibles

2.2.1 Definición

Un recubrimiento comestible (RC) se puede definir como una matriz continua, delgada, que se estructura alrededor del alimento generalmente mediante la inmersión del mismo en una solución formadora del recubrimiento, es definido como una capa delgada de material comestible formado como un revestimiento que envuelve al alimento y que puede ser consumida como parte del mismo (Pastor, 2010). Por otra parte una película comestible (PC) es una matriz preformada y delgada, elaborada con material comestible y la cual una vez elaborada puede ser colocada sobre el alimento o entre los componentes del mismo. Dichas soluciones formadoras de PC o RC pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos. Al igual que



Antecedentes

los RC, las PC poseen propiedades mecánicas, generan efecto barrera frente al transporte de gases, y pueden adquirir diversas propiedades funcionales dependiendo de las características de las sustancias encapsuladas y formadoras de dichas matrices (Quintero *et al.*, 2010). La principal diferencia entre ambos es que los recubrimientos son aplicados en forma líquida sobre el alimento, generalmente inmersión del producto en una solución y las películas comestibles son en primer lugar preformadas como láminas sólidas las cuáles son posteriormente aplicadas en forma de recubrimiento sobre el alimento (Rojas, 2006).

Diversos estudios reconocen la importancia de evaluar las matrices preformadas (PC), con la tarea de cuantificar diversos parámetros como propiedades mecánicas, ópticas 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 (O_2 , CO_2) y se convierte en una barrera para la transferencia de compuestos aromáticos (Quintero *et al.*, 2010).

2.2.2 Importancia y funciones

Las películas o recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad y economía, al realizar una o más de las funciones indicadas en la Tabla 10.

Su función es mantener la calidad de los productos recubiertos que permitan evitar la ganancia o pérdida de humedad, provocar una modificación de la textura, turgencia; retardar cambios químicos que pueden afectar el color, aroma o valor nutricional del alimento; actuar 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; mejorar la estabilidad microbiológica y aumentar la integridad mecánica en el caso de las frutas y hortalizas, en donde la función primordial es la de restringir la pérdida de humedad



Antecedentes

de la fruta hacia el ambiente y reducir la absorción de oxígeno por la fruta para disminuir la tasa de la actividad respiratoria (Bósquez, 2003; Figueroa *et al.*, 2011).

Tabla 10.- Usos posibles de películas comestibles y recubrimientos.

Función/ aplicación	Tipo adecuado de película
Retardar migración de humedad	Lípido, compuesto ^a
Retardar migración de gas	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Retardar migración de aceite y agua	Hidrocoloide
Retardar migración de soluto	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Mejorar la integridad estructural o propiedades de manejo	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Retener compuestos volátiles del sabor	Hidrocoloide, lípido o compuesto
Vehículo de aditivos alimentarios	Hidrocoloide, lípido o compuesto

^a Una película compuesta consiste de una combinación de componentes lipídicos e hidrocoloides para formar una bicapa o conglomerado.

Fuente: Bósquez (2003).

Tienen propiedades funcionales como la viscosidad, elasticidad, gelificante, espesante y retención de agua, por lo que se emplea en la elaboración de diversos productos; Otro uso es en la clarificación de aguas, su adición a la cal como adherente de la pintura o su introducción en el suelo para aumentar las infiltración de agua, adherir o pegar arcillas deleznales de los adobes, pequeños terrones, fragmentos de cerámica, pigmentos de pintura mural, consolida estucos coloniales de cal y arena, tiene propiedades como reemplazantes de grasa en diversos alimentos y también como ligante de sabor (Bósquez, 2003).

2.2.3 Ventajas y desventajas de los recubrimientos comestibles

Una de las ventajas de esta tecnología es el hecho de que estos materiales pueden servir como vehículos de otros ingredientes con un propósito específico diferente, así por ejemplo, se han incorporado en las formulaciones agentes antimicrobianos, saborizantes, antioxidantes y pigmentos. Mejoran las propiedades de manejo mecánico o integridad estructural de un producto alimentario, como sucede en productos compuestos de muchas



Antecedentes

partículas discretas. Las cubiertas pueden ofrecer alguna protección física en productos que son susceptibles a daños físicos durante el transporte como en frutas y hortalizas frescas (Bósquez, 2003). En la Figura 12 se muestran algunas propiedades funcionales.



Figura 12.- Propiedades funcionales de un recubrimiento comestible en frutas y hortalizas.
Fuente: Bósquez (2003).

Adicionalmente, las películas y recubrimientos representan una alternativa a los materiales comerciales de empaque que se emplean en los productos alimentarios, pues desde el punto de vista de protección del ambiente, se conciben como menos costosos que los plásticos por lo que su uso con este propósito reduciría significativamente la basura del envasado asociada con los alimentos frescos y procesados (Bósquez, 2003). En la Tabla 11 se muestran algunas ventajas y desventajas del empleo de los RC.



Antecedentes

Tabla 11.- Ventajas y desventajas del uso de los recubrimientos comestibles.

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> *Buenas cualidades sensoriales *Alta eficiencia mecánica y de barrera *Estabilidad Bioquímica, fisicoquímica y microbiana. *De bajo costo tanto de materiales como en los procesos *Pueden ser ingeridas por el consumidor *Su uso reduce los desechos y la contaminación ambiental. *Puede mejorar las propiedades organolépticas, mecánicas y nutricionales de los alimentos. *Proporcionan protección individual a pequeñas piezas o porciones de alimentos *Disminuyen los desechos de envasado, ya que requiere de embalajes más simples. *Regulan el intercambio de gases como O₂, CO₂ y de vapor de agua. *Prolongan la vida útil de alimentos mínimamente procesados. *Pueden regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos, nutrientes. 	<ul style="list-style-type: none"> *El grosor puede restringir el intercambio gaseoso durante la respiración de los tejidos, pudiendo causar acumulación de altos niveles de etanol y por ende el desarrollo de malos sabores *Si se eligen películas con escasas propiedades de barrera al vapor de agua pueden causar pérdida de peso y de humedad del alimento, pero por otro lado puede prevenirse la condensación de vapor de agua, el cual puede dar origen al crecimiento microbiano en frutas y hortalizas envasadas

Fuente: Ben-Yehoshua (1985); El Ghaouth *et al.* (1992); Pérez-Gago *et al.* (2013).

2.2.4 Principales propiedades de los recubrimientos comestibles

Los RC aplicados en frutas cortadas producen una atmósfera modificada en la fruta, reducen el deterioro, retrasan la maduración de frutas climatéricas, reducen la pérdida de agua, retardan los cambios de color, mejoran la apariencia, disminuye la pérdida de aroma, reducen el intercambio de humedad entre trozos de frutas, transportan compuestos antioxidantes y estabilizantes de la textura, imparten color y sabor, y pudieran servir como transporte de otras sustancias. En la Tabla 12 se destacan las principales propiedades de los recubrimientos comestibles (Rojas, 2006):



Antecedentes

Tabla 12.- Propiedades de los recubrimientos comestibles.

Propiedad	Características	Descripción
Barrera	Transporte de gases (O ₂ y CO ₂). Transporte al vapor de agua	Para mejorar esta propiedad se le incorporan lípidos, que emulsionados en la solución formadora de coberturas o formando una doble capa sobre el producto, previenen reacciones degenerativas del tejido como consecuencia de la pérdida de agua. ** Transporte de gases: Deben permitir una correcta modificación del entorno gaseoso dentro del envase. Su uso en frutos permite la producción de una atmósfera modifica mediante aislamiento del producto con el ambiente que lo rodea. ** Transporte al vapor de agua: para evitar la incidencia de hongos que requieren elevadas humedades relativas, se requiere que el recubrimiento sea poco permeables al vapor de agua.
Mecánicas	Cohesividad, adhesividad, resistencia a la ruptura, elasticidad	Dependen del tipo de material, grado de cohesión, composición y estructura de los ingredientes. ** Cohesividad: El grado de cohesión gobierna las propiedades de barrera y mecánicas de las coberturas. ** Adhesividad: Una alta capacidad de adhesión asegura una durabilidad larga del recubrimiento en la superficie. ** Elasticidad: el recubrimiento no se debe romper durante la vida útil del fruto, debe soportar el manejo al que es sometido.
Transporte	Retención y transporte de aditivos, reducción de migración de grasas, pérdida de humedad y de componentes volátiles	Se les adicionan ingredientes activos que mejoran el valor nutricional de los alimentos, estas propiedades buscan que el fruto no pierda propiedades naturales que afecten su composición nutricional, calidad o incluso sensorial.
Físicas	Mejoran la apariencia de los alimentos, como el color y textura	Las propiedades físicas propician un atractivo visual más significativo, dependiendo del recubrimiento y concentración le brindará claridad u oscuridad a la superficie del fruto. Los recubrimientos proporcionan mayor firmeza ocasionando una vida de anaquel más larga.

Fuente: Rojas (2006); Sánchez (2013).



Antecedentes

2.2.5 Principales componentes de los recubrimientos

2.2.5.1 Materiales y propiedades

En general, los recubrimientos y películas comestibles se elaboran de biopolímeros naturales de alto peso molecular que proporcionan una matriz macromolecular con resistencia cohesiva alta, ceras naturales, polisacáridos y proteínas, formando un envase ideal desde el punto de vista medioambiental, puesto que son biodegradables y pueden ser consumidos con el producto; las formulaciones pueden incluir plastificantes, emulsificantes, agentes de superficie activa (surfactantes), agentes de liberación específica de compuestos, lubricantes, saborizantes, compuestos antimicrobianos, etc. para mejorar las propiedades de los recubrimientos y películas comestibles (Del Valle, 2012), por lo que realmente se trata de formulaciones multicomponentes.

En el futuro los recubrimientos comestibles podrían reducir la necesidad de refrigeración y el coste de almacenamiento por el uso atmósferas controladas (Bósquez, 2003; Figueroa *et al.*, 2011). Se emplea en forma de finas capas mediante inmersión, pulverización o envolturas, y el método depende, de las propiedades reológicas de las películas y la superficie de los frutos. Cabe resaltar, que la divergencia en la aplicación de los recubrimientos, es un factor limitante para el desarrollo e implantación de esta tecnología postcosecha, lo que reduce su versatilidad y condicionan su efectividad (Figueroa *et al.*, 2011).

A continuación en la Tabla 13 se referencian algunos materiales como polisacáridos, proteínas y lípidos, que han sido objeto de investigación como matrices de películas y recubrimiento comestibles.



Antecedentes

Tabla 13.- Materiales empleados en las películas y recubrimientos comestibles.

Material	Características	Ejemplos
Polisacáridos	Forman recubrimientos con buenas propiedades mecánicas y son una buena barrera para los gases (O ₂ y CO ₂), no impiden suficientemente la transmisión de vapor de agua, se adhieren bien a las superficies cortadas de frutas y hortalizas. Su funcionalidad como barrera contra la pérdida de humedad es pobre debido a su naturaleza hidrofílica.	Almidón, Quitosano, Celulosa, Alginato, Carragenina, CMC Maltodextrina Pectinas Mucílago de nopal
Proteínas	Mejoran la calidad nutricional de los alimentos al aumentar el contenido proteico. Dan buenas propiedades mecánicas y son una buena barrera para los gases (O ₂ y CO ₂), no impiden suficientemente la transmisión de vapor de agua.	Colágeno Gelatina Queratina Caseína Proteína del suero de leche Zeína de maíz Gluten de trigo
Lípidos	Dan buenas propiedades de barrera para la humedad, pero con poca capacidad para formar películas, reducen la transpiración, la deshidratación, mejoran el brillo y el sabor, son barreras efectivas frente a la migración de vapor de agua, presentan propiedades mecánicas desfavorables y disminuyen o incluso previenen la migración de otros gases, lo cual puede resultar en procesos fisiológicos indeseables tales como respiración anaeróbica, lo que disminuye la calidad del producto resultando en el ablandamiento de la estructura del tejido, la alteración de los aromas, el retraso de la maduración y la promoción de reacciones microbiológicas.	Ceras (candelilla, carnauba, abeja) Aceite de parafina Acilglicéridos Ácidos esteárico, láurico y palmítico, Ésteres de ácidos grasos-sacarosa
Compuestos o Multicomponentes	El uso de dos o más materiales permite mejorar las propiedades de intercambio gaseoso, la adherencia y la permeabilidad al vapor de agua.	Películas de quitosano con ácidos grasos de punto de ebullición altos Película de ácido láurico-quitosano

Fuente: Bósquez (2003); Pastor (2010); Figueroa *et al.* (2011); Del Valle (2012).

2.2.5.1.1 Carboximetilcelulosa (CMC)

La carboximetilcelulosa (CMC) (Figura 13) es la sal parcial de sodio de un éter carboximético de celulosa; formado por dos unidades de β-D-glucosa y β-D-glucopiranososa 2-O-(Carboximetil)-sal monosódica las cuales están conectadas a través de enlaces glucosídicos β- 1, 4 (Sánchez, 2013); procede directamente de cepas de vegetales fibrosos,



Antecedentes

es preparada a partir de la celulosa, la cual es el principal polisacárido constituyente de la madera y de todas las estructuras vegetales (Barros, 2009).

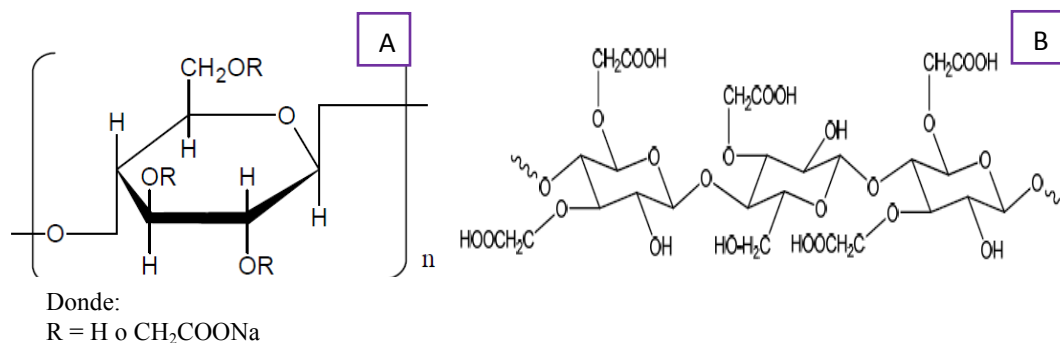


Figura 13.- Estructura de la carboximetilcelulosa (A). Configuración estereoquímica de una sección de CMC (B).

Fuente: Castellucci (2009); Rodríguez (2009).

Es preparada comercialmente de la madera y posteriormente modificada químicamente. Este polímero fue sintetizado por Lambert Jansen, en 1918, e industrializado en 1940; desde entonces es ampliamente utilizado como insumo en las industrias farmacéuticas de cosméticos, limpieza, alimentos, detergentes, jabones, para la fabricación de cremas, pastillas, jarabes, cerámicas y otros, donde actúan como espesante, emulsificante, ligante, agente suspensor, protector, estabilizador, inhibidor de la redeposición de grasa, ya que es totalmente inocuo y no reacciona fácilmente en condiciones normales (Rodríguez, 2009).

Físicamente la encontramos como un polvo granuloso, blanco o casi blanco, higroscópico tras su desecación. Prácticamente insoluble en acetona, en etanol al 96%, y en tolueno. Se dispersa fácilmente en agua dando disoluciones coloidales. Oscurece a aprox. 227°C, y quema a aprox. 252 °C (Barros, 2009). Es un polímero que forma película al solidificar, actúa como ligante, espesante y estabilizante; además, produce materiales transparentes, lo que es una cualidad importante en los recubrimientos, pues permite mantener la apariencia de los productos. La CMC se ha usado como parte de películas comestibles para retrasar con éxito el proceso de maduración y senescencia de frutos de mango (Valle-Guadarrama *et al.*, 2008).



Antecedentes

2.2.5.1.2 Mucílago de nopal

Los mucílagos se definen como polisacáridos poco ramificados lineales cuyo peso molecular oscila alrededor de 13×10^6 g/mol, compuesto por polisacáridos emparentados con las pectinas, que no conforman las paredes celulares de células vegetales, es una molécula muy larga y compleja. Entre los monómeros contenidos en la cadena se encuentra: L-arabinosa, D-galactosa, L-ramnosa, D-xilosa y ácido galacturónico (Figura 14). La proporción de estos monómeros varía de acuerdo a la variedad, edad, condiciones ambientales y estructura empleada para la extracción (fruto, cáscara, cladodio), entre otros factores. El mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) puede ser un producto de interés para la industria alimentarias por su poder espesante. Contiene una considerable cantidad de ácido galacturónico, el cual es un azúcar carboxilado. Porque los iones hidrógeno tienden a disociarse de la parte carboxílica, de las subunidades galacturónicas, y es por eso que la molécula de mucílago tiende a ser fuertemente cargada negativamente. Esta negatividad causa la unión de los iones calcio (Ca^{+2}) en muchos lugares en la molécula del mucílago, y por lo tanto el 20% del calcio insoluble en el tallo del nopal puede estar asociado con el mucílago. Su composición glucosídica es aproximadamente de 47% de arabinosa, 23% de xilosa, 18% de galactosa, 7% de ramnosa y 5% de ácido galacturónico respecto a su peso molecular. Existe una propuesta del mucílago de nopal que incluye dos distintas fracciones solubles en agua; una es pectina con propiedades gelificantes con Ca^{+2} y la otra es un mucílago sin propiedades gelificantes (Ornelas, 2011).

El mucílago puede existir como una sustancia intracelular y muchas veces es una reserva de alimento o de agua. Los mucílagos han sido divididos en tres grupos, de acuerdo a sus características químicas:

1. Los polisacárido neutros que contienen uno o más azúcares residuales, unidos a su vez a través de grupos reductores, con la formación de sustancias de alto peso molecular,



Antecedentes

2. Polisacáridos que contienen residuos de ácido urónico, así como otros residuos de azúcares.
3. Los mucílagos de algas que contienen sales, ésteres y azúcares formadores de moléculas de alto peso molecular. Los mucílagos son en general hetero polisacáridos, conteniendo una variedad de ácido urónico (Aguilar, 2007).

Forma redes moleculares y retiene grandes cantidades de agua; se ha demostrado que el mucílago se encuentra en el aparato de Golgi y la síntesis del mucílago se lleva en él. Este mucílago constituye un hidrocoloide que podría integrar la oferta de una gran gama de agentes espesantes de amplio uso en la industria de alimentos y farmacéutica, tiene gran capacidad de absorción de agua. Su poder espesante está siendo actualmente estudiado, por lo que si se mejoran los rendimientos de extracción podría competir con goma de gran uso como la garrafin, guar u otros agentes espesantes (Ornelas, 2011).

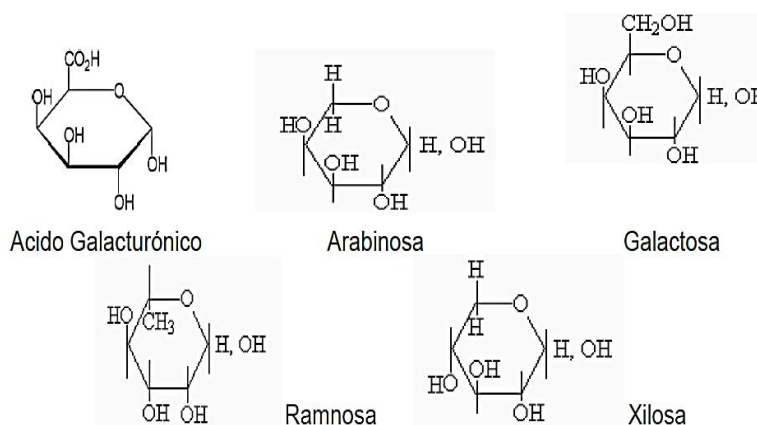


Figura 14.- Compuestos del mucílago.

Fuente: Ornelas (2011).

Una de las ventajas es la de actuar como barrera ante la oxidación, ya que evita el contacto de las enzimas como la PPO con el oxígeno ambiental; por lo que se extiende la vida de anaquel evitando así su oscurecimiento, pérdida de firmeza y mal olor. Los mucílagos mejoran la textura y estabilizan las emulsiones, controlan la cristalización, estabilizan suspensiones, inhiben la sinéresis y crean películas comestibles (Ornelas, 2011).



Antecedentes

2.2.5.2. Aditivos

Frecuentemente se incluyen aditivos con la finalidad de mejorar, reforzar o para conferirle funciones específicas a las películas o recubrimientos comestibles mismo, debido a que son susceptibles a presentar roturas durante su manipulación y almacenamiento, la cual puede afectar seriamente sus propiedades. Para disminuir la fragilidad se requiere la inclusión de un compuesto que actúe como plastificante o emulsificante en la formulación para modificar las propiedades mecánicas. Los recubrimientos y películas comestibles pueden actuar como matriz portadora de moléculas activas tales como aromas, para disminuir la pérdida de los aromas del alimento durante su conservación (Bósquez, 2003). Independientemente del propósito del agregado del aditivo es importante considerar que siempre existe la posibilidad de que pueda alterar las propiedades mecánicas y la resistencia al vapor de agua, gases o transporte de solutos del recubrimiento y la película (Del Valle, 2012). La influencia de un aditivo dado dependerá de su concentración, estructura química, grado de dispersión en la película y grado de interacción con el polímero (Bósquez, 2003). En la tabla 14 se muestran los aditivos más comúnmente empleados en las formulaciones de los distintos recubrimientos.

Tabla 14.- Aditivos empleados en la formulación de películas y recubrimientos comestibles.

Aditivo	Características	Ejemplos
Plastificantes	Sustancias de bajo peso molecular que reducen las interacciones entre las moléculas mejorando las propiedades mecánicas del recubrimiento (incrementa la flexibilidad de la cubierta, mejoran la dureza y disminuyen la formación de escamas y grietas; a nivel molecular debilitan las fuerzas intermoleculares entre las cadenas adyacentes del polímero, disminuyendo la fuerza tensil e incrementando simultáneamente la flexibilidad de la película) y la película resultante.	Mono, di y oligosacáridos (glucosa, fructosa, sacarosa miel, etc.), polioles (glicerol, sorbitol, etc.) y ciertos lípidos y derivados (fosfolípidos, ácidos grasos).
Antioxidantes y agentes antimicrobianos	Evitan el pardeamiento enzimático, y se utilizan como conservadores, proveen funciones activas adicionales, para proteger al producto alimenticio de la oxidación y contaminación microbiana, respectivamente.	Antioxidantes; ácido ferúlico o el α -tocoferol. Antimicrobianos naturales: ácido sórbico y el ácido p-aminobenzoico,



Antecedentes

Tabla 14.- Aditivos empleados en la formulación de películas y recubrimientos comestibles (Continuación).

		la nisina y lisozima, flavonoides y compuestos fenólicos extraídos de especias (extractos y aceites de plantas como: canela, vainilla, clavo eucalipto, mostaza)
Emulsificantes	Moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas, formando una membrana protectora; reducen la tensión superficial en las interfaces agua-lípido y agua-aire. En el caso de recubrimientos y películas proteicos, algunas proteínas tienen suficiente capacidad emulsionante debido a su naturaleza anfifílica.	ácidos grasos, aceites monoacilglicerol, lecitina y sus derivados, etilenglicol, glicerol monoestearato, ésteres de ácidos grasos y sorbitán o polioxeno (Tweens) y ésteres de sacarosa y ácidos grasos

Fuente: Bósquez (2003); Varela *et al.* (2011); Del Valle (2012).

2.2.6 Generalidades de los aceites esenciales

Las plantas han sido capaces de protegerse del ataque de diversos microorganismos patógenos, produciendo grandes cantidades de metabolitos secundarios, antes que el hombre jugara un papel activo en su protección, mediante sustancias químicas con actividad antimicrobiana. En los últimos años ha habido un creciente interés en el uso de compuestos orgánicos biológicamente activos, extraídos de especies de plantas que presentan la capacidad de eliminar a microorganismos patógenos por sí mismas, esto debido principalmente, a la resistencia que los microorganismos han desarrollado a los antibióticos. Entre los metabolitos secundarios importantes relacionados con los mecanismos de defensa, destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Lambert *et al.*, 2001).

Los aceites esenciales de las plantas responsables del olor formado en la planta, tomando materiales exteriores, absorbiéndolos y transformándolos en fragmentos del sistema de la planta como parte de la estructura celular, con una consistencia rígida. Aún no se conoce la utilidad que obtiene la planta de estos compuestos, pero se le atribuyen algunos de los



Antecedentes

siguientes beneficios: para regular su temperatura, liberándolos como vapores, como atractivo para los insectos colaboradores de la polinización, o como repelente para que los insectos dañinos no se aproximen. Otra opinión indica que los aceites esenciales son desechos del proceso metabólico de las plantas, los cuales no pueden desechar al exterior. (Lima, 2005).

2.2.6.1 Definición de aceite esencial

Es una mezcla volátil de compuestos orgánicos generalmente líquido (aunque pueden ser semisólidos o sólidos), de apariencia oleosa, obtenidos de los materiales vegetales (flores, los brotes, semillas, hojas, corteza, hierbas, madera, frutas y raíces) (Gurarnizo y Martínez, 2010.) Poco solubles en agua, volatilizables con vapor, se evaporan a diferentes velocidades bajo presión atmosférica pueden ser afectados fácilmente por la luz y la temperatura. Pueden ser obtenidos por varios métodos, el más utilizado en la producción comercial es por destilación con vapor. Su volatilidad y origen vegetal son las propiedades básicas que caracterizan a estos aceites. El término popular más común con el que se conocen estas sustancias es el de esencias, también se conocen por como aceites volátiles o etéreos (Lima, 2005; Borboa-Flores *et al.*, 2010).

Se conocen aproximadamente 3000 aceites esenciales, de los cuales 300 son comercialmente importantes en el mercado de las fragancias. Los aceites esenciales han demostrado poseer características insecticidas, antioxidantes, anti-bacteriano, antifúngico y antiviral. Se ha demostrado que los géneros *Origanum* (orégano), *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Cinnamomum verum* (canela), entre otros, (Tabla 15) tienen propiedades antioxidantes, relacionadas con los compuestos fenólicos, carvacrol y el timol que pueden ser utilizados bajo ciertas condiciones como fungicidas y bactericidas (Lima, 2005; Borboa-Flores *et al.*, 2010).



Antecedentes

Tabla 15.- Aceites esenciales y su componente con actividad antimicrobiana.

Nombre común	Nombre científico	Parte	Componente
Canela	Cinnamon	Hojas	Cinamaldehído
Orégano	Oriaganum	Hojas	Carcacrol
Clavo	Syzygium	Corteza/Hoja	Eugenol
Tomillo	Thymus vulgaris	Flor/Hoja	Timol
Eucalipto	Eucalyptus globulus	Hojas	Cineol

Fuente: Hernández- Lauzardo *et al.* (2007).

2.2.6.2 Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son mezclas complejas que pueden contener entre 20 y 60 compuestos de diferentes estructuras químicas en concentraciones muy diferentes. Sus propiedades son atribuidas a dos o tres componentes mayoritarios (20-70%), ya que estos determinan la actividad biológica de los mismos. Entre los componentes mayoritarios se encuentran los terpenos y otros componentes aromáticos, que están a menudo en las glándulas o espacios intercelulares en el tejido de las plantas (Hernández, 2011; Guarnizo, 2010). En la Tabla 16 se muestra la clasificación empleada para los aceites esenciales.

Tabla 16.- Clasificación de los aceites esenciales.

Clasificación	Denominación	Características
Por consistencia	Esencias fluidas	Son líquidos volátiles a temperatura ambiente
	Bálsamos	De consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, como: el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, bálsamo de Tolú, etc.
	Oleorresinas	Tienen el aroma de las plantas en forma, son líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavo, etc.).
Por su origen	Naturales	Se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos.
	Artificiales	Se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol.
	Sintéticos	Son los producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes.

Fuente: Rodríguez *et al.* (2012).



Antecedentes

2.2.6.3 Mecanismo de acción del aceite esencial sobre microorganismos

El modo de acción de los Aceites Esenciales (AE) también dependerá del tipo de microorganismos y está principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos. Los aceites esenciales al ser mezclas complejas de numerosas moléculas con gran diversidad de grupos químicos, la actividad antimicrobiana no se debe a un mecanismo específico, ya que en las células hay diferentes sitios donde pueden actuar y los eventos pueden llevarse a cabo en forma independiente, simultánea o consecuente, proponen como posible sitio de acción, la membrana celular donde los terpenoides surtirían efecto desencadenando una serie de procesos que podrían provocar la muerte bacteriana. El carácter hidrofóbico de los aceites esenciales les permite incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales perturbando su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo (Bósquez *et al.*, 2009). También podrían actuar sobre las proteínas embebidas en la membrana citoplasmática interfiriendo en la interacción lípido-proteína y afectando la actividad de enzimas como la ATPasa, disminuyendo la producción de energía requerida para el funcionamiento celular. Otra posible acción sería la interacción directa de los componentes lipofílicos con las partes hidrofóbicas de la molécula de proteína (Castaño, 2012).

2.2.6.4 Métodos de extracción

La esencia o aceite de eucalipto, se obtiene por destilación con vapor de las hojas frescas de *E. Globulus* o de cualquier especie de eucalipto. Se recolecta de preferencia las hojas no demasiado jóvenes que contienen menos esencia. La esencia es un líquido incoloro o color amarillo pálido, neutro, transparente con olor fuerte aromático, sabor a especies, dejando sensación a frescura en la lengua (Flores *et al.*, 2004). En la Tabla 17 se muestran los métodos de extracción de aceites.



Antecedentes


Tabla 17.- Métodos de extracción de aceites.

Método de extracción	Descripción	Condiciones	Ventajas	Desventajas
<p>Extracción con solventes volátiles</p> 	<p>La muestra seca y molida se pone en contacto con solventes, que solubilizan la esencia y extraen otras sustancias como grasas y ceras, obteniendo una esencia impura.</p>	<p>Se realiza a temperatura ambiente y presión atmosférica, de forma continua o discontinua (percolación, lixiviación, extracción tipo soxhlet). Se emplean: etanol, metanol, hexano, tolueno, xileno, éter etílico, acetona y cloroformo.</p>	<p>Uso de temperaturas bajas. Posibilidad de separación de componentes individuales.</p>	<p>Costoso por el valor de los solventes, se emplea a escala laboratorio. Contamina el ambiente. Riesgo de incendio y explosión.</p>
<p>Enflorado o Enflourage</p> 	<p>El material vegetal (flores) se pone en contacto con grasa, que es el vehículo extractor, al solubilizar la esencia. Se obtiene al inicio una mezcla de aceite esencial y grasa, que es separada por otros medios físico-químicos.</p>	<p>Dura de 3 a 5 días, con temperaturas de 40°C, se usa manteca de cerdo, refinada, blanqueada, desodorizada. La grasa se extiende en bandejas de profundidad de 0.5 cm y se coloca el material vegetal sobre de él pasado el tiempo, se retira el material y se reemplaza por material fresco, hasta saturar la grasa. Se lava la grasa con etanol, se filtra y destila a vacío.</p>	<p>Gran calidad del aceite obtenido</p>	<p>Ya no empleado. Muy laborioso. Requiere mucha mano de obra. Bajo rendimiento. Difícil separación del aceite. Costosa.</p>
<p>Prensado</p> 	<p>El material se exprime mecánicamente para liberar el aceite, se recolecta y filtra. Se utiliza para extracción de esencias cítricas.</p>	<p>El material es sometido a presión, bien sea en prensas discontinuas (tipo batch) o continúa.</p>		
<p>Por fluido supercrítico</p> 	<p>El material vegetal cortado, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo CO₂). Las esencias son solubilizadas y arrastradas por el FSC, que actúa como solvente extractor.</p>	<p>El tiempo de extracción puede tardar 24 horas. El FSC más utilizado es el CO₂ a elevada presión, en estado líquido o supercrítico, en lugar de disolventes clorados, que producen residuos tóxicos.</p>	<p>Alto rendimiento o. Ecológicamente limpio. Fácil retiro y reciclaje de solventes. No hay alteración química del aceite</p>	<p>Alta inversión inicial. Los ácidos grasos, pigmentos y ceras pueden ser extraídas junto con el aceite</p>



Antecedentes

Tabla 17.- Métodos de extracción de aceites (Continuación).

Método de extracción	Descripción	Condiciones	Ventajas	Desventajas
<p>Destilación por arrastre con vapor de agua o extracción por arrastre, hidrodestilación.</p> 	<p>Se usan diferentes condiciones del vapor de agua.</p> <p>**Destilación por arrastre de vapor: La muestra se somete a una corriente de vapor de agua sobrecalentado la esencia es, luego condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa.</p> <p>**Hidrodestilación: Se libera el aceite esencial, por su alta volatilidad.</p> <p>** Hidroextracción: el material vegetal está en contacto con reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se asumía que el agua era un agente extractor</p>	<p>** Se usa vapor saturado o sobrecalentado, fuera del equipo principal.</p> <p>**La muestra no se calienta directamente.</p> <p>**Tiempos de extracción más cortos.</p> <p>** Se usa vapor saturado a presión atmosférica, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor.</p> <p>** Se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora.</p>	<p>Simple y económico</p>	<p>Calentamiento difícil de controlar.</p> <p>El Sobrecalentamiento que puede quemar el material.</p> <p>Mayor coste energético.</p> <p>Periodos de extracción largos.</p> <p>Solubilización parcial de los compuestos polares.</p>

Fuente: Cerpa (2007); Flores *et al.* (2004); Hernández (2011).

2.2.6.5 Eucalipto

Árbol verde todo el año que puede superar los 100 m de altura, tronco liso y de color ceniciento, con tallo grueso y ramas potentes. Hoja perenne y con formas diferentes según la edad del árbol, cuya corteza al envejecer se desprende en grandes tiras longitudinales y en placas. Flores grandes y solitarias o en grupos de 2 ó 3, recubiertas de una capa cerosa y de consistencia leñosa (Figura 15). El fruto es algo mayor que la flor, leñoso, plano por un lado y puede abrirse por 4 ó 5 dientes. Las hojas, los tallos y las flores saben a esencia, y recuerdan el arrayán, que pertenece a la misma familia. Florece en otoño e invierno (Paredes y Quinatoa, 2010). El género *Eucalyptus*, que agrupa en torno a las 600 especies, pertenece a la familia *Myrtaceae*, subfamilia *Leptospermoidae*. Se trata de un género botánico muy rico y diverso que presenta una asombrosa frecuencia de aparición de híbridos fértiles. Aunque perteneciente a un grupo antiguo, el género presenta caracteres



Antecedentes

bastantes evolucionados como el opérculo de la flor, habiéndose diversificado recientemente debido a la sequía y al empobrecimiento de suelos a finales del Pleistoceno (Lima, 2005).

Son originarios del este Australia, Tasmania y diversas islas de la zona: Nueva Guinea, Timor, Solor, Flores, Nueva Bretaña, Molucas y Mindanao. Aunque bien representados en Tasmania, la mayor diversidad se da en Australia. De sus lugares de origen ha sido distribuido artificialmente por todo el mundo, especialmente en zonas de clima mediterráneo, subtropical y tropical como en América (Flores *et al.*, 2004; Lima, 2005).

Los *Eucalyptus* son cultivados para obtener su aceite esencial, goma de mascar, pulpa para papel y madera, además de tener gran valor en la medicina y la estética. Se conocen desde hace cientos de años como antibacterianos, antifúngicos y antisépticos naturales y se utilizan como repelentes de insectos y como pesticidas. En condiciones naturales, el aceite esencial confiere propiedades alelopáticas al árbol. Aceites esenciales de diversas especies de *Eucalyptus* han mostrado fitotoxicidad frente a arvenses, lo que les confiere un gran potencial para su manejo y control, entre ellos *E. citriodora*, *E. tereticornis* y *E. camaldulensis*, entre otras, han mostrado efectos contra una amplia variedad de hongos filamentosos de los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora* y *Botrytis* conocidos como fitopatógenos en diferentes cultivos de importancia comercial (González, 2011). El eucalipto tiene glándulas que segregan aceites esenciales en sus hojas, los cuales producen su característico olor y poseen componentes que pueden ser diferenciados en productos químicos de valor industrial (Moreno *et al.*, 2011). De las plantas del genero *Eucalyptus* se obtienen varios aceites esenciales, extractos e infusiones con actividad antimicótica, compuestos principalmente por el componente activo 1,8-cineol que se encuentra en un rango de concentración entre 54 y 95%.



Figura 15.- Árbol de eucalipto.
Fuente: Paredes y Quinatoa (2010).

2.2.6.5.1 Usos medicinales tradicionales

Se emplean las hojas en infusiones o decocciones contra resfriados y afecciones bronquiales, en uso interno o por inhalación, tiene una importante acción antiséptica de las vías respiratorias y es una de las plantas más efectivas para las afecciones bronquiales y pulmonares. Antihelmíntico y astringente, desodorante, balsámico y broncodilatador, expectorante y febrífugo, hipoglucemiante, mucolítico y sudorífico. En uso externo es antiinflamatorio, antiséptico y cicatrizante (Paredes y Quinatoa, 2010).

2.2.6.5.2 Composición química del aceite esencial de eucalipto

El tallo, el fruto y las hojas contienen aceites esenciales, glicósidos saponínicos, flavonoides, taninos, triterpenos y sesquiterpenlactonas. El aceite esencial posee una densidad de 0.905–0.925 a 25° C, y un índice de refracción de 1.4580-1.4700. Las hojas contienen del 1 al 3 % de aceite esencial. La esencia de eucalipto contiene de 3-6% de un aceite volátil del cual un 70% es eucaliptol ($C_{10}H_{18}O$) ó 1,8-cineol, citronelol, citronela, acetato de citronela, p-cimeno, eucamalol, limoneno, linalol, α -pineno, γ -terpineno, *allo*-ocimeno y aromadendreno, el resto consiste en alfa pineno (*eucalipteno*). Además del aceite volátil contiene numerosas resinas, un principio neutro y amargo ácido tánico (Flores *et al.*, 2004; González, 2011). En la Tabla 18 se describen algunas especies vegetales y los grupos químicos presentes en ellos.



Antecedentes

Tabla 18.- Extractos vegetales analizados de algunas especies de plantas antifúngicas y grupos químicos encontrados.

Especies vegetales	Grupos químicos
Pithecellobium dulce	Taninos, sulfuros y glicósidos
Acacia farnesiana	Saponinas, taninos, glicósidos y sulfuros
Hibiscus rosa-sinensis	Glicósidos
Tribulus cistoides	Saponinas, flavonoides, taninos y glicósidos
Spathodea campanulata	Taninos, glicósidos y saponinas
Chenopodium álbum	Saponinas y flavonoides
Eucalyptus globulus	Terpenoides y alcaloides

Fuente: Montes-Belmont *et al.* (2000).

Actualmente se han realizado la identificación de los principales componentes del aceite esencial de eucalipto, Tabla 19 además de que el método de extracción de los compuestos activos fue el mismo que el aplicado en el proyecto.

Tabla 19.- Composición del aceite esencial de eucalipto por cromatografía de gases con detector por espectrometría de masas GCMS.

Componentes	% área			
	E. Globulus hojas	E. Globulus flores	E. Camaldulensis hojas	E. Camaldulensis ramas
α -Pino	8.18	0.79	2.9	5.04
α -Terpineol	1.46	3.73	1.58	1.01
β -Pino	0.14		1.73	0.33
Limoneno			1.65	
Terpinoleno	0.05	1.09	0.11	0.31
α -Felandreno	0.18	0.15	0.14	4.43
γ -Terpino	0.18		0.92	4.14
Terpinen-4-ol				1.13
β -cariofileno	0.09			
β -cariofileno	0.09			
Camfeno	0.06			
Cis geraniol	0.01		0.90	0.19
Linalol			1.86	
Eucalyptol	84.11	53.15	43.28	71.42
Timol			0.70	
Carvacrol		1.73		



Antecedentes

Tabla 19.- Composición del aceite esencial de eucalipto por cromatografía de gases con detector por espectrometría de masas GCMS (Continuación).

Componentes	% área			
	E. Globulus hojas	E. Globulus flores	E. Camaldulensis hojas	E. Camaldulensis ramas
Terpenil acetato		0.89		4.10
α -Terpineol acetato	4.51		2.03	1.00
Cripton		5.53	8.03	
Globulol		9.26	1.10	0.59
Cariofileno óxido		2.88	3.31	
Espatulenol		4.49		

Fuente: Andreatta *et al.* (2012).



Antecedentes

A continuación la Tabla 20 presenta algunos ejemplos de recubrimientos comestibles aplicados a diversas frutas.

Tabla 20.- Aplicación de diversas formulaciones de recubrimientos comestibles.

Fruto	Materiales de recubrimiento	Efecto	Referencias
Fresa (<i>Fragaria ananassa</i>)	Mucílago de cactus (<i>Opuntia ficus indica</i>) + Glicerol	Permitió mantener la textura y firmeza de frutos recubiertos. Propiedades colorimétricas estables.	Del valle <i>et al.</i> (2010).
Fresa (<i>Fragaria ananassa</i> cv. <i>Camarosa</i>)	Almidón de yuca+ Glicerol + CaCl ₂ Carragenina + Glicerol+ CaCl ₂ +Tween 80 Quitosano + Tween 80+CaCl ₂ (Quitosano, 1.0% w/v)	La adición de CaCl ₂ disminuyó la tasa de crecimiento de microorganismos. La mínima rata de crecimiento microbiano se obtuvo con quitosano adicionado con CaCl ₂ . La mínima pérdida de firmeza se obtuvo en frutos recubiertos con Carragenina+CaCl ₂ .	Ribeiro <i>et al.</i> (2007)
Zanahoria (<i>Daucus carota</i> L.)	Almidón de name + Glicerol (Quitosano, 0.5% - 1.5% w/v)	1.5% w/v de quitosano permitió controlar la microbiota presente en zanahoria mínimamente procesada.	Durango <i>et al.</i> (2006)
Mango (<i>Mangifera indica</i> Var. <i>Tommy Atkins</i>)	RC de goma policaju (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	RC de goma policaju mostro una significativa disminución en la pérdida de masa en mangos recubiertos y almacenados a baja temperatura (4°C, 82% HR) durante 28 días.	Souza <i>et al.</i> (2010).
Banano (<i>Musa x paradisiaca</i> L. cv. <i>Pisang Berangan</i>)	Goma arabiga + quitosano (1.0 % w/v)	Se redujo el ataque por antracnosis causada por <i>Colletotrichum musae</i> durante un periodo de almacenamiento de 28 días. Se mantuvo firmeza y frescura del producto durante 5 días en condiciones de comercialización (25 °C y 60% HR).	Maqbool <i>et al.</i> (2010).

Objetivos





3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Extraer aceite esencial de eucalipto para su aplicación como agente antifúngico en un envase activo a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa para controlar la podredumbre gris y alargar la vida útil de frambuesa.

3.2 Objetivos Particulares

- 🌸 **Objetivo particular 1:** Extraer el aceite esencial de eucalipto mediante el método de hidrodestilación, para determinar las mejores condiciones (tamaño de partícula: 0.840 y 0.420 mm con tiempo de extracción: 90, 120 y 180 minutos) que permitan la obtención de mayores rendimientos.
- 🌸 **Objetivo particular 2:** Evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de eucalipto a tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm) mediante pruebas *in-vitro* para seleccionar el de mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*.
- 🌸 **Objetivo particular 3:** Elaborar películas modelo a base de carboximetilcelulosa y mucílago de nopal en tres concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionadas con aceite esencial de eucalipto y caracterizar sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) seleccionando la que presente las mejores propiedades para su aplicación como recubrimiento en frambuesa.
- 🌸 **Objetivo particular 4:** Evaluar el efecto de los envases activos a base de carboximetilcelulosa, mucílago de nopal y aceite esencial de eucalipto aplicados en las frambuesas en los parámetros físicos (color, firmeza, pérdida de peso e índice de deterioro), fisicoquímicos (sólidos solubles, acidez titulable, pH), fisiológicos (tasa de respiración), nutricionales (capacidad antioxidante y antocianinas) y características sensoriales, almacenadas en refrigeración que permitan alargar su vida útil.

Materialles y Métodos





4. Materiales y Métodos

Planteamiento del Problema:

Extracción de aceite esencial de eucalipto para su aplicación en recubrimientos comestibles en frambuesa (*Rubus idaeus*) para el control de podredumbre gris.

Objetivo General:

Extraer aceite esencial de eucalipto para su aplicación como agente antifúngico en un envase activo a base de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa para controlar la podredumbre gris y alargar la vida útil de frambuesa.

Objetivo particular 1:

Extraer el aceite esencial de eucalipto mediante el método de arrastre de vapor, para determinar las mejores condiciones (tamaño de partícula: 0.840 y 0.420 mm y tiempo de extracción: 90, 120 y 180 minutos) para la obtención de mayores rendimientos.

Objetivo particular 2:

Evaluar el efecto antifúngico del aceite esencial de eucalipto a tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm) mediante pruebas *in vitro* para seleccionar el de mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*.

Objetivo particular 3:

Elaborar películas modelo a base de CMC y mucílago de nopal en tres concentraciones (0.5, 0.75 y 1%) adicionadas con aceite esencial de eucalipto y caracterizar sus propiedades físicas (color, transparencia y espesor) y de barrera (permeabilidad al vapor de agua) seleccionando la que presente las mejores propiedades para su aplicación como recubrimiento en frambuesa.

Objetivo particular 4:

Evaluar el efecto de los envases activos a base de CMC, mucílago de nopal y aceite esencial de eucalipto en los parámetros físicos (color, firmeza, pérdida de peso e índice de deterioro), físicoquímicos (sólidos solubles, acidez titulable, pH), fisiológicos (tasa de respiración), nutricionales (capacidad antioxidante y antocianinas) y características sensoriales de frambuesas almacenadas en refrigeración que permitan alargar su vida útil.

Actividades:

Hidrodestilación del aceite esencial de eucalipto (Cerpa, 2007).

Actividades:

Pruebas *in vitro* del aceite esencial de eucalipto a 500, 1000 y 2000 ppm.

Actividades:

Elaboración y caracterización de las películas comestibles a 3 distintas concentraciones (0.5, 0.75 y 1%).

Actividades:

Pruebas *in vivo* con carboximetilcelulosa y mucílago de nopal con y sin adición de aceite esencial.

Análisis y discusión de resultados

Propiedades de Barrera:

- Permeabilidad al vapor de agua (Arredondo, 2012)

Propiedades físicas:

- **Color** (Rhim *et al.*, 1999; Caamal-Herrera *et al.*, 2011)
- **Espesor** (Domínguez y Ferrer, 2010)

- pH (Sienko, 2005)
- Color (Colorímetro Minolta)
- Sólidos solubles (NMX-F-103-1982)
- Acidez (AOAC, 2000; Canales, 1999)
- Pérdida de peso (Valera *et al.*, 2011)
- Liberación de líquido (Sánchez, 2013)
- Capacidad antioxidante (RE *et al.*, 1999; Kukoski *et al.*, 2011)
- Antocianinas (Cano, 2011)

Conclusiones



Materiales y métodos

4.1 Material Biológico.

Las frambuesas (*Rubus idaeus*) fueron adquiridas en estado fresco y apariencia sana en la central de abastos de la Ciudad de México. Las plantas de eucalipto para la obtención del aceite esencial fueron adquiridas en el mercado del Carmen de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Posteriormente ambos materiales fueron llevados al Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, donde se acondicionaron para su posterior tratamiento (Figura 16).

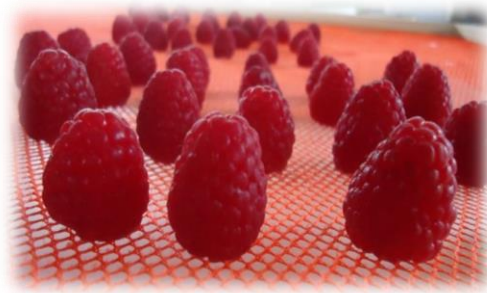


Figura 16. Frambuesas empleadas en la experimentación.

4.2 Obtención de aceite esencial

Para obtener el aceite esencial de eucalipto se empleó el método de hidrodestilación con 50 g de hojas secas y molidas de eucalipto en 1L de agua como medio acuoso. Las plantas se pulverizaron en un molino para café (Krupps modelo 203), hasta obtener un polvo fino que pasó por el tamiz (ISICAS) de malla 20 y 40, correspondientes a los tamaños de partícula: 0.840 y 0.420 mm.

El hidrodestilador empleado se conformó de un balón, donde se depositaron 50g de hojas de eucalipto previamente molidas.. La materia prima molida formó un lecho fijo compacto y se le adicionaron 1000 mL de agua pura. Se suministró calor con ayuda de una parrilla, para generar vapor, el cual estuvo en íntimo contacto con el material vegetal, la mezcla se calentó constantemente y el aceite esencial debido a su alta volatilidad se fue evaporando, al ser soluble en el vapor circundante, el aceite fue “arrastrado”, corriente arriba hacia el tope del hidrodestilador. La mezcla, vapor saturado y aceite esencial, fluyeron hacia el *condensador*, mediante un “cuello de cisne” o prolongación curvada del conducto de salida



Materiales y métodos

del hidrodestilador como se muestra en la Figura 17. En el condensador, la mezcla se condensó y enfrió, a temperatura ambiental; en la salida del *condensador*, se recibió una emulsión líquida inestable en el decantador dinámico o *florentino*, al inicio de la hidrodestilación está lleno de agua fría, conforme pasa el tiempo el aceite esencial se va acumulando y debido a su inmiscibilidad, diferencia de densidad y viscosidad con el agua se va separando; el vapor condensado acompañado del aceite esencial se llama “agua floral” y posee una pequeña concentración de los compuestos químicos solubles del aceite esencial, lo cual le otorga un ligero aroma semejante al aceite obtenido (Cerpa, 2007). Para establecer las condiciones que permitieran obtener los mejores rendimientos de extracción de aceite esencial se evaluaron diferentes tiempos (90, 120 y 180 minutos, transcurrido el tiempo para cada corrida se registró el volumen de aceite del florentino y se almacenó en un recipiente oscuro o ámbar almacenándolo a 2°C para congelar el agua que pudiese haber salido con el aceite y después se separó el aceite y almacenó a 2° C.



Figura 17.- Equipo Clevenger en vidrio Pirex.

Fuente: Elaboración propia.

A continuación se muestra el diagrama de proceso empleado para obtener el aceite esencial de eucalipto.

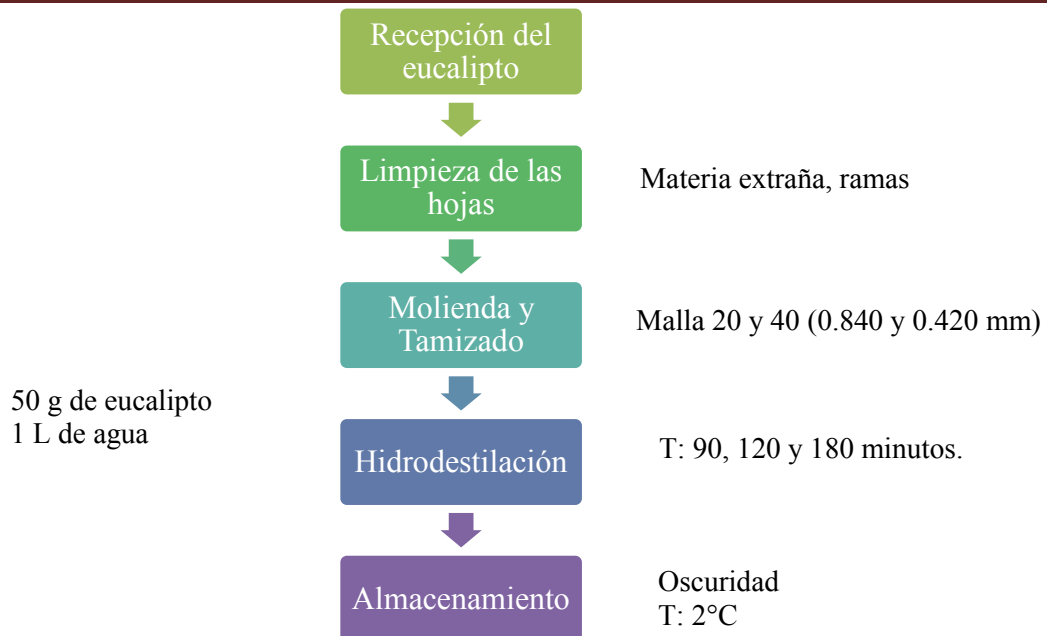


Figura 18.- Diagrama de proceso para obtener el aceite esencial de eucalipto.

El rendimiento del aceite esencial se obtuvo empleando la fórmula descrita a continuación (Fernández-Sánchez *et al.*, 2013).

$$\text{Rendimiento de aceite esencial} = [(v \cdot d) / m] \cdot 100 (\%) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Dónde:

v= volumen de aceite esencial obtenido (mL)

d= densidad del aceite esencial (mg/mL)

m= masa empleada de eucalipto (mg)

4.3 Evaluación de las propiedades antifúngicas del aceite esencial de eucalipto

4.3.1 Crecimiento del hongo *Botrytis cinerea*

Para llevar a cabo las pruebas *in vitro* fue necesario realizar una siembra de *Botrytis cinerea*, en agar papa dextrosa (PDA) (NOM-111-SSA1-1994), y se tomaron muestras de micelio de otro cultivo ya crecido (Sánchez, 2013) durante 10 días y se incrustó en el agar y se dejó crecer el hongo a una temperatura de 25°C durante 10 días, Figura 19 (Barrera-Necha y García-Barrera, 2008).



Figura 19.- Crecimiento de *Botrytis cinerea* después de 10 días.

4.3.2 Pruebas in vitro de las propiedades antifúngicas del aceite esencial.

La actividad antifúngica se determinó con base en la evaluación del crecimiento del micelio mediante el método de difusión en agar con algunas modificaciones citadas por Ospina *et al.* (2011), esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido, y posteriormente se evidencia por la formación de halos claros (Cano, 2007).

Las pruebas *in vitro* se realizaron en cajas Petri estériles de 8 cm de diámetro, adicionadas con 20 mL de agar PDA previamente esterilizado mezcladas con el aceite esencial de eucalipto, se evaluaron tres concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm) para determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea*, como se muestra en la Figura 20 (A). El agar adicionado con el aceite esencial se dejó solidificar para que después con ayuda de un sacabocados de aproximadamente 1 cm de diámetro (Figura 20 B) obtener una muestra del cultivo de *Botrytis cinerea* dejado crecer 10 días a 25°C llevando al mismo tiempo un control (sin adición de aceite esencial) para comparar los resultados. El crecimiento micelial del hongo (diámetro de la colonia) fue medido con Vernier diariamente 10 días, realizando el experimento por duplicado (Barrera-Necha y García-Barrera, 2008; Sánchez, 2013).

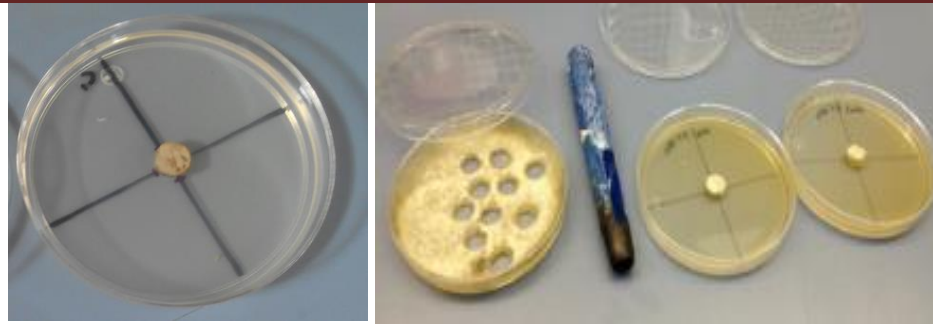


Figura 20.-Pruebas *in vitro*. (A) Marcado para medir el crecimiento micelial del hongo. (B) Obtención de discos de *Botrytis cinerea* para las pruebas *in vitro*.

El porcentaje de inhibición del crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea* se calculó con la fórmula propuesta por Ospina *et al.* (2011):

$$\text{Inhibición (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Diámetro micelio tratado}}{\text{Diámetro micelio control}}\right) * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

4.4 Elaboración de películas comestibles modelo

Para elaborar las películas comestibles se empleó mucílago de nopal y carboximetilcelulosa comercial obtenidas de Cosmopolita S.A de C.V., el surfactante Tween 80 (marca Hycel), el plastificante utilizado fue glicerol anhidro (marca J.T. Baker) y el aceite esencial de eucalipto obtenido por hidrodestilación.

La elaboración de las películas comestibles de carboximetilcelulosa y mucílago de nopal se llevó a cabo siguiendo la metodología de Sánchez-Flores *et al.* (2010); empleando agua destilada calentando a temperaturas de 60 y 50°C manteniendo en agitación constante alrededor de 30 minutos hasta su hidratación; manejando tres concentraciones 0.5, 0.75 y 1% para los polisacáridos, adicionando los aditivos de glicerol 1% y Tween 0.6%. Las dispersiones de dejaron enfriar a temperatura ambiente y se les adicionó aceite esencial de eucalipto en la concentración que presentó mayor inhibición del crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea* agitando uniformemente durante 5 minutos.



4.5 Caracterización de las propiedades de las películas modelo

Una vez desarrolladas las formulaciones para las películas se tomaron 30 mL de cada formulación y fueron vaciados en platos de plástico de aproximadamente 15 cm, y se dejaron secar por 3 días a temperatura ambiente sobre una base nivelada hasta su completo secado para después ser evaluados en las propiedades antes mencionadas (Figura 21).



Figura 21.- Secado de las películas comestibles a base de carboximetilcelulosa y mucílago de nopal.

Las películas elaboradas a base de carboximetilcelulosa y mucílago de nopal con el aceite esencial de eucalipto se evaluaron en sus propiedades físicas como: color, espesor y transparencia y propiedades de barrera: permeabilidad al vapor de agua de acuerdo a la técnicas descritas en el apartado 4.7.

4.6 Pruebas *in vivo* en frambuesa fresca

4.6.1 Tratamiento de la muestra

Las frambuesas fueron seleccionadas de acuerdo a lo establecido en la Norma del CODEX para las frambuesa frescas y congeladas rápidamente CIDES STAN 69-1981 y las reglas para la calidad y regulación en la frambuesa DF 64/90 (SENASA, 2012) y se realizó además una inspección visual para eliminar aquellos frutos que presentaron daños físicos (Figura 22).

Los lotes de frambuesas fueron colocadas sobre mallas teniendo cuidado de no dañarlas, y fueron sometidas a una desinfección por aspersión con una solución de cloro al 2% durante un tiempo de 1 minuto. Cada lote fue enjuagado por aspersión utilizando agua estéril durante 1 minuto, posteriormente se dejaron secar durante 40 minutos en una campana de flujo laminar.



Material es y métodos



Figura 22.- Frambuesas que no cumplieron con los requerimientos establecidos por la norma de CODEX.

Los lotes de frambuesas fueron colocadas sobre mallas teniendo cuidado de no dañarlas, y fueron sometidas a una desinfección por aspersión con una solución de cloro al 2% durante un tiempo de 1 minuto. Cada lote fue enjuagado por aspersión utilizando agua estéril durante 1 minuto, posteriormente se dejaron secar durante 40 minutos en una campana de flujo laminar.

4.6.2 Obtención del inóculo

Los lotes seleccionados de las frambuesas fueron inoculados con el hongo *Botrytis cinerea* para corroborar la efectividad del recubrimiento comestible con el aceite esencial. Para obtener el inóculo se requirieron 10 cajas del hongo *Botrytis cinerea* crecido durante 10 días, a cada caja se le adicionó aproximadamente 2.5 mL de una solución Tween al 0.5% (previamente esterilizado), posteriormente cada caja fue raspada con un bisturí para poder arrastrar las esporas del hongo, finalmente el volumen de cada caja se filtró con ayuda de gasas estériles obteniendo así el inóculo (Figura 23).

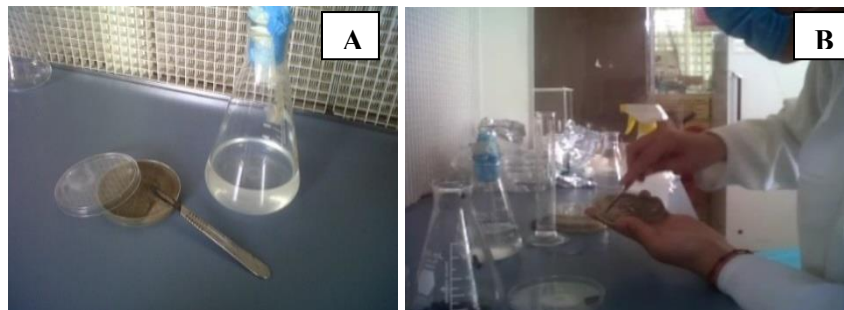


Figura 23.- (A) Solución de Tween al 0.5% y el cultivo de *Botrytis cinerea* crecido 10 días. (B) raspado de cajas de *Botrytis cinerea*.



Materiales y métodos

Una vez raspadas todas las cajas con el hongo y obtenido el inóculo se procedió al conteo de esporas mediante la cámara NeuBauer (Figura 24) que sirve para determinar el número de conidias por volumen contenidas en una determinada suspensión; es una lámina dividida de vidrio que tiene dos cámaras de 0.1 mm de profundidad. Cada cámara está en nueve cuadros. La superficie cubre un área total de 9 mm². Adicionalmente, el cuadrado del centro está subdividido en cinco por cinco cuadrados agrupados de 0.2 mm de lado y una superficie de 0.04mm² cada uno. Los cuadrados del centro a su vez están subdivididos en 16 cuadrados más pequeños de 0.0025 mm². Cinco de estos cuadrados se utilizan para el conteo de las conidias.

Para realizar el conteo de esporas, se colocó sobre la cámara de NeuBauer un cubreobjetos específico para después colocar una gota del inóculo en la parte central. Posteriormente se colocó en el microscopio, se llevaron a cabo los ajustes de luz (luz y resolución) para poder ver la cuadrícula. Si el inóculo se encontraba muy concentrado, se realizaban diluciones, facilitando así el conteo hasta obtener una concentración de esporas de 65×10^4 /mL (Blejo, 2007).

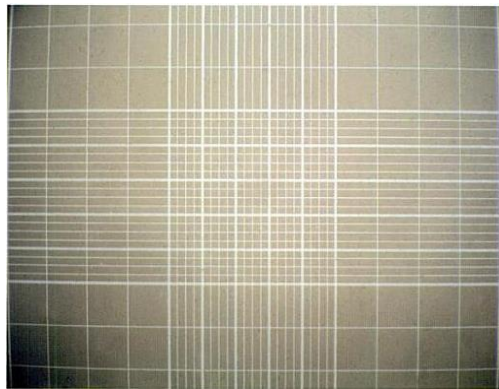


Figura 24.- Cámara de Neubauer vista al microscopio (40X).
Fuente: Blejo (2007).

4.6.3 Aplicación de los recubrimientos comestibles en las frambuesas frescas

Para llevar a cabo el recubrimiento de las frambuesas se siguió el siguiente proceso:



Material es y métodos

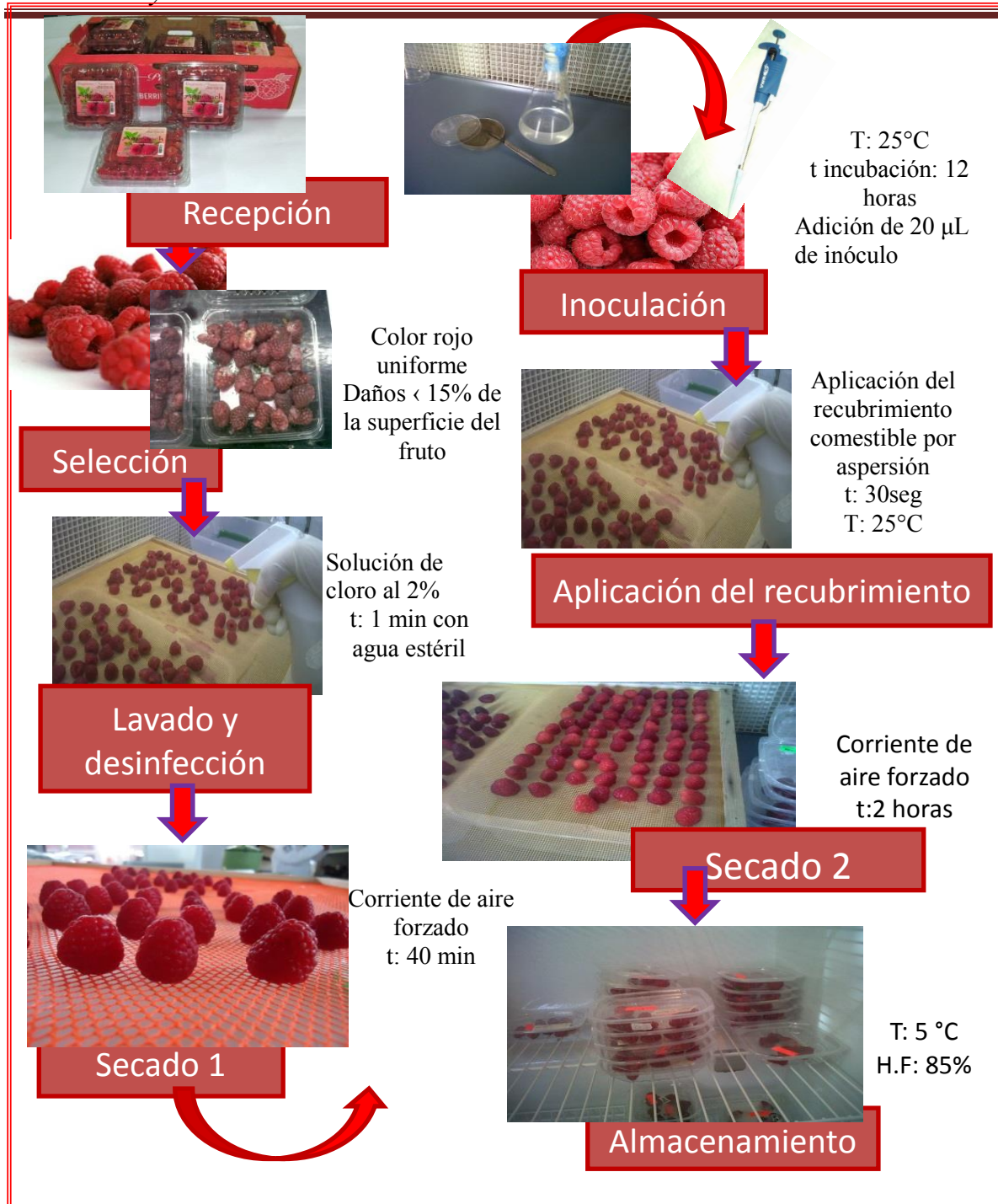


Figura 25.- Diagrama de aplicación de recubrimiento comestible a las frambuesas.

Descripción del diagrama de aplicación de los recubrimientos comestibles a las frambuesas:

 **Recepción:** Se recibieron las cajas de frambuesas.



Materiales y métodos

- 🌸 **Selección:** Se seleccionaron las frambuesas que cumplieron con lo establecido en la norma CODEX STAN 69-1981 con características homogéneas tales como el color, tamaño, textura, forma y libres de cualquier daño que alterara su aspecto e integridad.
- 🌸 **Lavado y desinfección:** Las frambuesas se colocaron en mallas donde se les retiraron hojas y ramas que pudiesen haber tenido, posteriormente se les asperjó agua estéril por 1 minuto para retirar la tierra que trajeran, seguido de esto se procedió a su desinfección con una solución de cloro al 2 % durante 1 minuto por aspersión y se enjuagaron con agua estéril.
- 🌸 **Secado 1:** Se dejaron secar las frambuesas durante 40 minutos en una campana de flujo laminar.
- 🌸 **Inoculación:** Se colocaron 20 μ L del inóculo de *Botrytis cinerea* en el pedúnculo de la frambuesa y se colocaron en una cámara húmeda en incubación durante 12 horas a una temperatura de 25°C.
- 🌸 **Aplicación del recubrimiento:** Las frambuesas se colocaron en una malla y se les aplicó el recubrimiento por aspersión durante 30 segundos cada frambuesa a una temperatura de 25°C.
- 🌸 **Ecurrido y secado 2:** Se dejaron escurrir las frambuesas para retirar el exceso de recubrimiento y se dejaron secar por 2 horas en la campana de flujo laminar.
- 🌸 **Almacenamiento:** Las frambuesas se colocaron en tarrinas de PET a una temperatura de 4°C y una humedad relativa del 85% durante 15 días.

4.7 Técnicas analíticas

4.7.1 Propiedades físicas de las películas

4.7.1.1 Determinación de color

La determinación de color se realizó empleando un colorímetro Minolta INC (CM-600D) (Figura 26), Para la medición se siguió la metodología descrita por Rhim *et al.* (1999) y Caamal-Herrera *et al.* (2011), la cual consistió en cortar porciones cuadrulares de película comestible de 2x2cm, a las que se le tomó la lectura de acuerdo a la escala Hunter



Materiales y métodos

($L^*a^*b^*$), empleado un plato blanco para calibrar el equipo. Con base a los datos obtenidos fueron calculados los siguientes parámetros:

Luminosidad (L): Su valor oscila entre 0 y 100, representando 0 al negro (reflexión nula) y 100 a un blanco ideal (reflexión difusa perfecta) y es el único parámetro que se obtiene de manera directa por el colorímetro. La coordenada a^* define la desviación del punto acromático correspondiente a la luminosidad: hacia el rojo si a^* es positiva, y hacia el verde si a^* es negativa. Análogamente, la coordenada b^* define la desviación hacia el amarillo si b^* es positiva, y hacia el azul si b^* es negativa (Valero, 2011; Chuchuca *et al.*, 2012).

Tono ($^{\circ}$ Hue), la tonalidad, matiz, tinte: Es el primer atributo que describe un observador, es un atributo de la sensación visual de color según la cual una superficie parece similar a uno o proporciones de dos (Valero, 2011) y está asociado con la longitud de onda del color dominante, sea este espectral o no, y comprende matices como el rojo, amarillo, naranja, verde, azul y púrpura (Chuchuca, 2012). En coordenadas al sistema Hunter se representan como 0 una coloración rojo-púrpura, 90 amarillo, 180 azul-verde y 270 azul, su cálculo se realiza con la siguiente fórmula (Casassa-Santiago, 2006):

$$\text{Tono } (^{\circ}\text{Hue}, H^*) = \text{arc tan}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (\text{Ecuación 3})$$

Croma (C*): El croma o saturación se refiere a la pureza cromática de un color respecto al gris; es decir, a medida que un color se satura, más puro es y menos gris posee (Valero, 2011; Chuchuca, 2012), se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Saturación o Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (\text{Ecuación 4})$$

4.7.1.2 Determinación de espesor

El espesor se midió a los cuadros rectangulares (Figura 26 A) empleando un micrómetro o Palmer (Mitutuyo IP65) este es un instrumento de medida directa que permite realizar medidas de hasta una milésima de milímetro (0.001 mm); está basado en el principio de avance del tornillo sobre una tuerca fija, haciendo girar el tornillo, el tambor graduado y el



Materiales y métodos

huesillo móvil giran y se mueven axialmente hasta encerrar la pieza (con la presión adecuada) entre las superficies de medición del huesillo móvil y el yunque, como se muestra en la Figura 26B (Domínguez y Ferrer, 2010).

La determinación del espesor se realizó de acuerdo a Márquez *et al.* (2008), los resultados obtenidos se emplearon para el tratamiento de la permeabilidad y transparencia. La medición se realizó a 10 porciones cuadradales de tres películas donde se colocó la pieza a medir entre las superficies de contacto girando el tambor tornillo micrométrico hasta que los topes estuviesen en contacto por medio del trinquete, el trinquete es un embrague que asegura una presión adecuada sobre la pieza evitando el apriete del tornillo y el falseo de la medición, tomando la lectura directa en la pantalla. Los resultados se expresa en mm.

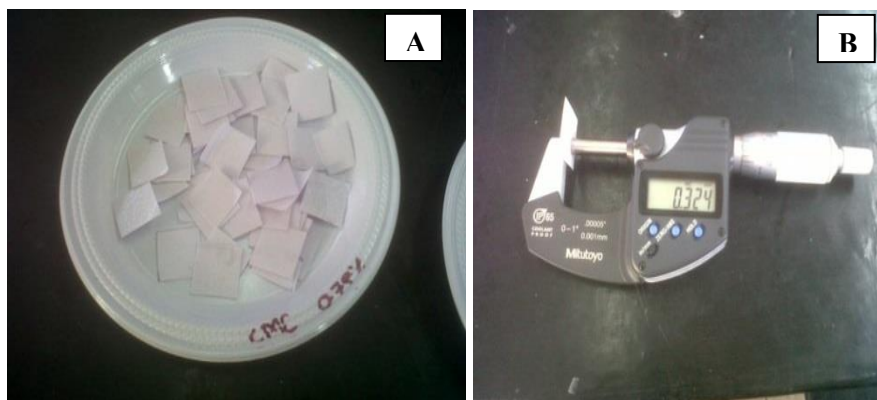


Figura 26.- (A) Porciones cuadradales de película de CMC (B) Micrómetro digital.

4.7.1.3 Determinación de transparencia

Con un espectrofotómetro (Genesys 10 uv) se determinó la transparencia siguiendo la metodología de Miramont y Gerschenson (2012). Este equipo 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).

La transparencia de las películas se obtuvo a partir de la absorbancia medida a 600 nm, colocando una porción rectangular de cada una de las películas en las distintas concentraciones propuestas anteriormente en la parte frontal de la celda, introduciendo una



Materiales y métodos

celda en blanco a una longitud de onda de 600 nm (Figura 27) y empleando la siguiente ecuación, reportando los resultados en nm/mm. Un alto valor de transmitancia implicará alta transparencia; por el contrario, un valor bajo significará baja transparencia (Miramont y Gerschenson, 2012).

$$\text{Transparencia} = \frac{A_{600}}{s} = \frac{-\log T_{600}}{s} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde:

s= espesor de la película (mm)

A₆₀₀=Absorbancia medida a 600 nm



Figura 27.- Vista frontal de la película de CMC en la celda.

4.7.2 Parámetros de calidad de las frambuesas

4.7.2.1 Determinación de color

La determinación de color se hizo con un colorímetro (marca Minolta) empleando el fundamento descrito en el apartado 4.7.1.1. La medición se hizo a 7 frambuesas por triplicado de cada tratamiento, como se muestra en la Figura 28.



Figura 28.- Determinación de color en frambuesas con el colorímetro Minolta.

4.7.2.2 Determinación de pérdida de peso

La pérdida de peso fue monitoreada de acuerdo a la metodología de Valera *et al.* (2011). Tomando el peso obtenido de cada tarrina de los diferentes tratamientos, los días 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 15 días, y calculado como el porcentaje de pérdida de peso con respecto al inicial (Figura 29).



Figura 29.- Determinación de pérdida de peso de frambuesa.

4.7.2.3 Determinación del índice de decaimiento.

El índice de decaimiento se evaluó de acuerdo a lo descrito por Díaz-Narváez *et al.* (2010) durante cada dos días en el transcurso del almacenamiento. Los síntomas por el deterioro causado por la presencia de hongos en los frutos se evaluaron visualmente con una escala subjetiva de acuerdo a la Tabla 21.



Material es y métodos

Tabla 21.- Escala subjetiva empleada para evaluar índice de decaimiento.

Escala	Nivel de daño
1	No hay daño
2	Daño ligero (<25%)
3	Daño moderado (>25% y < 50%)
4	Daño severo (>50 y <75%)
5	Completamente dañado (75-100%)

Fuente: Díaz-Narváez *et al.* (2010).

La ecuación aplicada fue la siguiente (Díaz-Narváez *et al.*, 2010):

$$\text{IDC} = \Sigma (\text{nivel de daño}) \times (\text{No. De frutos de este nivel}) / \text{No. de frutos totales} \quad (\text{Ecuación 6})$$

4.7.2.4. Liberación de líquido

Para evaluar el desprendimiento de líquido se emplearon porciones cuadradas de papel filtro a peso constante de 4 x 4 cm, se colocaron entre los papeles una frambuesa, posteriormente se le aplicó un peso de 100 g durante 10 s (Figura 30), se determinó el peso de los papeles filtro y se calculó el porcentaje de desprendimiento de líquido por diferencia de peso final e inicial. Los resultados se expresaron en porcentaje de desprendimiento de líquido (Sánchez., 2013).

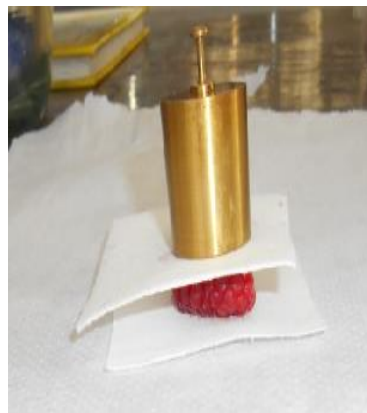


Figura 30.- Determinación de la liberación de líquido.



4.7.3 Parámetros fisicoquímicos

4.7.3.1 Determinación de sólidos solubles

La determinación de sólidos solubles fue directamente mediante un refractómetro digital marca Atago PAL-BX/RI a 20°C (Figura 31). Los sólidos solubles son el porcentaje de sólidos disueltos en un producto derivado de las frutas o de un líquido azucarado. El equipo se fundamenta en el cambio de dirección que sufren los rayos luminosos en el límite de separación de dos medios, en los cuales es distinta la velocidad de propagación (NMX-F-103-1982).

La medición se hizo colocando una gota del jugo extraído de las frambuesas, sobre el refractómetro previamente calibrado, la lectura del contenido de sólidos solubles expresados en °Brix se leyó directamente de la pantalla del equipo.



Figura 31.- Refractómetro digital.

4.7.3.2 Determinación de pH

Se midió con un potenciómetro manual (marca HANNA) (Figura 32), sumergiendo electrodo en la muestra leyendo la lectura directamente en el potenciómetro digital. El pH se suele definir como: “el logaritmo negativo de la concentración de ión hidrógeno” y es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. El potenciómetro mide la diferencia de potencial que se establece entre los dos electrodos y nos indica directamente el pH de la solución (Sienko, 2005).



Figura 32.- Potenciómetro manual.

4.7.3.3 Determinación de acidez titulable

La acidez total o titulable es la suma de los ácidos libres valorables cuando se lleva el pH a 7 añadiendo una solución alcalina valorada, es un método en el cual se agrega un volumen de solución estandarizada a una solución desconocida para determinar el título de algún componente de dicho problema. Es el grado en el que es ácida una solución. Cuando un ácido y una base reaccionan, se produce una reacción, que se puede observar con un indicador, como es la fenolftaleína ($C_{20}H_{14}O_4$), que vira de color a rosa cuando se encuentra presente una reacción ácido-base (Canales, 1999; AOAC, 2000).

La acidez se determinó con la titulación de 10 mL de muestra previamente preparada, de 10 g de muestra macerada más 90 mL de agua, adicionando dos gotas de indicador fenolftaleína, valorada con hidróxido de sodio 0.1N. Los resultados se expresaron en % de ácido cítrico (AOAC, 2000).

4.7.4 Parámetros químicos

4.7.4.1 Determinación de antocianinas

La determinación se hizo empleando el método del pH diferencial descrito por Cano (2011) que permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales.

El método se basa en determinar la absorbancia de la antocianina por medio de espectrofotometría en una longitud de onda de 400 – 700 nm. La antocianina experimenta una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total incluso en



Materiales y métodos

presencia de un pigmento degradado polimerizado o en presencia de cualquier otro compuesto interferente.

La concentración de antocianinas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{antocianos monoméricos } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \cdot PM \cdot FD \cdot 1000}{\epsilon \cdot l} \quad (\text{Ecuación 7})$$

Donde:

A: Absorbancia;
PM: peso molecular;
FD: factor de dilución;
 ϵ : absorptividad molar

La concentración final de antocianos (mg/L) se calcula con base en el volumen de extracto y peso de la muestra. Se expresa en cianidina 3-glucósido (PM: 449.2 mol/g y ϵ : 26900 L/mol*cm).

Donde:

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis max}}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{\lambda_{\text{vis max}}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5} \quad (\text{Ecuación 8})$$

Siendo $A_{\lambda_{\text{vis max}}}$ la absorbancia máxima de antocianina, $A_{\lambda_{700\text{nm}}}$ es la lectura de la absorbancia en 700 nm.

A los extractos del fruto se les determinó el contenido de antocianinas monoméricas por dicho método. Se prepararon dos diluciones diferentes de las muestras, para esto se pesaron 0.4g de la muestra, se centrifugó a 400 rpm/10 min, se filtró la muestra y se dejó reposar 30 minutos posteriormente se utilizan dos sistemas tampón: buffer cloruro de potasio de pH 1,0 (0,025 M) y buffer acetato sódico de pH 4,5 (0,4 M). Se adicionaron 0.3 mL del extracto en 2.7mL de buffer pH 1, esto mismo se hizo con el buffer de pH 4.5, se dejaron reposar 15 minutos (Figura 33) y posteriormente se hizo un barrido en el Espectrofotómetro a 510 y 700 nm midiendo un blanco primero. Se llevaron los cálculos anteriormente mencionados, tomando en consideración que la antocianina mayoritaria es cianidina-3-glucósido, los resultados se reportaron en mg/100g fruto.



Figura 33.- Determinación de antocianinas.

4.7.4.2 Determinación de capacidad antioxidante

Se llevó a cabo por el método de $ABTS^+$ según la metodología desarrollada por RE *et al.* (1999) y descrita por Kukoski *et al.* (2004). Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical $ABTS^{•+}$, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical catiónico $ABTS^{•+}$ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis- (3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio.

El radical $ABTS^{•+}$ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ C$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical $ABTS^{•+}$ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Se obtuvieron los extractos de la muestra con metanol al 80% recuperando el sobrenadante y ajustando el volumen a 2 mL, el extracto se protegió de la luz y se mantuvo a $-4^\circ C$ hasta su uso. Se diluyó el radical coloreado ABTS en buffer PBS agregando 2 mL de ABTS a 200 mL de buffer, se midió la absorbancia de ABTS diluido a 734 nm y ésta fue de 0.7000 \pm 0.02. Se realizó la lectura de las muestras de acuerdo a la curva, con los resultados de absorbancias se realizaron los cálculos necesarios, la absorbancia se mide de forma continua transcurridos 7 minutos (Kukoski *et al.*, 2004; Sánchez, 2013). Los resultados se expresaron como valores TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante TROLOX[®] (Mesa-Vanegas *et al.*, 2009).



Materiales y métodos

4.7.5 Parámetros sensoriales

La evaluación sensorial de los distintos tratamientos en frambuesas se llevó a cabo mediante pruebas afectivas, específicamente pruebas hedónicas, estas se utilizan para evaluar la aceptación o rechazo, nivel de satisfacción, si le gusta o disgusta, o si prefiere otro de un producto determinado, respecto a las calidades intrínsecas del producto (embalaje, precio, marca, publicidad, etc.) (Sancho *et al.*, 1999) se realiza generalmente a panelistas inexpertos o solamente consumidores, estas pruebas proporcionan una fotografía al instante de la apreciación de un producto o de una gama de ellos, por una parte de ellos. Dentro de las pruebas hedónicas podemos encontrar las de aceptabilidad y de preferencia (Bustos *et al.*, 2009).

Con el fin de encontrar la descripción sensorial de las frambuesas tratadas se realizó una prueba descriptiva cuantitativa con un panel semi-entrenado, donde cada panelista recibió frambuesas con distintos tratamientos, el día cero y doce del seguimiento con la finalidad de valorar parámetros como: apariencia visual, intensidad de color, olor, olores extraños, sabor, textura, las escalas hedónicas empleadas para dichos parámetros se mencionan en la Tabla 22 (Saavedra y Algecira, 2010).

Tabla 22.- Escala hedónica empleada para los parámetros sensoriales de frambuesas.

*Escala general	Escala de olores y sabores extraños	Escala de textura	Escala de intensidad de color
1.Muy mala	1.Mucha	1.Muy blanda	1.Rojo muy claro
2.Mala	2.Alguna	2.Blanda	2.Rojo claro
3.Aceptable como límite de consumo	3.Aceptable	3.Aceptable como límite de consumo	3.Rojo
4.Buena	4.Poco	4.Firme	4.Rojo intenso
5.Muy buena	5.Ninguna	5.Muy firme	5. Extremadamente rojo

4.8 Análisis estadístico.

Para los resultados obtenidos del rendimiento de aceite se realizó una comparación de medias.



Materiales y métodos

Para el resto de los resultados se realizó un análisis estadístico completamente al azar (ANOVA) con una diferencia significativa de ($p \leq 0.05$) que permitió conocer si existe efecto significativo o no por cada una de las variables mediante pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan) a través del programa estadístico SPSS for Windows Student Version ®20

Resultados y Discusión





5. Resultados y Discusión

5.1 Evaluación del rendimiento en la extracción del aceite esencial de eucalipto por hidrodestilación.

En la Figura 34 se muestra los rendimientos obtenidos de aceite esencial de eucalipto en las diferentes condiciones propuestas, en donde los mayores rendimientos de aceite esencial se obtuvieron con el tamaño de partícula más pequeño, el de malla 40; presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto al rendimiento del aceite esencial obtenido con el eucalipto de tamaño de partícula de la malla 20. Respecto a los tiempos de extracción propuestos (90, 120 y 180 minutos) no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la cantidad de aceite esencial obtenido entre ellos, por lo cual se decidió trabajar con el menor tiempo de extracción para reducir el consumo de energía.

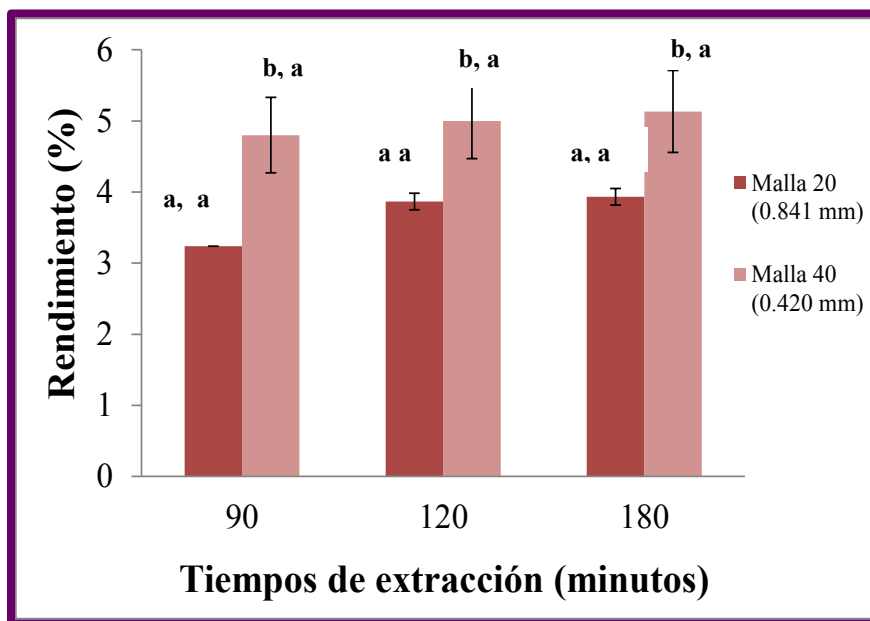


Figura 34.- Rendimiento del aceite esencial de eucalipto en las diferentes condiciones de extracción. Las barras verticales representan \pm desviación estándar. Las primeras letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por rendimiento de aceite esencial (tamaño de partícula) y las segundas letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por tiempo de extracción.



Resultados y Discusión

Andreatta *et al.* (2012) estudiaron aceites esenciales de limón, orégano, peperina, laurel, *E. globulus* y *E. camaldulensis* obtenidos por hidrodestilación reportando rendimientos de aceite esencial de eucalipto entre 0.401-1.896-% empleando tiempos de extracción de hasta 120 minutos, estos resultados difieren con los obtenidos, ya que al disminuir el tamaño de partícula de las hojas de eucalipto se obtienen mayores cantidades de aceite esencial siendo hasta 3 veces más que los reportados por Andreatta y colaboradores con los mismos tiempos de extracción.

Del mismo modo, los resultados obtenidos difieren con Moreno *et al.* (2010) quien hizo una modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*) quien varió los tiempos de extracción entre 37.6-140 minutos y la humedad de las hojas de eucalipto de 12.0-40%, donde el mayor rendimiento fue obtenido (2.354%) con 16.1% de humedad y 122.4 min de tiempo de extracción, siendo 52.92% más lo que se obtuvo en esta experimentación, a pesar de que la humedad de las hojas empleadas en la experimentación no se controló de forma cuantitativa, ya que estas fueron secadas al sol, hasta que no se sintieran húmedas y crujieran, del mismo modo el tamaño de partícula se varió en este experimento lo cual no se realizó en los experimentos de los autores referenciados, por lo cual puede deberse a esto la diferencia entre los rendimientos obtenidos.

De León y Cano (2008) hicieron una comparación del rendimiento de aceite esencial de eucalipto entre dos especies (*Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) aplicando como método de extracción la hidrodestilación a nivel laboratorio, emplearon condiciones de extracción similares al de este proyecto como medio acuoso un litro de agua con 50g de materia molida reducido a nivel de malla 8 donde obtuvieron un máximo valor de rendimiento porcentual promedio para la especie de *Eucalyptus camaldulensis* del $1,1510 \pm 0,0546$ correspondiente a un tiempo de extracción de tres horas y para la especie de *Eucalyptus citriodora* un máximo valor de rendimiento porcentual de 0.7789 ± 0.1260 en el mismo tiempo concluyendo que el rendimiento fue mayor para la



Resultados y Discusión

especie más joven; aunque las condiciones de extracción son las mismas los rendimientos obtenidos son 77% mayores con el tiempo más grande de extracción (180 minutos), esto se puede deber que el tener un tamaño de partícula más pequeño tiene gran relevancia, ya que este tiene mayor área de contacto con el agua hirviente y esto ayuda a que los aceites se deprendan más fácilmente, por otra parte este autor menciona que entre más joven sea la especie mayores rendimientos se obtienen y las hojas de eucalipto se usaban para este fin lo más pronto posible para la extracción.

Lima (2005) analizó los rendimientos obtenidos de aceite esencial de dos especies de eucaliptos trabajados en seco a nivel laboratorio y planta piloto a diferentes tiempos de extracción para las distintas especies de eucalipto (*Eucalipto globulus*: 40, 80 y 120 minutos y *Eucalipto cinerea*: 60, 90 y 120 minutos) se obtuvieron rendimientos de aceite *A. globulus* 0.63% y de aceite de *E. cinerea* 2.95% mediante hidrodestilación, aunque los tiempos de extracción fueron muy similares a los planteados en la experimentación, no se mencionan el tamaño de partícula empleado y la madurez de la planta, siendo mayores los rendimientos obtenidos en este trabajo hasta por un 40% en comparación a lo reportado por este autor.

Por otro lado Rojas (2009) trabajó con el mismo método en la hidrodestilación y caracterización de aceite esencial de plantas medicinales, empleando diferentes plantas a la de estudio, aunque las condiciones de extracción fueron diferentes empleando una relación de hojas de *Arracasia sp.*, *Baccharis heterophylla*, *Clinopodium laevigatum*, *Peperomia obtusifolia*, *Persea americana* y *Salvia elegans* y agua de 1:4 y la relación empleada en el proyecto fue 1:2 los rendimientos fueron menores en un 50%, siendo el de mayor rendimiento el aceite *Arraccia sp.* con 2.42%, con lo que se corrobora que el hecho de cuidar factores como el tamaño de partícula, la madurez de la planta, la relación de medio acuoso, la humedad con la que las hojas son sometidas al proceso, son de vital importancia para obtener mayores rendimientos en extracción de aceite por el método de hidrodestilación.



Resultados y Discusión

5.2 Evaluación de las propiedades antifúngicas de aceite esencial de eucalipto.

5.2.1 Pruebas *in vitro* del aceite esencial de eucalipto sobre el crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea*.

En la Figura 35 se muestra el crecimiento del hongo *Botrytis cinerea* en un medio de agar PDA adicionado con aceite esencial de eucalipto. En donde se observó que la concentración de 2000 ppm inhibió el crecimiento micelial del hongo *Botrytis cinerea* en un 50% durante los diez días de seguimiento en la prueba.

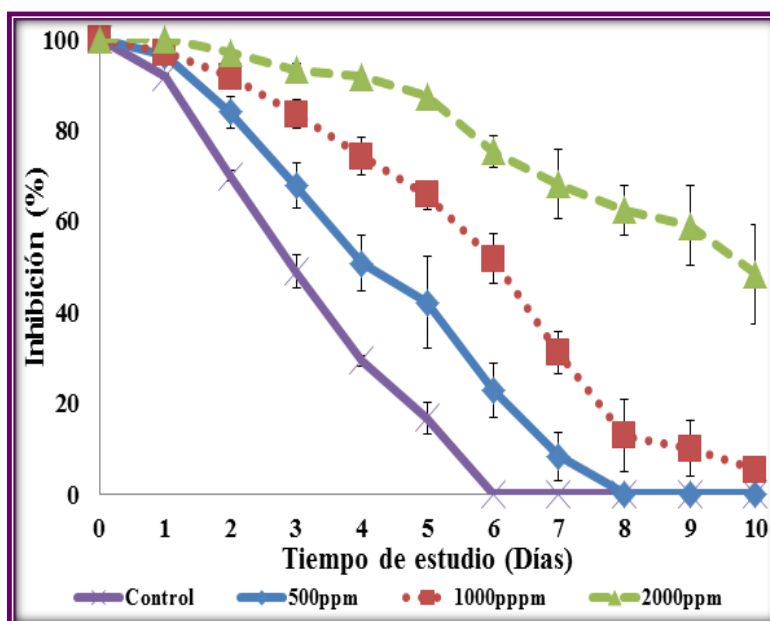


Figura 35.- Porcentaje de inhibición del aceite esencial de eucalipto en pruebas *in vitro* a tres distintas concentraciones (500, 1000 y 2000 ppm). Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

El aceite de eucalipto a una concentración de 500 ppm inhibió el crecimiento del hongo hasta por 8 días, mientras que el control al sexto día de incubación presentó un crecimiento micelial del 100%, indicando el aceite de eucalipto si tuvo un efecto antifúngico contra *B. cinerea*. La concentración de 1000 ppm al día 10 aunque no presentó un crecimiento de hongo del 100% no tuvo inhibición significativa, mientras que la concentración que tuvo el



Resultados y Discusión

mayor efecto inhibitorio por parte del aceite esencial fue a 2000 ppm que al final del seguimiento en las pruebas *in vitro* tuvo una inhibición del 60%.

Durante el tiempo de estudio se observó que al aumentar la concentración de aceite esencial se registró mayor poder inhibitorio sobre el hongo *B. cinerea*, ya que empleando la de 1000 ppm al segundo día de la prueba la muestra inhibió un 95% y al final de experimento la inhibición fue del 5%.

Las diferentes concentraciones de aceite esencial y los días de incubación presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$); encontrándose que la concentración de 2000 ppm fue la de mayor inhibición.

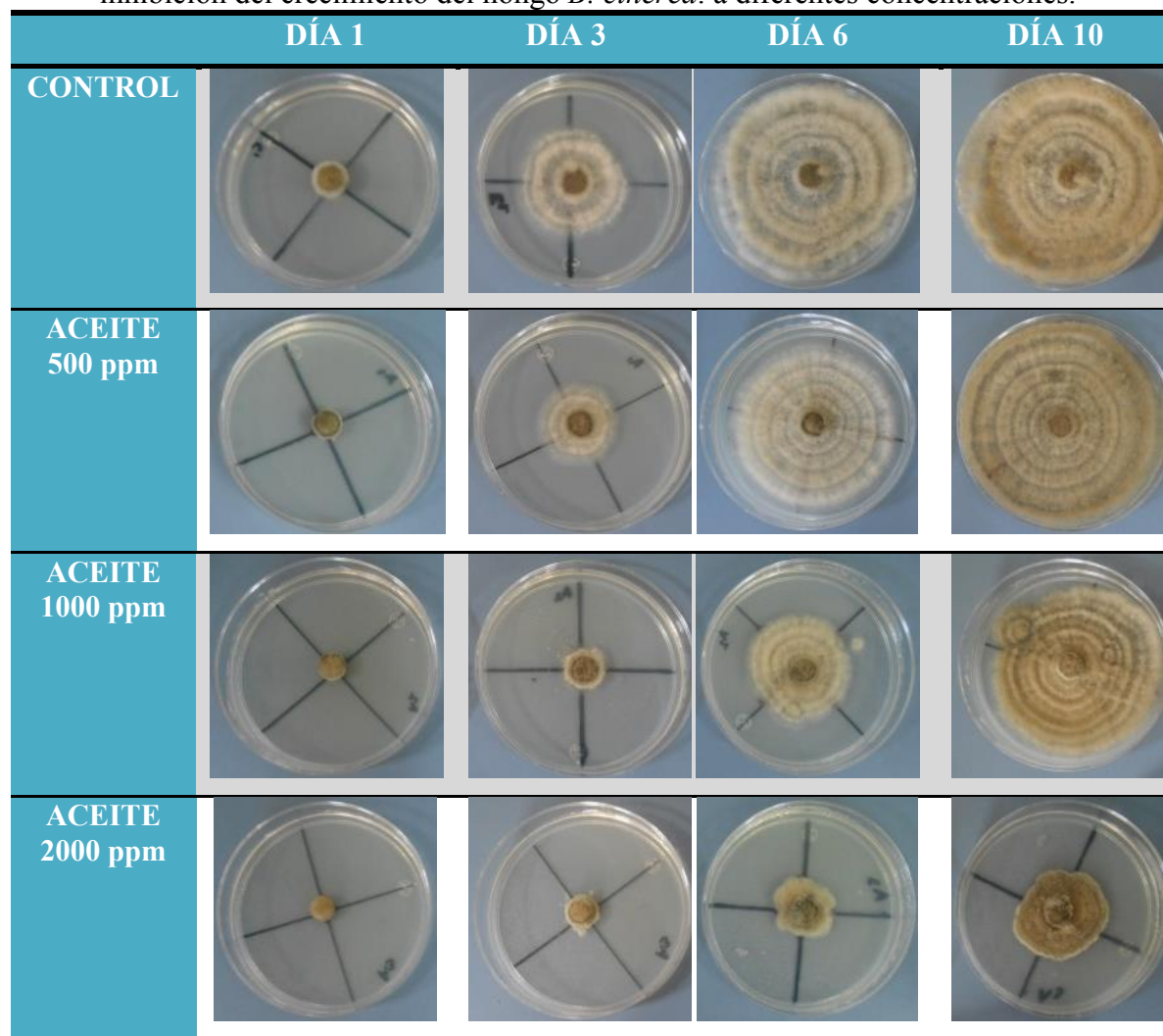
En la Tabla 23 se observa el seguimiento fotográfico del crecimiento del hongo durante los 10 días, en el día 0 y aún en los demás días que el hongo no cubrió la caja Petri se observó en el control una coloración del agar amarillenta clara-transparente que es, característica del medio PDA, las pruebas que estaban adicionadas con el aceite esencial tornaron una coloración amarillenta un poco más fuerte debido a que el aceite de eucalipto tiene un color típico amarillo por lo que pinta más el agar, y por ende entre mayor la concentración de éste el color amarillento aumenta, debido a que el volumen de aceite incrementó. El color del hongo en el transcurso del seguimiento fue café claro, esto se puede observar perfectamente a partir del día 6, lo que nos refiere a un hongo joven, durante los 10 días el hongo no presentó esporulación, esto se puede corroborar ya que cuando esto sucede el hongo presenta un color grisáceo, que indica un hongo mucho más maduro con esclerocios. El hecho de que el hongo no esporulara se debe a la incorporación del aceite esencial que son conocidos por ejercer actividad antimicrobiana, aunque el mecanismo por el cual actúan no está totalmente entendido, puede involucrarse en éste la destrucción de la membrana microbiana por los constituyentes lipofílicos que poseen y estudios recientes reportan otros efectos como cambios en la morfología del hongo que incluyen daños sobre estructuras



Resultados y Discusión

como conidias, macroconidias e hifas, así como la disminución en la producción de micotoxinas (Alzate *et al.*, 2009).

Tabla 23.-Seguimiento fotográfico del efecto del aceite esencial de eucalipto en la inhibición del crecimiento del hongo *B. cinerea*. a diferentes concentraciones.



En diversos trabajos se han encontrado que el aceite de *Eucalyptus* posee un amplio espectro de actividad biológica como antimicrobiano, fungicida, insecticida/repelente de insectos, herbicida, acaricidas y nematocidas (Andreatta *et al.*, 2012), estas propiedades se deben a sus componentes como es: 1,8-cineol que se encuentra en un rango de concentración entre 54 y 95%, citronelol, citronela, acetato de citronela, p-cimeno,



Resultados y Discusión

eucamalol, limoneno, linalol, α -pineno, γ -terpineno, *allo*-ocimeno y aromadendreno (González, 2011; Pardo, 2013).

Las sustancias que les confieren esas propiedades antifúngicas, son metabolitos secundarios como los fenoles y los terpenoides (responsables de su olor característico) (Pardo, 2013).

Las especies de *Eucalyptus* contienen aleloquímicos, capaces de afectar negativamente a varias especies de plantas. La alelopatía se define como cualquier efecto directo o indirecto (estimulador o inhibitorio) de una planta (incluyendo microorganismos) sobre otra, mediante la liberación de compuestos químicos (aleloquímicos) al medio. Los aleloquímicos que inhiben el desarrollo o eliminan plantas cerca de la planta fuente han recibido especial atención debido a su potencial como herbicidas naturales (González, 2011).

Los resultados obtenidos concuerdan con los de Alzate *et al.* (2009) quienes evaluaron a los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, *Myrtaceae*) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis*, *Rutaceae*) sobre *Trichoderma harzianum*, *Absidia sp* y *Fusarium oxysporum*, hongo que es considerado como un patógeno importante de humanos y plantas. El aceite esencial de eucalipto inhibió completamente el crecimiento de este hongo a 3000 ppm, mostrando mayor potencial inhibitorio que el fungicida comercial Dithane empleado a 10000 ppm. Los hongos *Absidia sp* y *Trichoderma harzianum* resultaron ser más susceptibles a los componentes del aceite y su crecimiento fue inhibido por completo a 1000 ppm. El aceite esencial de cáscara de naranja fue menos efectivo y solamente mostró actividad fungicida sobre el hongo *Trichoderma harzianum* a 11000 ppm, mostrando así que el aceite esencial de eucalipto si posee actividad antifúngica contra otros hongos además de *Botrytis cinerea*.

Por otro lado, los resultados obtenidos por Flores *et al.* (2004) del aceite esencial mostraron de igual manera poder antifúngico, ellos hicieron una determinación de la



Resultados y Discusión

actividad antifúngica de aceites esenciales extraídos de *Lippia graveolens* (Orégano), *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) en *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum* y *Epidermophyton floccosum* que empleó como método de obtención del aceite el arrastre de vapor; de los tres hongos el que mostró mayor sensibilidad fue *Epidermophyton floccosum* encontrándose que con Orégano la concentración fue de 75 ppm equivalente a 0.0075% seguido de Romero y Eucalipto a 125 ppm equivalente a 0.0125% lo que indica que a concentraciones pequeñas se logró inhibirlo. Según el concepto de Concentración Mínima Fungicida, es la concentración que reduce el crecimiento del hongo en un 99.99%, el aceite de Eucalipto a 10,000 ppm inhibió el crecimiento de *Epidermophyton floccosum*, no así el control positivo que lo hizo a 12,000 ppm.

Barrera-Necha y García-Barrera (2008) difieren de los resultados obtenidos, ellos investigaron la actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*), de los aceites esenciales empleados a distintas concentraciones de 1000-3000 ppm el *A. sativum*, *C. aurantifolia*, *E. globulus* y *R. chalepensis* no redujeron significativamente el crecimiento micelial; sin embargo, el aceite esencial de *C. zeylanicum* presentó una inhibición del crecimiento micelial dependiente de la dosis usada hasta un 85% de inhibición. Aunque el aceite de eucalipto no inhibió el 100% del crecimiento micelial, si lo hizo en un 50% en un lapso de 10 días.

Diversos autores han encontrado que el aceite de *Eucalyptus* posee un amplio espectro de actividad biológica como antimicrobiano, fungicida, etc., así como para el hongo estudiado aquí como para otros y como fungicida, algunos emplearon concentraciones mucho mayores o menores a las del enfoque de esta experimentación, el hecho de que tengan más funcionalidad sobre más especies u otras se debe a las concentraciones empleadas y el microorganismo a evaluar, a pesar de las distintas condiciones, se observó el efecto inhibitorio del aceite esencial de eucalipto sobre el hongo *B. cinerea*, aunque se podría



Resultados y Discusión

aumentar la concentración del aceite para tener un 100% de inhibición, se debe tener cuidado ya que para consumo humano no se pueden emplear concentraciones tan elevadas puesto que se puede tener efectos adversos en la salud, y no se debe sobrepasar de un intervalo de 0.05 mL a 0.5 mL/kg (Andreatta *et al.*, 2012).

5.3 Evaluación de las propiedades de las películas comestibles

5.3.1 Propiedades físicas de las películas

5.3.1.1 Determinación del Color

Evaluar el color en las películas fue importante, ya que éstas al estar sobre los frutos de las frambuesas pudieran opacar el color de las mismas y no ser atractivas hacia el consumidor

🌸 Luminosidad (L)

La luminosidad es una característica muy importante en las películas comestibles ya que entre más luminosidad proporcione aplicado en el fruto será más atractivo para éste. Como se observa en la Figura 36A las películas de mucílago de nopal presentaron mayores porcentajes de luminosidad a la concentración de 0.5%, siendo 0.57% más luminosas que las películas de concentración 1%, este comportamiento fue de igual manera en las películas control, en las que no tuvieron adición de aceite esencial y la película de concentración de 0.5% presentó 0.8% mayor luminosidad que la de concentración al 1%; este comportamiento difiere de las películas elaboradas con carboximetilcelulosa adicionadas con aceite esencial de eucalipto (Figura 36B) que presentaron 1.4% (82.94 a 81.25) más luminosidad que las hechas con mucílago de nopal, registrando un promedio de 81.82. Las películas de carboximetilcelulosa a la concentración de 1% fueron las que presentaron mayor porcentaje de luminosidad, siendo las películas elaboradas de concentración de carboximetilcelulosa 3% menos luminosas que las de 0.5% CMC; las películas de CMC sin adición de aceite esencial a las diferentes concentraciones no variaron en el porcentaje de luminosidad, tuvieron un incremento muy pequeño conforme aumentaba la concentración del polisacárido de 82.64-82.88, siendo 0.3% más luminosas las películas de concentración al 1% de CMC.



Resultados y Discusión

Las diferentes concentraciones de aceite esencial empleadas no mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la luminosidad de las películas comestibles.

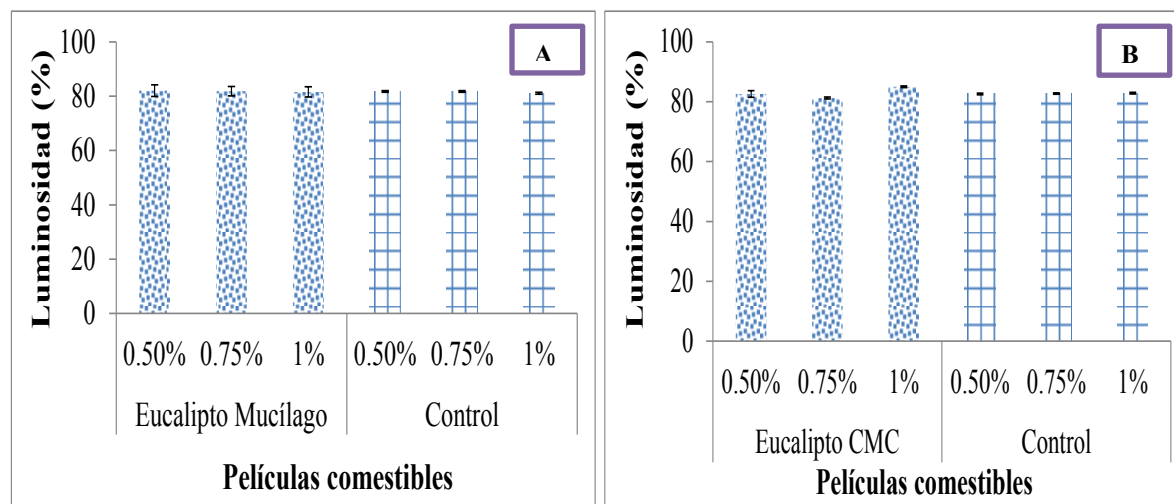


Figura 36.- Luminosidad de las películas de mucílago de nopal (A) y de carboximetilcelulosa (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de Carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora reportó valores de luminosidad más pequeños que los obtenidos en este experimento con las mismas concentraciones de CMC, teniendo valores mayores en las películas adicionadas con extracto de Sangre de Drago (77.55 a 62.66) que las adicionadas de orégano en un 17%, sus resultados difieren a los obtenidos en este estudio debido a que los valores de mayor luminosidad fueron las películas de concentración de 0.5%.

Los datos obtenidos por Valdés (2014) coinciden con los obtenidos en el caso de las películas compuestas de mucílago de nopal, ya que ellos reportaron valores de luminosidad entre 81 y 81.7% siendo solo 2% más luminosas las películas adicionadas con aceite esencial de eucalipto obtenidas en la experimentación con las frambuesas.



Resultados y Discusión

Tono ($^{\circ}$ Hue), la tonalidad, matiz, tinte

Las películas elaboradas con mucílago de nopal adicionadas con aceite esencial de eucalipto (Figura 37A) presentaron 13% mayor tono que las películas con matriz de carboximetilcelulosa; de éstas últimas (Figura 37B) la concentración de 1% presentó el mayor tono con 80.03° Hue, seguida de la concentración de 0.5%, quedando con un 17% menos tono la concentración de películas de 0.75%. En el caso de las películas elaboradas con mucílago de nopal fue el caso contrario la concentración 0.75% fue la que presentó mayor $^{\circ}$ Hue, siendo 4.40% menor el tono de las películas de 0.5%.

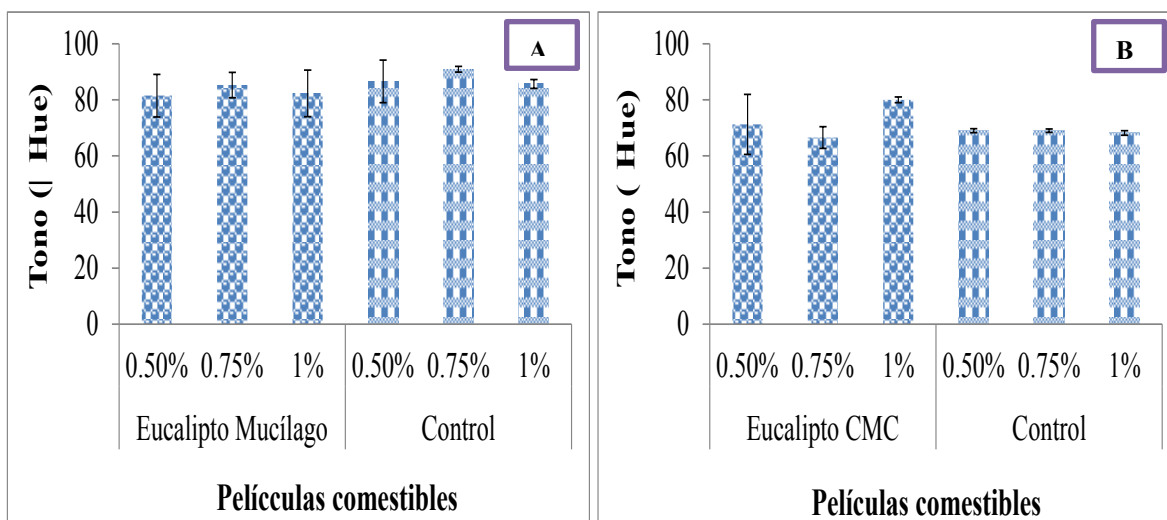


Figura 37.- Tono de las películas de mucílago de nopal (B) y carboximetilcelulosa (A) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y sin aceite esencial de Eucalipto a 2000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Las películas controles de carboximetilcelulosa (Figura 37B) presentaron 21.65% menor tono que las películas de matriz de mucílago de nopal, teniendo en promedio 69° Hue las películas de CMC, mientras que las de mucílago de nopal variaron de $86-90^{\circ}$ Hue, sin la adición de aceite esencial de eucalipto; es importante mencionar que en el caso de las películas de mucílago de nopal al ser incorporado el aceite esencial en la matriz éstas perdieron aproximadamente un 5% de tono, por lo mismo de que el aceite esencial daba otra tonalidad a las películas, el mismo porcentaje de tono (5%) fue incrementado en las



Resultados y Discusión

películas compuestas de carboximetilcelulosa, pero aquí los controles presentaron 5% menor °Hue que las de mucílago de nopal.

Las películas adicionadas con aceite esencial de eucalipto de matriz de CMC mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre cada concentración empleada, mientras que las demás películas presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en las concentraciones de 0.5 y 0.75% con respecto a las de 1% (CMC control, matriz de mucílago de nopal con y sin adición de aceite esencial).

Los resultados obtenidos no se encuentran tan alejados de los obtenidos por Abraján (2008), que obtuvo en sus películas de mucílago de nopal un promedio de 70.8° Hue a 52% de Humedad Relativa, siendo sólo 14.72% mayores los resultados obtenidos en la experimentación realizada. Mientras que los resultados arrojados por Sánchez (2013) son similares a los obtenidos en las películas de CMC adicionadas con extracto de Orégano que presentaron 3.71% menos tono que las del trabajo de estudio.

El tono es un parámetro muy importante al elegir el tipo de fruto que se desee recubrir, ya que puede afectar las características visuales de la superficie del producto, ya que como se pudo apreciar las películas al ser adicionadas con el aceite esencial de eucalipto tomaron una coloración amarillenta clara, debido a que ese es el color característico del aceite esencial; debido a los valores tan altos de luminosidad, este parámetro no se percibió de manera visual y por ende no interferirá con el color característico de las frambuesas a recubrir.

Croma (C*)

En la Figura 38A se muestran las películas elaboradas de mucílago de nopal, en donde los control presentaron 12% más croma que las adicionadas con aceite esencial de eucalipto, las películas de concentración de 0.75% adicionadas con aceite presentaron 40% más



Resultados y Discusión

croma que la concentración de 1%, para las películas control la que presentó menos croma fue la de 0.75%.

Las películas de concentración 1% tanto las películas de matriz de CMC y mucílago de nopal con y sin adición de aceite esencial mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) de las películas de concentración de 0.5 y 0.75%.

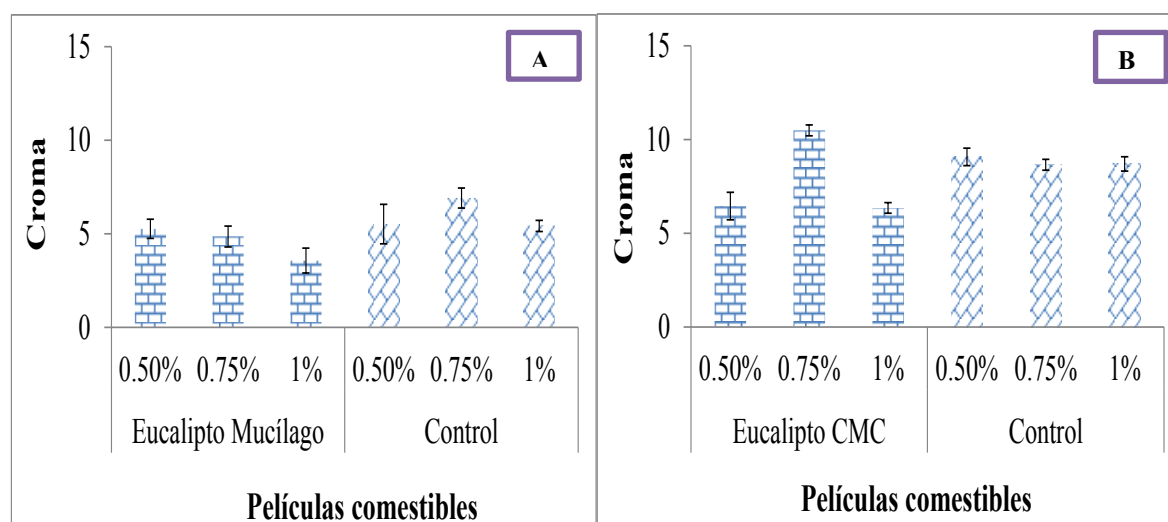


Figura 38.- Croma de las películas de mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1.0% adicionadas con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

En la Figura 38B se observa que las películas con matriz de carboximetilcelulosa adicionadas con aceite esencial de eucalipto presentaron el mayor croma siendo 41% mayor que las películas de mucílago de nopal. Las películas elaboradas a partir de CMC adicionadas con aceite esencial de eucalipto muestran que la concentración al 0.5% presento 8% mayor croma que la película de concentración de 0.75%, siendo las películas de concentración 1% las que mostraron menor croma, las películas de matriz de 0.5% presentaron 33% menos éste atributo; mientras que las películas control presentaron 33% mayor Croma que las que fueron adicionadas con aceite esencial, la concentración de 0.75% presentó más el atributo que cualquiera de las dos concentraciones restantes 0.5 y 1%, teniendo 7% mayor croma que la película de concentración de 1%.



Resultados y Discusión

Sánchez (2013) en las películas caracterizadas de CMC tanto adicionadas con extractos de Hoja Sen, Sangre de Drago y Orégano presentaron mayores valores de croma en comparación con los empleados en el proyecto, quién reportó valores de croma de hasta 40 unidades obtenidos de las películas adicionadas con extracto de orégano, mientras que los valores más pequeños de croma fueron obtenidos de las películas adicionadas con Sangre de Drago con un promedio de 10 unidades. Mientras que los resultados obtenidos en este parámetro se encuentran entre los obtenidos por Valdés *et al.* (2014) que reportó valores 30% más altos que los experimentales, esto debido a la incorporación de los distintos aceites esenciales que tienen colores característicos y afectan de manera diferente a las películas.

Los cambios en las películas modelo se debe a la coloración natural que proporciona el aceite esencial de eucalipto, provocada por los pigmentos que fueron arrastrados en la extracción del aceite esencial.

5.3.1.2 Determinación de transparencia

En la Figura 39 se muestra la caracterización de la transparencia de las películas de CMC donde las películas de concentración 0.5% (0.89 nm/mm) presentaron 34% más transparencia respecto a las de concentración de 1% que obtuvieron valores de 0.58 nm/mm, quedando intermedia la concentración de 0.75% con una transparencia promedio de 0.74 nm/mm. Las películas control mostraron 64% más transparencia que las adicionadas con aceite esencial, siendo las de concentración de 0.5% la que mostró la mayor transparencia 55% mayor que las películas de concentración de 0.75% quedando al final con menos transparencia las películas de matriz de CMC de 1% con valores de 1.49 nm/mm.

Las películas control de CMC que no fueron adicionadas con aceite esencial también mostraron el mismo comportamiento que conforme incrementaba la concentración de polisacárido disminuía la transparencia en las películas, ya que al tener mayor concentración de sólidos, estos absorben la luz transmitida por lo que la cantidad de luz



Resultados y Discusión

emitida hasta el detector de luz de espectrofotómetro es menor, las películas que fueron adicionadas con aceite esencial mostraron mucho menos transparencia que las que no fueron adicionadas, debido a que éstas además de los sólidos presentes de las diferentes concentraciones de sólidos de los polisacáridos también tenían presentes en su matriz los sólidos que aporta el aceite esencial mostrando de igual manera mayor absorción de luz por parte de los sólidos presentes.

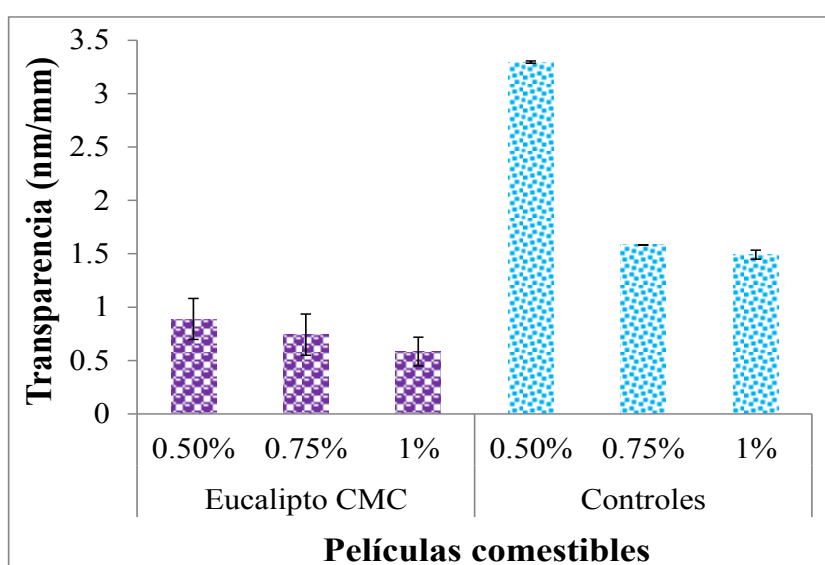


Figura 39.- Transparencia de las películas de carboximetilcelulosa en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1% con y sin adición con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Es importante mencionar que no se muestra la caracterización de éste parámetro en las películas de mucílago de nopal, ya que cuando quería ser medidas, estas se rompían, puesto que se mostraban muy pegajosas y elásticas, impidiendo que pudieran ser medidas en este parámetro.

Como se puede observar al comparar en la Figura 40 las películas adicionadas con aceite esencial y las control, la transparencia disminuyó conforme aumentó la concentración del polisacárido, estos datos también coinciden con Sánchez (2011) quien empleó recubrimientos comestibles a base de caseinato sódico con capacidad antioxidante,



Resultados y Discusión

encontró que la adición de los antioxidantes, especialmente del ácido ferúlico, implicó una mayor opacidad y menor brillo con respecto al film control, consecuencia de una estructura más rugosa que da lugar a una mayor dispersión de luz. Mientras que al aumentar la concentración de ácido ferúlico aumenta la rugosidad y opacidad del film, la vitamina E ejerce un efecto contrario (a mayor concentración de vitamina E, menor rugosidad y mayor transparencia y brillo).

Las películas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre cada una de las concentraciones empleadas; lo que nos dice que al tener menor concentración de polisacárido presente en las películas comestibles habrá mayor transparencia en ellas, motivo que no interferirá en el color normal del fruto a aplicar y no la hará ver opaca.

Los resultados obtenidos difieren con los de Sánchez (2013) quien obtuvo valores de transparencia más elevados que los arrojados en la experimentación siendo 53.74% mayores, también las películas adicionadas con extractos etanólicos presentaron menor transparencia comparadas con las películas controles como fue en el caso de la experimentación. También difieren de los resultados reportados por Caamal-Herrera *et al.* (2011) que reportaron valores de transparencia en las películas elaboradas con almidón de yuca y maíz de 3.17 a 5.76 nm/mm presentando 76.68 y 87.17% más transparencia que las películas de CMC adicionadas con aceite esencial.

No se encontraron datos similares a las condiciones empleadas en esta experimentación con otros autores, por lo que los resultados obtenidos fueron relevantes en este parámetro, ya que lo que se buscaba en primera instancia es que la transmitancia fuera alta para dejar pasar fácilmente la luz, haciendo que la transparencia en las películas sea alta, lo que se obtuvo en las películas de concentración más baja (0.5% en CMC), motivo por lo cual fue una de las razones de la que se tomara en consideración para ser usada en las frambuesas al



Resultados y Discusión

momento de ser recubiertas, ya que al ser más transparentes las películas estas no alteraran las características visuales los frutos aplicados.

5.3.1.3 Determinación de espesor

El espesor es un parámetro que influye directamente en otros parámetros de las películas comestibles, como son la permeabilidad al vapor de agua, color, transparencia u opacidad, entre otras pruebas, ya que al contener mayor o menor cantidad de sólidos las películas se comportaran de diferente manera.

En la Figura 40A se tienen los valores presentados de las películas elaboradas de concentración más pequeña 0.5% de mucílago de nopal presentaron el menor espesor con un promedio de 0.0632 mm, siendo 19% menos gruesas que las películas de concentración al 1%, que fueron concentración en ésta matriz las películas de mayor espesor (0.0776 mm), quedando con valores intermedios las películas de concentración 0.75% (0.07005 mm); sin embargo las películas elaboradas de carboximetilcelulosa presentaron mayor espesor que las de matriz de mucílago de nopal, siguiendo el mismo comportamiento que las hechas de mucílago de nopal, las películas de concentración de 0.5% fueron las más delgadas (0.06655 mm) y las de 1% fueron 20% más gruesas (0.0832mm) (Figura 40B).

Las películas elaboradas al 1% de carboximetilcelulosa fueron 7% más gruesas que las películas de mucílago de nopal, así mismo las películas que no fueron adicionadas con aceite esencial tanto de mucílago de nopal y CMC, tuvieron el mismo comportamiento que las que si fueron adicionadas con el aceite.

La tendencia del incremento del espesor conforme aumenta la concentración coincide con los resultados obtenidos por Sánchez (2013) que desarrollo recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, hoja sen y sangre de drago aplicados a zarzamora quien obtuvo valores de 0.052, 0.073 y 0.094 mm respectivamente para las películas de concentración de 0.5, 0.75 y 1%, encontrándose así



Resultados y Discusión

dentro de los parámetros obtenidos en esta experimentación siendo 21.86% mayor las de 0.5% y 12.39% menor espesor la película de 1% obtenidas con la comparadas. Por otro lado Valdés (2014) quien desarrolló un envase activo liberador de antifúngico para el control de antracnosis en chirimoya a base mucílago de nopal y alginato de sodio adicionadas con aceite esencial de orégano y hoja sen obtuvo valores en un 37.48% más pequeños que los presentados en la experimentación que van de 0.038, 0.07 y .077mm en las películas de concentración de 0.5, 0.75 y 1%.

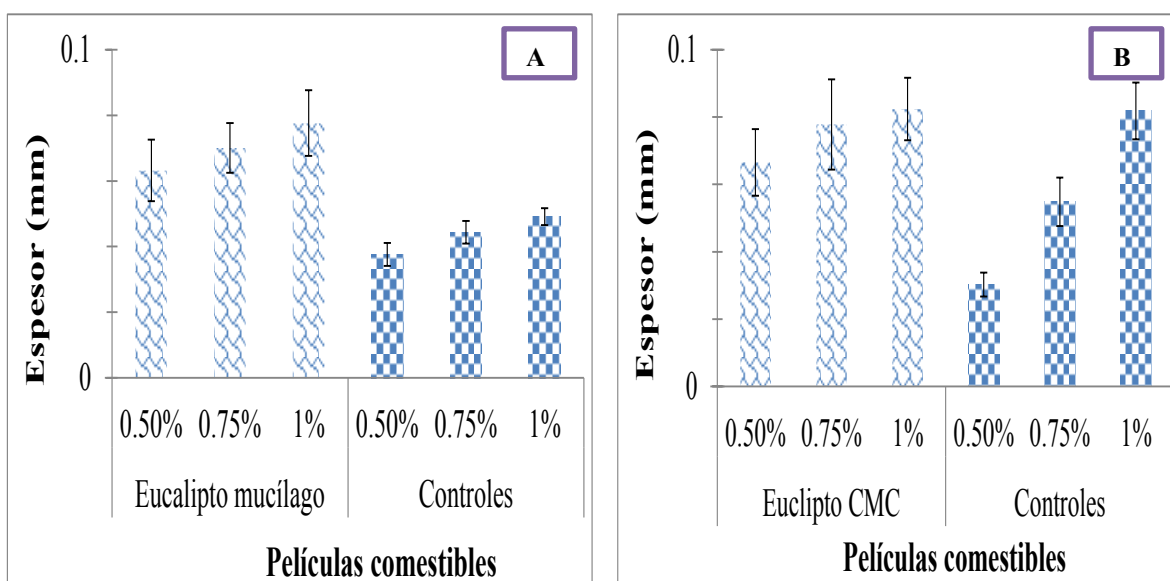


Figura 40.- Espesor de las distintas películas de mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) en concentraciones de 0.5, 0.75 y 1%, adicionados con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000 pp. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

El espesor de las distintas películas estudiadas presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en cada una de las diferentes concentraciones empleadas tanto en las películas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto. Por lo que en las dos matrices de películas se puede decir que la concentración de polisacáridos es directamente proporcional al espesor de las películas, esto debido a que la cantidad de soluto (polisacárido) incrementa en un volumen fijo de disolvente (agua), por lo que al secar la película presenta un espesor proporcional a la concentración de la matriz, este parámetro depende directamente de la composición



Resultados y Discusión

química y concentración de los materiales; atribuyéndole la disminución del espesor al tipo y cantidad de aditivos, así como a la interacción de grupos orgánicos activos capaces de generar interacciones atómicas en la macromolécula cuando los componentes son mezclados en solución y de esto depende su comportamiento estructural superficial (Miranda *et al.*, 2003; Katiuska *et al.*, 2010).

5.4 Evaluación de las pruebas *in vivo* de los recubrimientos comestibles a base de mucílago de nopal o carboximetilcelulosa adicionados con aceite esencial de eucalipto en frambuesa.

5.4.1 Parámetros de calidad

5.4.1.1 Determinación de color

El color es la característica de calidad más importante de las frutas dado que es el primer atributo percibido por el consumidor y es la base para juzgar la aceptación del producto, muchas veces sin haber evaluado previamente otras características sensoriales y nutricionales. Los cambios de color más importantes en las frutas están relacionados con cambios químicos y bioquímicos y con mecanismos fisicoquímicos como la degradación de cloroplastos y cromoplastos, con los cambios en pigmentos naturales (clorofila, carotenoides y antocianinas) y con el desarrollo de pardeamiento enzimático (Del Valle, 2012).

Croma

El croma indica la saturación de color o intensidad del tono (Melgarejo *et al.*, 2004), una disminución del croma indica un cambio a colores menos vivos o intensos, asociados a los procesos de senescencia de las frutas. Al inicio del almacenamiento las frambuesas control (Figura 41A) presentaron valores mayores en un 20% en comparación con las frambuesas con los otros tratamientos con y sin adición de aceite esencial de eucalipto. Los frutos control presentaron una disminución del 52% con respecto del día 0 al 15, mientras que los recubiertos de mucílago de nopal disminuyeron en un 43% la pureza del color y las frambuesas recubiertas adicionadas con aceite esencial tuvieron un descenso del 49%;



Resultados y Discusión

durante el almacenamiento no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el color de las frambuesas de los diferentes tratamientos empleados.

Por otro lado los frutos recubiertos de carboximetilcelulosa (Figura 41B), presentaron el mismo comportamiento que los recubiertos con mucílago de nopal, en donde de igual manera el tratamiento control presentó mayor croma en un 14.5% con respecto a las frambuesas recubiertas con y sin adición de aceite esencial; las frambuesas control presentaron un descenso de 52.54% con respecto del día 0 al 15, mientras que los frutos recubiertos una disminución del 46% y los frutos recubiertos con adición de aceite esencial fueron los que tuvieron mayor disminución del 45% en comparación con los otros dos tratamientos.

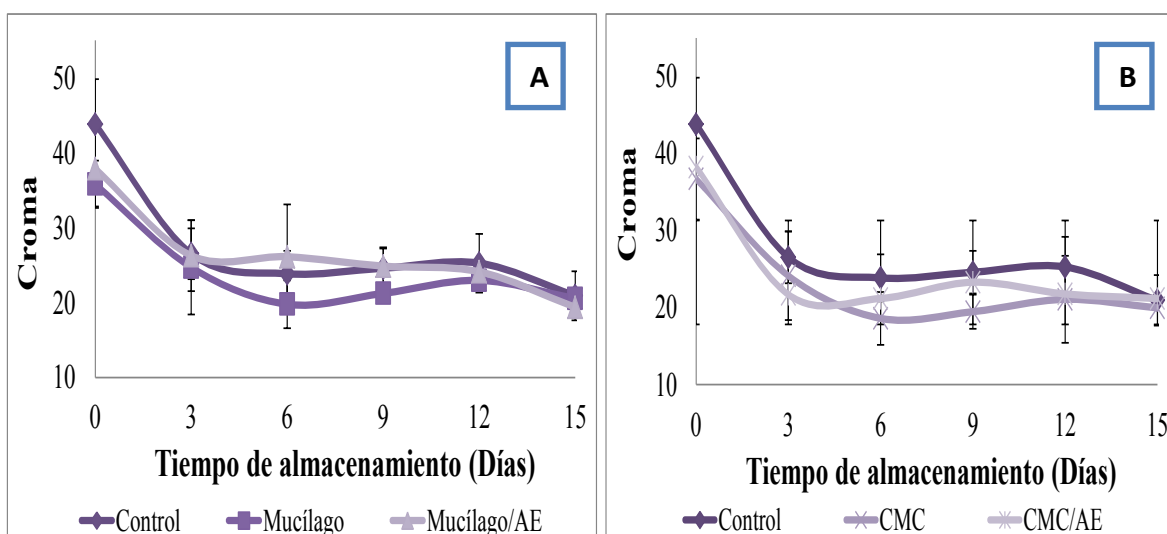


Figura 41.- Cambios en el croma de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial (AE) de eucalipto almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente las frambuesas recubiertas con CMC sólo presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con los frutos control y adicionados con aceite esencial el día 8, pero para los otros días no se mostró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre el croma de los frutos con cada uno de los recubrimientos empleados.



Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos en la experimentación presentan la misma tendencia presentada por Navarrete (2009) quien aplicó un recubrimiento comestible a base de gelatina para preservar la calidad de zarzamora (*Robus frocticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir donde al inicio de la experimentación presentaron valores altos de croma; sin embargo, para los demás días tuvieron una disminución para luego mantener su valor constante al final del almacenamiento, llegando así al final con un valor promedio de 20 unidades en croma.

Tono

Un tono uniforme e intenso en la coloración de los frutos es un indicador importante de la maduración donde no hay cambios sustanciales luego de ser cosechados (en frutos no climatéricos), además de que también la pérdida de tono en un fruto además de otros factores pueden ser indicadores de reacciones enzimáticas durante la senescencia o incluso reacciones de ciertos microorganismos en el fruto (Sánchez, 2013).

Los frutos manejados con mucílago de nopal (Figura 42A) mostraron un descenso después del primer día de almacenamiento, las frambuesas control presentaron un tono al día 0 de 43.82%, mientras que los recubiertos con y sin adición de aceite esencial mostraron un tono de 35.80 y 37.88%, respectivamente. Las frambuesas control presentaron un descenso del 55% del día 0 al 15 de almacenamiento, siendo las frambuesas control las que al inicio del almacenamiento presentaron el mayor tono en comparación con los demás frutos y la que presentó mayor tono hasta el día 15 de almacenamiento. Los frutos recubiertos con mucílago de nopal presentaron un 44% en la disminución del tono hasta el último día de almacenamiento. Las frambuesas recubiertas con adición de aceite esencial de eucalipto registraron la mayor pérdida de tono, una disminución del 48% con respecto del día 0-15, pero en comparación de todos los tratamientos el último día de almacenamiento se observó un descenso del 1.36-2% más que los frutos control y los adicionados con mucílago de nopal.



Resultados y Discusión

Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre cada uno de los frutos empleados durante todo el almacenamiento de las frambuesas sometidas a refrigeración.

En la Figura 42B se muestran los resultados obtenidos de las frambuesas recubiertas con carboximetilcelulosa en donde se aprecia que al igual que los frutos adicionados de mucílago de nopal sufrieron una disminución en los valores de tono en el transcurso del almacenamiento, siendo en éste caso las frambuesas control las que al final del almacenamiento presentaron un menor valor (19.81) al último día de almacenamiento. Al inicio del almacenamiento éstas presentaron al día 0 el mayor valor de tono 43.82 mientras que las recubiertas con CMC el menor valor, 36.70, y para el último día un valor de 20.37, los frutos recubiertos con CMC adicionados con aceite esencial de eucalipto presentaron valores de 38.24-20.63.

Estadísticamente no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre cada uno de los frutos empleados durante todo el almacenamiento de las frambuesas sometidas a refrigeración.

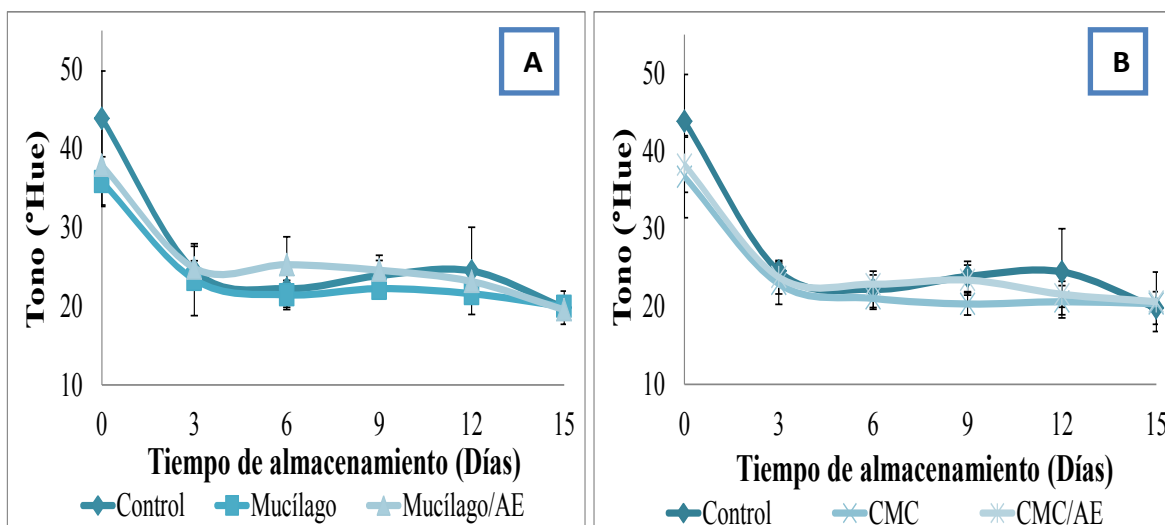


Figura 42.- Cambios en el tono de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Resultados y Discusión

Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora difieren de los obtenidos en la experimentación, obteniendo un ascenso del 3.11% en el tono de las zarzamoras adicionados con extracto etanólico. El cambio de tono observado en la experimentación sobre todo en las frambuesas control, quienes presentaron valores menores que los demás tratamientos, se debió a la síntesis de algunos compuestos cromáticos, especialmente antocianinas, propiciados por los procesos metabólicos que provocan colores más oscuros, así como la degradación de estos compuestos debido al envejecimiento natural de las frambuesas o también debido a la presencia de hongo (pérdida de tono en las frambuesas).

Luminosidad

En las frutas la luminosidad se considera un parámetro de calidad, ya que un producto luminoso es más atractivo para los consumidores, pues se asocia con la frescura del producto. En la Figura 43A se muestran los tratamientos empleados con mucílago de nopal, en donde se aprecia que las frambuesas control presentaron los mayores valores de luminosidad con 34.08 al día 0, mientras que al final del almacenamiento presentaron valores de 28.29 con una disminución del 16.98% en este parámetro, por otro lado las frambuesas recubiertas adicionadas con aceite esencial presentaron los valores más pequeños en luminosidad en comparación con los frutos control y las solo recubiertas, con una valor de 26.50, presentando una disminución del 0.15%, este parámetro presentó al transcurso del almacenamiento una tendencia lineal en todos los días de almacenamiento. Mientras que, las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal sin adición de aceite presentaron un incremento en la luminosidad con respecto al último día de almacenamiento del 8% en comparación con el día 0, que fueron valores de 25.32-27.39 observando así un efecto positivo en la aplicación del recubrimiento, ya que la luminosidad hace más atractivo al producto.



Resultados y Discusión

Estadísticamente se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la luminosidad al inicio y día 12 del almacenamiento entre las frambuesas control en comparación recubiertas con y sin aceite esencial.

La Figura 43B muestra los resultados obtenidos de las frambuesas manejados con CMC, en donde los frutos sólo recubiertos el tratamiento recubierto mostraron los menores valores en luminosidad con un 25.78, al igual que en las recubiertas con mucílago de nopal, las frambuesas presentaron un incremento del 2.42% al final del almacenamiento, también las frutillas recubiertas con CMC adicionadas con aceite esencial de eucalipto presentaron un incremento en la luminosidad del 2.87% al final del seguimiento.

Estadísticamente los frutos control presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la luminosidad el día 0-3, entre cada una de las frambuesas recubiertas con y sin adición de aceite esencial, así también las frambuesas recubiertas con CMC al día 12 de almacenamiento.

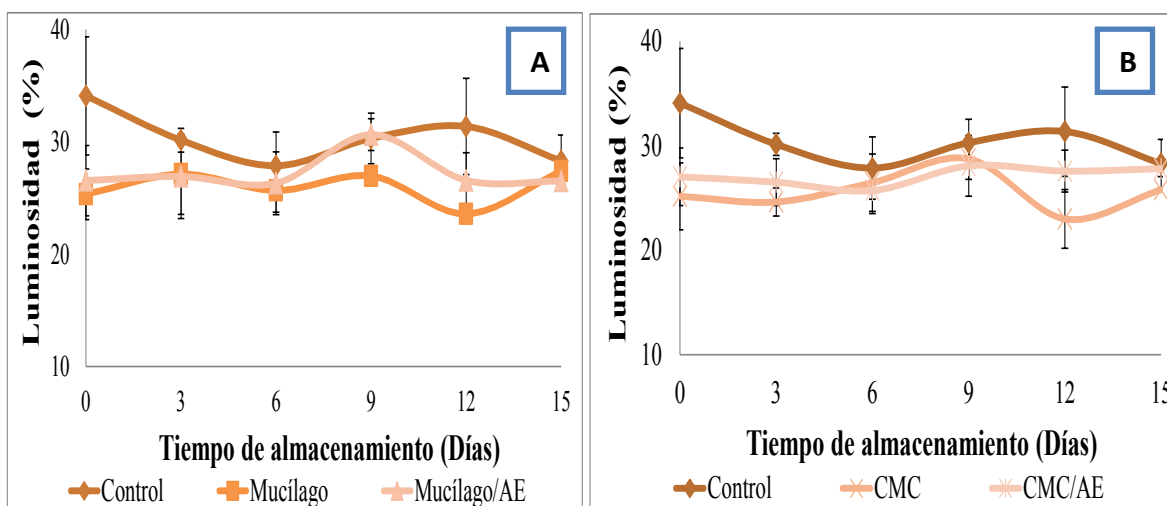


Figura 43.- Cambios en la luminosidad de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Resultados y Discusión

Los resultados difieren de los obtenidos de Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora, ya que en sus resultados todos los tratamientos mostraron un incremento en la luminosidad del día 0 al día 12 de almacenamiento refrigerado de todas las zarzamorras atribuido a la pérdida de líquido y que al realizar la medición con el colorímetro la fuente de luz reflejó en la superficie del líquido desprendido por las frutillas provocando que la cantidad de luz que paso al equipo fuera mayor con respecto a las frambuesas empleadas en el día 0.

La adición de los recubrimientos comestibles no presentó modificaciones en los parámetros de color, observando una disminución de color atribuyéndose a los procesos enzimáticos que dan resultado a la disminución de la calidad de las frambuesas.

5.4.1.2 Determinación de pérdida de peso

El principal componente de las frutas frescas (más del 70% del peso fresco), es el agua, el singular disolvente universal fundamental para todos los procesos vitales, los frutos tienen una gran tendencia a perder esta cantidad de agua. En el momento de su recolección el nivel de agua es elevado, al momento de realizar esta actividad se da lugar a la interrupción del ciclo de vida natural del fruto, por lo que se da la pérdida de agua por un fenómeno conocido como transpiración, ya que el fruto no tiene de donde adquirirla. Cuanto mayor sea la diferencia de presión de vapor (Humedad relativa) entre el producto hortofrutícola y su entorno, mayor será esta pérdida de agua. En términos generales, se estima que la pérdida de alrededor de un 5% del peso fresco por transpiración hace que el producto hortofrutícola sea no apto para el mercado (Domínguez *et al.*, 2008). La pérdida de agua de forma continua da como resultado un marchitamiento irreversible de los frutos, es decir una pérdida de masa y una reducción del tamaño del fruto deteriorando así, la calidad del mismo, haciéndolo blando, marchito y deshidratado, alcanzando un nivel tal, que el metabolismo se modifica provocando una aceleración del proceso de alteración del fruto, motivos por los cuales los consumidores ya no desean adquirirlos. El déficit de agua en el



Resultados y Discusión

almacenamiento afecta fundamentalmente a la turgencia de los tejidos vegetales, por lo que la pérdida de esta turgencia va a afectar a diversas funciones metabólicas, sobre todo a cambios en la textura lo que con lleva a una pérdida del “estado fresco” del producto vegetal, por lo que el mantenimiento de la proporción de agua en los productos vegetales es esencial para mantener la calidad (Pérez *et al.*, 2006).

En el caso de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (Figura 44A) al sexto día fueron las que presentaron mayor liberación de líquido con 1.13%, mientras que los frutos control fueron las que menor pérdida de peso presentaron 0.96%; para el último día de almacenamiento los frutos recubiertos con mucílago de nopal tuvieron mayor pérdida de peso, aunque no fue muy diferente con los demás frutos, ya que las frambuesas recubiertas adicionales con el aceite esencial presentaron 1.85% menor pérdida de peso que los frutos sólo recubiertos, mientras que los frutos control presentaron una pérdida de peso de 2.63%.

Estadísticamente los frutos con los diferentes tratamientos empleados no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la pérdida de peso durante el periodo de almacenamiento.

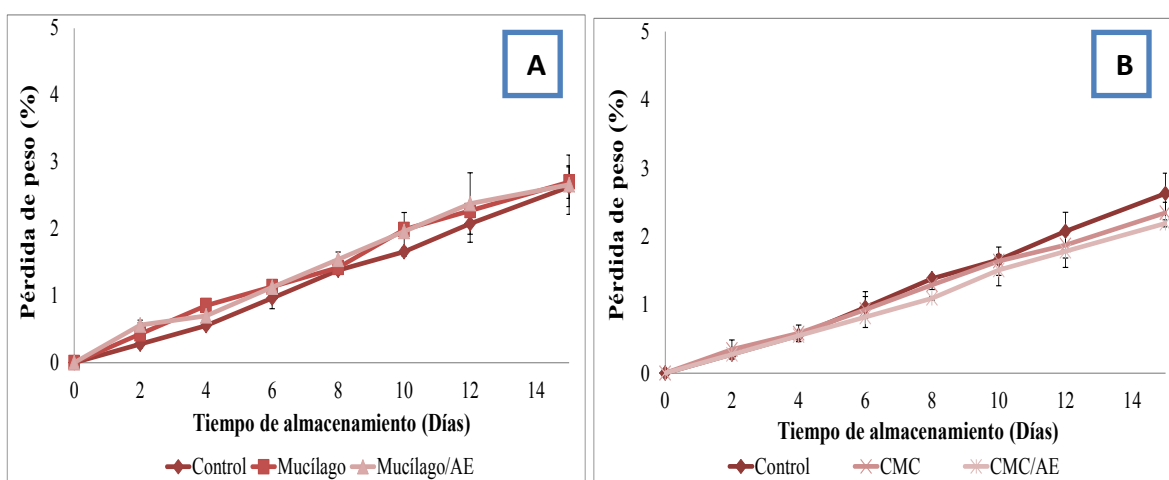


Figura 44.- Pérdida de peso en frambuesas recubiertas (A) carboximetilcelulosa y (B) mucílago adicionado con aceite esencial de eucalipto. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.



Resultados y Discusión

En los tratamientos donde se aplicó carboximetilcelulosa en las frambuesas (Figura 44B) se notó más la influencia de los recubrimientos comestibles, ya que para el último día del almacenamiento, las frambuesas control presentaron mayor pérdida de peso con un 2.63%, mientras que los frutos con menor pérdida fueron las recubiertas adicionadas con aceite esencial de eucalipto con 2.19%, seguido por el tratamiento donde se empleó el recubrimiento con 2.34%, el tratamiento adicionado con aceite esencial de eucalipto presentó 17% menor pérdida que el control.

Estadísticamente los tratamientos empleados con carboximetilcelulosa no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en la pérdida de peso con respecto al control. Como se puede observar la carboximetilcelulosa tuvo mayor efecto de 18% en la disminución de la pérdida de peso que el mucílago de nopal y con la adición de aceite esencial.

En un estudio realizado por Núñez *et al.* (2008) donde evaluó la calidad poscosecha en cultivares de arándano (*Vaccinium sp.*) sometidos a periodos de pre almacenamiento y temperaturas determinó que el peso del fruto es un factor que está relacionado con la temperatura y afecta su calidad disminuyendo su vida de anaquel, ellos evaluaron el efecto que tienen diferentes temperaturas sobre la pérdida de peso en las frutillas, encontrando que en condiciones de refrigeración (1 °C) no se observó diferencia entre los tres cultivares en donde la pérdida promedio de peso del fruto fue de 0.08% al día 1 a 12 °C el cultivar PB perdió 0.47% de su peso por día, el triple que las pérdidas de peso de 0.13 y 0.15% día-1 registradas en los cultivares BW y TB, respectivamente. Sin embargo, la mayor pérdida de peso en los tres cultivares se observó con la temperatura de 32 °C, en la que el cultivar PB perdió 41.8 y 63.5% más peso que TB y BW, respectivamente. Se ha mostrado que para frutos perecederos como duraznos y frutillas pequeñas la calidad decrece considerablemente a temperaturas por arriba de los 20 °C. En el caso de frutos de arándano, diferentes investigadores observaron que si los frutos se almacenan a temperaturas mayores de 20 °C el deterioro es significativamente más evidente que entre 10 y 20 °C; a más de 20 °C, la fruta puede perder de 15 a 20% de peso o firmeza en tres a cinco días a esta



Resultados y Discusión

temperatura la fruta puede perder de 15 a 20% de peso o firmeza suficiente para que no sea aceptada en el mercado. Estos resultados concuerdan con la temperatura usada en esta experimentación la cual fue de 5 °C.

Los resultados de Pérez (2013) concuerdan con los obtenidos en la presente investigación, quién extrajo compuestos activos de plantas para su aplicación en recubrimientos comestibles para controlar podredumbre gris en fresa concluyó que las fresas control y las infectadas fueron las que al final tuvieron mayor pérdida de peso siendo estadísticamente iguales ($p \geq 0.05$) en este parámetro. Las fresas recubiertas con mucílago de nopal y adicionadas con la concentración más alta 3000 ppm de extracto de orégano fueron las que tuvieron menos pérdida de peso desde el principio hasta el final de los días de estudio, con valores entre 0.7 y 3.4%, por lo que la aplicación de los tratamientos favoreció su conservación y ayudó a mejorar sus características y a disminuir la pérdida de peso, debido a la atmósfera modificada que se formó por la aplicación del recubrimiento.

Los resultados obtenidos por Pérez y Ramos (2006) concuerdan con los obtenidos en el proyecto, ellos evaluaron el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina en la calidad de fresa (*Fragaria vesca* L.) almacenada en refrigeración, encontraron que el porcentaje de pérdida de peso incrementó durante el almacenamiento para todos los frutos, tanto con recubrimiento como sin recubrimiento. El recubrimiento no modificó esta tendencia ya que al inicio del almacenamiento, el efecto del recubrimiento comestible no tuvo diferencia significativa con respecto al control ($P \geq 0.05$) ya que los valores de pérdida de peso oscilaron en 1.6% para el tratamiento de 1% de gelatina con tiempo de inmersión de 1 minuto; 2% de pérdida de peso para el resto de los tiempos de inmersión y los tratamientos de 2% de gelatina en todos sus tiempos de inmersión, así como para el 3% de gelatina con un tiempo de inmersión de 10 minutos, para el resto de los tratamientos se registró un ligero incremento ya que perdieron 3% de su peso inicial. Este comportamiento se mantuvo durante el almacenamiento hasta el cuarto día; sin embargo al quinto día se observó diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los frambuesas y éstos a su



Resultados y Discusión

vez con el control presentando una pérdida de 7 % para los frutos sin recubrimiento, mientras que a mayor concentración de gelatina aumentó la pérdida de peso.

En un estudio realizado por Márquez *et al.* (2009) en níspero japonés recubiertos con quitosano tienen como resultados que la pérdida de peso de los frutos aumenta con el tiempo de almacenamiento en todos los tratamientos como consecuencia de la transpiración, lo cual concuerda con lo encontrado en este estudio.

Por otro lado Castro y Valencia (2013) quien estudió el efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en la calidad poscosecha de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) concuerdan que la pérdida de peso se ve influenciada por los procesos de transpiración y respiración de los frutos, también al igual que en este proyecto en todos los periodos de almacenamiento existió un incremento de la pérdida de peso en frutos recubiertos y sin recubrir. Los frutos sin recubrir fueron los que presentaron mayor pérdida de peso, 5% en el primer periodo de almacenamiento (60 días a 5°C y 90%HR más 7 días a 20°C y 65%HR) y de 6.5% al final del almacenamiento (60 días a 5 °C y 90%HR más 7 días a 20°C Y 65% HR).

5.4.1.3 Determinación de índice de decaimiento

La enfermedad causada por *Botrytis cinerea* es una de las más comunes en los cultivos y afecta indistintamente a frutas y hortalizas (Mitchel *et al.*, 1996). El índice de decaimiento se evaluó cada dos días en el transcurso del almacenamiento, para determinar los síntomas causados por la presencia de hongos en las frambuesas (Pérez *et al.*, 2006; Díaz-Narváez *et al.*, 2010), se evaluó visualmente con una escala subjetiva establecida en el apartado 4.7.2.3.

En la Figura 45A, se muestran los resultados de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal, donde se observa que al inicio del almacenamiento los frutos recubiertos con aceite esencial de eucalipto presentaron 20% menos incidencia de la enfermedad que las



Resultados y Discusión

frambuesas sin recubrir presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$), de acuerdo con la escala empleada se calificaron con mejor apariencia a las frambuesas con los dos recubrimientos adicionados con aceite esencial de eucalipto. Estadísticamente las frambuesas recubrimientos presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el índice de decaimiento de las frambuesas con recubrimiento de mucílago con y sin aceite esencial, así como las frambuesas control. En el caso de los frutos recubiertos con CMC (Figura 45B) las frambuesas que presentaron menor daño fueron aquellos frutos con recubrimiento adicionado con aceite esencial en comparación con los frutos control, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Al final del almacenamiento (15 días) las frambuesas con los tratamientos que presentaron menor índice de decaimiento fueron los recubrimientos, tanto de CMC y mucílago de nopal con aceite esencial de eucalipto aproximadamente del 30%, mientras que los frutos testigo presentaron un daño del 50.6%, estos resultados son similares a los reportados por Díaz-Narváez *et al.* (2010) quienes evaluaron el índice de decaimiento en fresa con un recubrimiento de quitosan donde al termino del almacenamiento las muestras testigo presentaron daño moderado (42%) y fresas recubiertas con formulación A, presentaron un daño inferior al 16% (no dañado) B y C presentaron un daño ligero (16 y 20%, respectivamente).



Resultados y Discusión

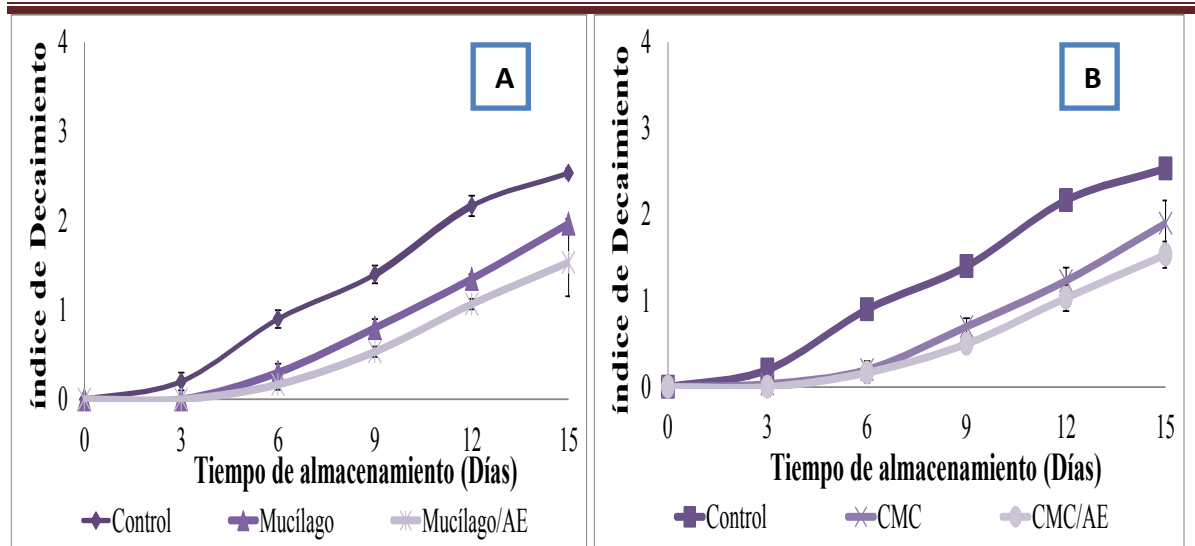


Figura 45.- Índice de decaimiento de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Los datos analizados anteriormente nos muestran que las frambuesas recubiertas con los polisacáridos adicionadas con aceite esencial de eucalipto evita la aparición del hongo *Botrytis cinerea* en los frutos, indicando que el método es efectivo en la inhibición del hongo; la aplicación de recubrimientos comestibles es una de las tecnologías que se emplean para control microbiológico. En la Tabla 24 y 25 se observa el grado de deterioro de las frambuesas recubiertas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto en el transcurso del tiempo.



Material es y Métodos

Tabla 24.- Seguimiento fotográfico de las frambuesas recubiertas a base de carboximetilcelulosa 0.5% adicionadas con aceite esencial de eucalipto a 2000ppm para el parámetro de índice de decaimiento.

Tratamiento	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15
FI						
FC						
FRI						
FR						
FRI+AE						
FR+AE						

Las abreviaciones representan FI: Frambuesas infectadas, FC: Frambuesas Control, FRI: F Frambuesas recubiertas infectadas, FR: Frambuesas recubiertas, FRI+AE: Frambuesas recubiertas infectadas + aceite eucalipto, FR+AE: Frambuesas recubiertas + aceite eucalipto.



Resultados y Discusión

Tabla 25.- Seguimiento fotográfico de las frambuesas recubiertas a base de mucílago de nopal a 0.5% adicionadas con aceite esencial de eucalipto a 2000ppm para el parámetro de índice de decaimiento.

Tratamiento	Día 0	Día 3	Día 6	Día 9	Día 12	Día 15
FI						
FC						
FRI						
FR						
FRI+AE						
FR+AE						



Materiales y Métodos

5.4.1.4 Liberación de líquido

La liberación de líquido que experimentan los frutos durante el almacenamiento se ve acompañada por un ablandamiento (pérdida de firmeza) y arrugamiento, consecuencia de la actividad enzimática propia de la maduración y senescencia de los tejidos (Márquez *et al.*, 2009), ya que si el tejido celular resulta dañado el primer indicio es la pérdida de líquido y/o solutos del fruto (Navarrete, 2009). La degradación de los hidratos de carbono poliméricos, como el de las sustancias pécticas y hemicelulosas, debilita las paredes celulares y las fuerzas cohesivas que mantienen unidas a las células. La protopectina, es un precursor insoluble componente de las sustancias pécticas, que se encuentra ligada por enlaces cruzados a otras cadenas poliméricas a través de puentes de calcio y está unido a otros azúcares, en su maduración la protopectina se degrada gradualmente; esta velocidad de degradación está relacionada directamente con el ablandamiento de la fruta (Navarrete, 2009). Esto se traduce en una disminución de su valor comercial (Márquez *et al.*, 2009).

Para el día 6 del almacenamiento de las frambuesas se observó con gran claridad el efecto positivo de los recubrimientos comestibles, mostrando así el control de la liberación de líquido de 1.0175%, mientras que para los demás tratamientos de mucílago de nopal con y sin adición de aceite esencial de eucalipto de 0.36%, previendo en un 85% la pérdida de líquido.

Como se observa en la Figura 46A, el desprendimiento de líquido se vio afectado por la aplicación del recubrimiento comestible. El primer día de almacenamiento los frutos control presentaron un desprendimiento de líquido del 1%, mientras que las frutillas recubiertas con mucílago de 1.28% y las adicionadas con aceite esencial de eucalipto 1.21%, no mostrando diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

Para el último día del seguimiento de las frambuesas recubiertas al día 15 el efecto de los recubrimientos no fue tan notorio como en el día 6, sin embargo se sigue observando un efecto de ellos, ya que las frambuesas sin adición de recubrimientos el control presentaron



Resultados y Discusión

una liberación de líquido de 1.03%, mientras que las frambuesas con el recubierto con mucílago de nopal 0.93%, y las frutillas con el recubrimiento adicionado del aceite esencial de eucalipto 0.88%; con lo que la adición de aceite ayuda a proteger en un 63% la liberación de líquido de las frambuesas; como se puede observar la adición de aceite esencial de eucalipto en el recubrimiento comestible tiene mayor efecto en la prevención de evitar la pérdida de líquido, con esto corroborando el poder antifúngico del aceite, ya que al evitar la proliferación del hongo esto ayuda a que el fruto se preserve en mayor tiempo.

El análisis estadístico no mostró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre la liberación de líquido de las frambuesas con los diferentes tratamientos durante el transcurso del almacenamiento de 15 días, sin embargo si se ve el efecto que tienen los recubrimientos con y sin adición de aceite esencial respecto a las frambuesas control.

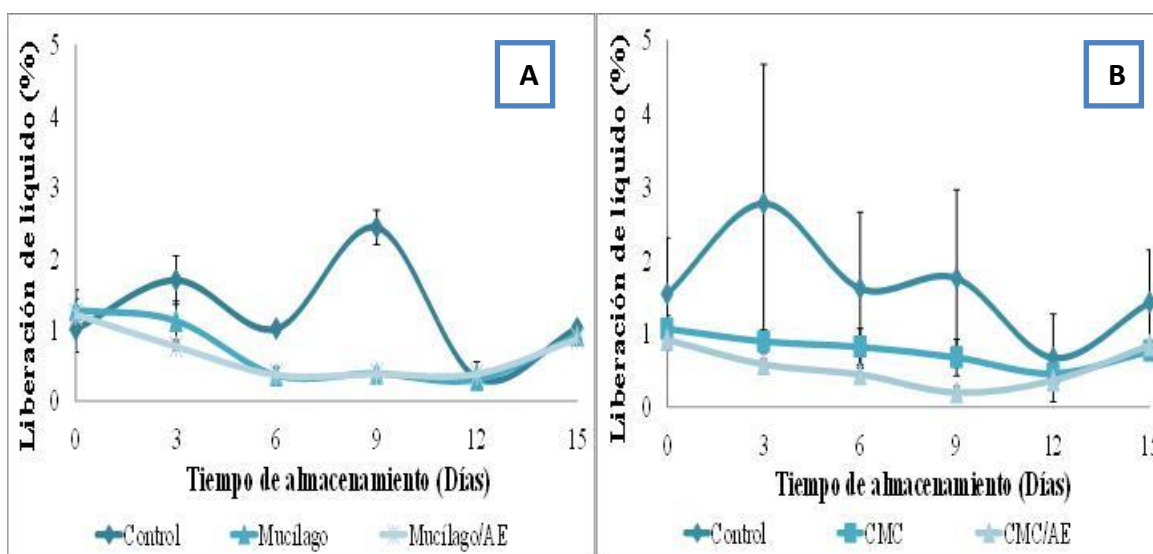


Figura 46.- Liberación de líquido de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

En la Figura 46B se muestran los tratamientos empleados en las frambuesas utilizando carboximetilcelulosa, los frutos control muestran mayor liberación de líquido que los demás tratamientos empleados durante todo el tiempo de almacenamiento, siendo 22% mayor la



Resultados y Discusión

liberación de líquido con respecto a las frambuesas con los otros dos tratamientos empleados con carboximetilcelulosa con y sin adición de aceite esencial, con respecto a la figura se puede observar que el recubrimiento comestibles comenzó a mostrar un efecto en los frutos el día 3 de almacenamiento, ya que el control tuvo una liberación de líquido 74% mayor que los demás tratamientos.

Estadísticamente los distintos tratamientos aplicados a las frambuesas mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la liberación de líquido durante el transcurso del seguimiento de las frambuesas almacenadas los 15 días, se observó el efecto que tuvieron los recubrimientos con y sin adición de aceite esencial respecto al control; esto se observó en los dos casos de las polisacáridos empleados, no se muestra diferencia significativa pero sí se ve el efecto de los recubrimientos comestibles. Esto podría obedecer a una actividad enzimática semejante sobre algunos polímeros constitutivos de la pared celular, como protopectina, ácidos pécticos y carbohidratos de alto peso molecular de carácter amiláceo, lo que se manifiesta en una firmeza similar de los frutos con recubrimiento (Márquez *et al.*, 2009) y además a que las frambuesas no fueran las mismas durante todo el seguimiento.

Los resultados descritos anteriormente concuerdan con los reportados por Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora y Navarrete (2009) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir ya que su estudio mostró el mismo comportamiento expuesto en este proyecto ya que los frutos que fueron recubiertos perdieron menos líquido con respecto sus controles, manteniendo la calidad de los mismos e incrementando su vida útil.

Es importante mencionar que las frambuesas empleadas como control al no tener un recubrimiento que no la haga tan vulnerable a la incidencia y ataque del hongo *Botrytis cinerea*, estas fueron más susceptibles y hubo crecimiento del mismo, al tener el hongo etc. consume de manera más rápida los polisacáridos de la pared vegetal del fruto ya que son



Resultados y Discusión

necesarios para el desarrollo de actividades metabólicas y enzimáticas, lo que hace que la pared se rompa y pierda el líquido contenido en los frutos.

González *et al.* (2011) quienes evaluaron el efecto de películas comestibles formuladas a base de alginato y grenetina en la vida útil del mango cortado listo para consumir reportaron el mismo efecto de los recubrimientos comestibles que los obtenidos en el proyecto, ya que para el último día de seguimiento en almacenamiento, día 14, el control mostró un porcentaje de liberación de líquido de 5%, mientras que los tratados con los recubrimientos comestibles presentaron una pérdida de 1.8-0.5% lo que indicó que estos funcionan como una capa protectora pero también impide la pérdida de líquidos que contienen nutrientes como vitaminas propias del mango.

Todos los tratamientos empleados y los que no, sufrieron al igual que todos los frutos un proceso de senescencia que se manifiesta como un reblandecimiento de los tejidos, acompañado en ocasiones de una rotura de la piel con hendiduras largas y profundas y de pardeamientos internos, este proceso se vio minimizado con el empleo de los recubrimientos comestibles ya que actúan en el mecanismo de maduración. La secuencia hidrolítica y la activación de sistemas enzimáticos son responsables del reblandecimiento característico de los frutos durante la maduración y que tiene su máxima expresión durante la senescencia, de forma irreversible, acompañados con síntomas como la degradación de color, pérdida de elasticidad y turgencia del fruto (Agustí, 2010).

5.4.2 Parámetros fisicoquímicos

5.4.2.1 Determinación de sólidos solubles

Los grados Brix miden la cantidad de sólidos solubles presentes en un jugo o pulpa expresados en porcentaje de sacarosa; y están compuestos por los azúcares reductores y no reductores y por los ácidos orgánicos, sales y demás compuestos solubles en agua presentes en los jugos de las células de una fruta. Este índice está estrechamente ligado al estado de madurez de un fruto, pues valores de °Brix elevados, indican un alto contenido de azúcares



Resultados y Discusión

provenientes de una degradación de carbohidratos complejos. El contenido de sólidos solubles aumenta hasta alcanzar máximo y después se mantiene o disminuye cuando avanza la maduración (Navarrete, 2009), así mismo el contenido de ácidos disminuyen.

Los sólidos totales solubles tienen importancia por estar formados de compuestos orgánicos que, en gran medida, determinan el sabor, los colores y, en general, la calidad de las frutas, se ven influenciados por algunos factores externos, entre los cuales la temperatura y la luminosidad (Bautista, 1987).

Al inicio del almacenamiento las frambuesas control (Figura 47A) presentaron un promedio de sólidos solubles de 10.4°Brix, mientras que los frutos recubiertos con mucílago de nopal de 13°Brix y los recubiertos adicionados con aceite esencial un promedio de 11.2°Brix, no mostrando diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el primer día de almacenamiento para las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal.

Mientras que para el sexto día del almacenamiento las frambuesas recubiertas con y sin aceite mostraron el mismo comportamiento, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las frambuesas control menor del 17%.

Para el último día de almacenamiento las frambuesas control presentaron el mismo comportamiento teniendo una disminución de los °Brix de 20.86% respecto al primer día y para el recubierto con el aceite esencial una disminución de 17.58% de sólidos solubles, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) estos dos tratamientos, con respecto al tratamiento sólo recubierto con mucílago de nopal, estas diferencias se pueden deber a que las frambuesa empleadas no eran las mismas en todo el seguimiento y por ende ahí variación de la cantidad de sólidos solubles contenidas en las frambuesas.



Resultados y Discusión

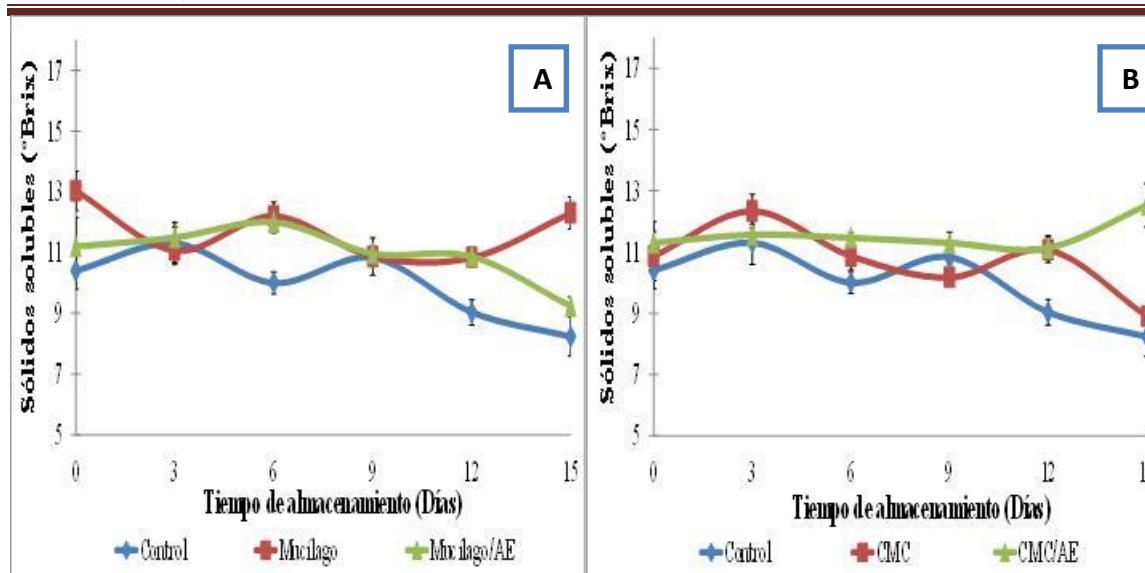


Figura 47.- Sólidos solubles de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Para el primer día de almacenamiento para las frambuesas recubiertas con carboximetilcelulosa (Figura 47B) no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) y tienen un promedio de 10.85 °Brix, mientras que para el día 12 y último de almacenamiento se observó una reducción de sólidos solubles de las frambuesas control del 20.86%, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) al día 12 con respecto de los demás frutos con recubrimiento con y sin adición de aceite esencial de eucalipto, para el último día de almacenamiento el tratamiento con recubrimiento comestible también presentaron una disminución de sólidos solubles del 18% respecto al primer día de almacenamiento, sin embargo, el tratamiento con recubrimiento y adición de aceite esencial aumentó del 10.88% presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) respecto a los otros dos tratamientos.

El hecho de que las frutillas tengan recubiertas con mucílago de nopal y carboximetilcelulosa con adición de aceite esencial tengan diferencia significativa respecto a las frambuesas control y un aparente incremento de los sólidos solubles no se debe en tanto a la maduración del fruto, si no a que las frambuesas empleadas no siempre fueron las mismas y por ende hay variabilidad de la concentración de los sólidos solubles contenido



Resultados y Discusión

en ellas, ya que las frambuesas al ser frutos no climatéricos, son recolectados una vez que alcanzan su madurez comercial y después de haber sido cortados apenas siguen madurando de forma lenta y no tienen cambios bruscos en su aspecto y composición, por eso la recolección se hace después de la maduración porque si se hace cuando están verdes no maduran, solo se ponen blandas, este aumento también se puede deber a que como maduran lentamente la protopectina en las paredes celulares hidroliza a pectinas solubles (Navarrete, 2009). Sin embargo, si se puede observar la tendencia a una disminución de la cantidad de sólidos solubles para los demás tratamientos, esto se debe al proceso de senescencia del fruto y a la aparición de microorganismos que al consumir o degradar los azúcares del fruto para desarrollar sus actividades metabólicas, causa una disminución de los mismos en las frambuesas.

Al comparar los resultados con Sánchez, (2013) quién trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora reportó una concentración de 10.2°Brix para el control, las zarzamosas recubiertas con un promedio de 8.4°Brix, mientras que los adicionados con aceite de 9.7°Brix que entran en los rango obtenidos de las frambuesas, no obtuvo diferencia significativa con los tratamientos, no se modificó la concentración de sólidos solubles durante el almacenamiento, en el cuál observaron un ligero aumento en los sólidos solubles, dicho incremento esperado por la maduración del fruto, mientras que las zarzamosas infectadas presentaron una disminución de los sólidos solubles por la senescencia de los frutos, este comportamiento fue muy similar al obtenido con los frutos empleados en la experimentación, puede deberse a que son frutillas y la concentración de la cantidad de °Brix es muy similar al final de almacenamiento.

Por otro lado los resultados de Ayala *et al.* (2012) difieren de los obtenidos, quién evaluó el efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato de sodio y iones de calcio sobre la calidad de mora de castilla (*Rubus glaucus benth*) encontró que los sólidos solubles totales se incrementaron en los tratamientos, probablemente por la conversión de ácidos orgánicos



Resultados y Discusión

en azúcares, presentando diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de almacenamiento por recubrimiento y tipo de empaque.

5.4.2.2 Determinación de pH

La medición de pH se traduce en conocer el ion hidrógeno que es de utilidad para la conservación de alimentos y en el deterioro de estos, ya que pueden presentarse cambios debido a la acción enzimática y el desarrollo de microorganismos. La intensidad de estos cambios dará como resultado una marcada concentración del ion hidrógeno (Navarrete, 2009).

En la Figura 48A se observan los resultados obtenidos de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal al primer día de muestreo (0) registraron un pH un tanto elevado comparado con los demás días, para un tercer día de almacenamiento disminuyó el pH un promedio de 18%.

A partir del día 3 se observó un incremento de pH conforme pasan los días de almacenamiento, para éste día y el 6 se muestra una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las frambuesas controles con respecto a los frutos recubiertos de mucílago de nopal con y sin adición de aceite esencial de eucalipto.

A partir del día 9 hasta el último de almacenamiento no se muestra diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las frambuesas que fueron aplicadas con los diferentes tratamientos, hay un incremento de pH del día 3 al 15^{vo} día del tratamiento control de 6%, por parte del tratamiento con recubrimiento del 7% y el adicionado con aceite esencial de eucalipto del 8.7%.

Los tratamientos adicionado con carboximetilcelulosa (Figura 48B) mostraron el mismo comportamiento que los adicionado con mucílago de nopal en donde del día 0-3 hay una



Resultados y Discusión

disminución del 21% en pH, más sin embargo a partir de ese día hay un incremento uniforme conforme pasan los días de almacenamiento.

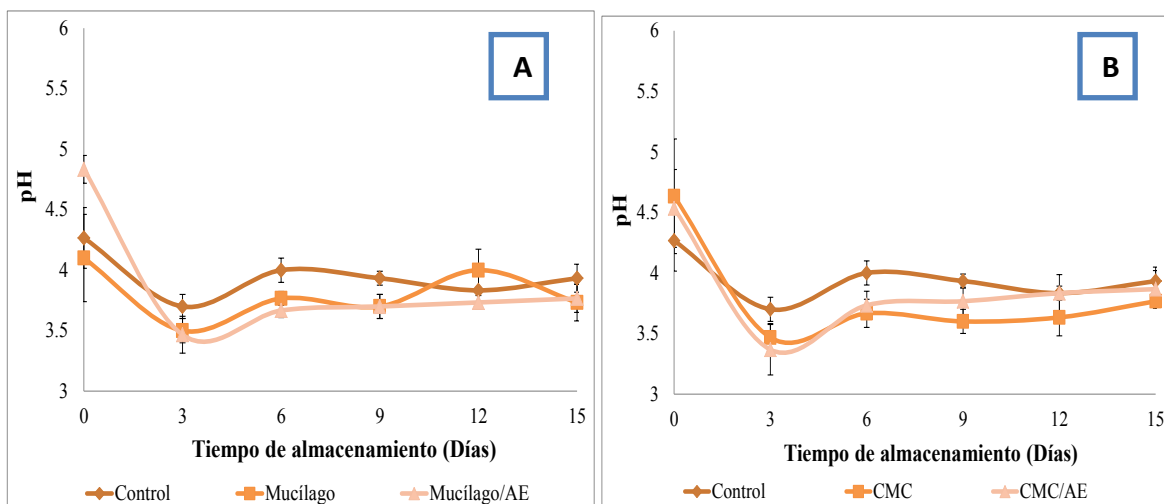


Figura 48.- pH obtenido de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

El mayor incremento de pH al final del almacenamiento lo tuvieron los frutos recubiertos con CMC adicionado con aceite esencial de un 13% mientras que las frambuesas control fueron del 6%.

Estadísticamente sólo se presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) el día 6 por parte del tratamiento control en todos los días de almacenamiento.

La disminución de pH del día 0-3 se puede deber a como lo menciona Saavedra y Algecira, (2010) quién hizo una evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas, observó que la variación de esta propiedad resultó significativa para la temperatura de refrigeración, y la tendencia a disminuir en los primeros días es consecuencia del stress al cual se somete el fruto, ya que una vez arrancado de la planta durante los primeros días se ve obligado a gastar parte de sus ácidos orgánicos como parte de sus procesos metabólicos.



Resultados y Discusión

Los resultados obtenidos coinciden con los de Navarrete (2009) quien hizo la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus fruticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir, tuvo al inicio del almacenamiento un pH entre 3.5-3.8 y al final del almacenamiento un pH entre 3.8-4.3 estos valores están entre los rangos obtenidos en el proyecto, los frutos también tuvo un aumento en los valores de pH conforme transcurridos los días, demostró que el recubrimiento no provocó modificaciones en este parámetro ya que las zarzamosas con los tratamientos, así como el control incrementaron sus valores en pH a lo largo del almacenamiento, por lo que el recubrimiento no afecto el curso de la maduración de las zarzamosas.

Por otro lado los resultados obtenidos por González (2010) coinciden con los de éste proyecto, el evaluó la conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*), los valores estudiados en frutillas tuvieron valores al inicio del almacenamiento de pH 3.4 y al final entre 3.85-3.7 para temperaturas de 21 y 5°C, a pesar de las diferentes temperaturas de almacenamiento el pH tiende a aumentar conforme transcurren los días de almacenamiento, y que las frutillas al ir sufriendo su proceso normal de maduración por sus procesos fisiológicos normales van a cambiar sus características fisicoquímicas disminuyendo el porcentaje de acidez y aumentando el pH y sus características organolépticas a causa de estos cambios, cambio de color y apariencia.

5.4.2.3 Determinación de acidez titulable

Los ácidos orgánicos se encuentran circulando en los tejidos vegetales tras la recolección y tienden a disminuir durante la fase de senescia. La mayor parte de esta pérdida se debe a su oxidación en el metabolismo respiratorio, la reacción que se traduce en un incremento del cociente de respiración (Navarrete, 2009).



Resultados y Discusión

La aplicación de los distintos tratamientos a la frambuesa no significó grandes cambios en el comportamiento del porcentaje de acidez titulable en los frutos durante la maduración los resultados son presentados en la Figura 49.

En la Figura 49A se observa que al día 0 las frambuesas recubiertas con mucilago de nopal presentaron una acidez promedio de 0.98, sin embargo al igual que el pH tuvieron el mismo comportamiento del día 0-3 en donde tuvieron una disminución del 45% en este parámetro, para los siguientes días el comportamiento de acidez fue constante y en algunos tratamientos disminuyó el pH de las frambuesas.

Del día 3-6 en las frambuesas control hubo un aumento de 22% de acidez, mientras que las frambuesas recubiertas del 27% y los frutos recubiertos con el tratamiento adicionado con aceite esencial del 1.53%; los frutos control se mantuvieron constantes para los demás días de almacenamiento, las frambuesas recubiertas solo tuvieron una alza el día 12 del 12%, y el último día de almacenamiento disminuyó el valor de acidez de 0.73-0.64, el mismo comportamiento se observó en los frutos con tratamientos recubiertos adicionados con aceite esencial.

Estadísticamente presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) el día 0 las frambuesas recubiertas sólo con mucílago de nopal respecto a los otros 2 tratamientos y el día 3 con el adicionado con el aceite esencial, para los demás días siguientes y tratamientos, no hubo diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

El comportamiento obtenido por parte de los tratamientos recubiertos con carboximetilcelulosa se muestra en la Figura 49B, en donde los frutos control mostraron 1.05 en el contenido de acidez, mientras que los tratamientos recubiertos con CMC y el adicionado con aceite fueron de 0.81 y 0.50, respectivamente.



Resultados y Discusión

A partir del día 3 la acidez presente en las frambuesas comenzó a disminuir y en algunos casos se mantuvo constante como fue el tratamiento control, que disminuyó 39% la acidez al final del almacenamiento respecto al primer día, mientras que el tratamiento recubierto tuvo una disminución del 28%.

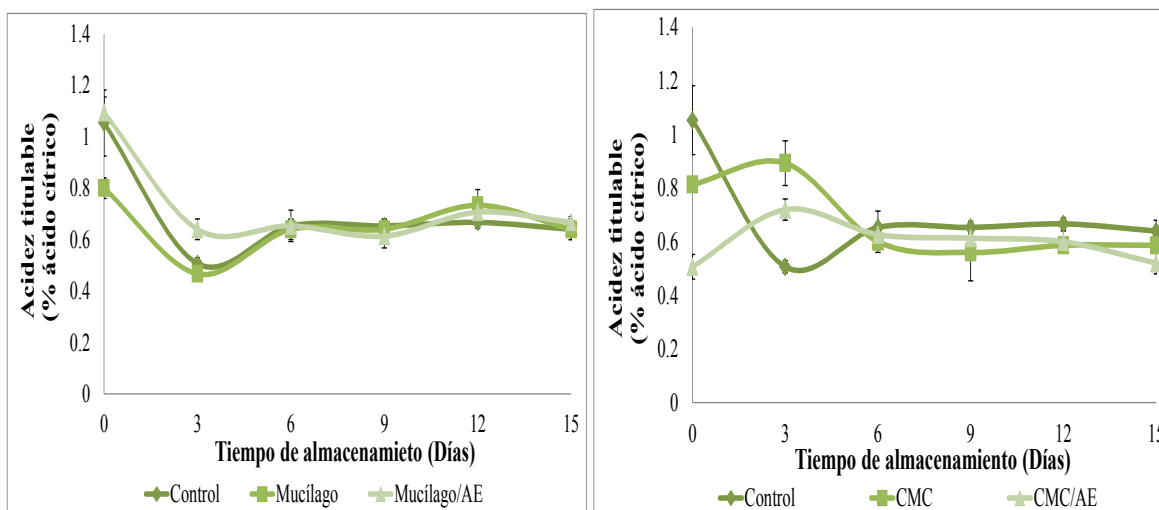


Figura 49.- Cambios de acidez titulable contenido en las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y CMC (B) 0.5% con y sin aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm almacenadas en refrigeración. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Estadísticamente los frutos sólo mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) de los días 0-3, mientras que para los demás días ya no hubo diferencia entre las frambuesas con y sin adición de recubrimiento comestible ($p \geq 0.05$).

En cuanto a la acidez, esta se encuentra significativamente relacionada con el pH, esto se debe a que a medida que el pH se incrementa, la acidez disminuye. Con el aumento de la maduración se observó un descenso uniforme del contenido de las acidez total titulable, lo que indica que se están utilizando los ácidos del fruto como sustrato de respiración, debido a que los ácidos, en comparación con los carbohidratos, contienen, por cada átomo de C y de H, más átomos de O y así, la liberación de CO_2 es mayor que la toma de O_2 .



Resultados y Discusión

Los resultados coinciden con Saavedra *et al.* (2010) quien hizo una evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas, en donde se observa una disminución y posteriormente una estabilización o tendencia constante de acidez, que puede ser ocasionada por el stress al cual se ve sometido el fruto una vez cosechado y puesto el recubrimiento sobre él.

Por su parte los resultados obtenidos por Restrepo (2010) quién evaluó la conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch *cv.* *Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de carnauba, coinciden con los obtenidos en el proyecto valores que se sitúan entre 0.88-0.94, encontró que en los tres tratamientos que empleó se observó la tendencia a la disminución de la acidez con el aumento del pH de los frutos, posiblemente debido a que, en el caso de los recubrimientos comestibles, éstos ralentizan la frecuencia respiratoria de las fresas y retrasan la utilización de los ácidos orgánicos en la reacciones enzimáticas.

Por otro lado Villegas y Aquino, (2005) estudiaron los cambios en la calidad de frutos de Litchi mínimamente procesados, también mostró el mismo comportamiento a disminuir la concentración de ácido málico durante el almacenamiento de 0.5-0.3 g. ác. Málico/100g de tejido después de 12 días a 2,5 y 10°C, lo que él explica por la utilización de los ácidos orgánicos en el proceso de respiración y otras reacciones biodegradables.

Figuroa *et al.* (2013) evaluó el efecto de recubrimientos comestibles a base de almidón nativo y oxidado de yuca sobre la calidad de mango (*Tommy Atkins*), encontró que la acidez titulable en los mangos decreció significativamente ($p < 0.05$) a los 16 días de almacenamiento, siendo más altas en los frutos tratados comparados con los frutos testigos y asocian este comportamiento a la atmósfera modificada generada por los recubrimientos que permite ralentizar el proceso metabólico en los frutos, y en consecuencia, se retrasa la degradación enzimática del ácido cítrico o conversión del mismo en azúcar durante la maduración, por lo cual también hay mayor extensión del tiempo de vida útil.



Resultados y Discusión

5.4.3 Parámetros químicos

5.4.3.1 Determinación de antocianinas

Las antocianinas son compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides y están presentes en la naturaleza en forma de pigmentos hidrosolubles en flores, frutos, bayas y hojas con grandes variedades de estructuras químicas, concentraciones y siendo característica de cada material y atributo específico para la caracterización del mismo (Aguilera *et al.*, 2011). Son un grupo de pigmentos que dan lugar a los colores de azules a rojos en muchos frutos y flores; y son de interés por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, ya que pueden influenciar su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos, y por su implicación en la salud humana a través de diferentes vías y se han convertido en una opción interesante como posibles sustitutos de los colorantes sintéticos. Adicionalmente estas sustancias poseen un valor agregado por su capacidad antioxidante y citotóxica (Santacruz, 2011).

En la Figura 50A se muestran los resultados obtenidos con respecto a la concentración de antocianinas en frambuesas (contenido principalmente por el antociano cianidina-3-glucósido) con los diferentes tratamientos con respecto al tiempo de almacenamiento. Las frambuesas control presentaron un contenido de 29.12 mg/100g, las recubiertas con mucílago de nopal (Figura 50A) de 31.90 mg/100g y las recubiertas con adición de aceite esencial de eucalipto presentaron una concentración de 29.82 mg/100g al inicio del almacenamiento y no mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), hasta el día 3 el tratamiento recubierto presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con una disminución del 30% comparado con el primer día de 31.9 a 22.33 mg/100g.

Todos los tratamientos tuvieron una tendencia a aumentar o mantener constante la concentración de antocianos hasta el día 6, donde todos sufrieron para el día 9 una disminución promedio en la concentración de 28.47%. Para el día 12 los frutos control presentaron un aumento del 27% (de 23.43 a 29.87 mg/100g fruto) en el contenido de



Resultados y Discusión

antocianos y se presentó una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre cada una de la frambuesas aplicadas con los distintos tratamientos propuestos.

Para el final del almacenamiento los frutos adicionados con aceite esencial aumentaron su contenido de antocianos en un 42%, mientras que los demás disminuyeron su concentración, los frutos control en un 46% (29.87-16.11 mg/100g fruto) y las frambuesas sólo recubiertas disminuyeron en un 19% (25-20 mg/100g fruto), presentando diferencia significativa entre cada uno de ellas ($p \leq 0.05$).

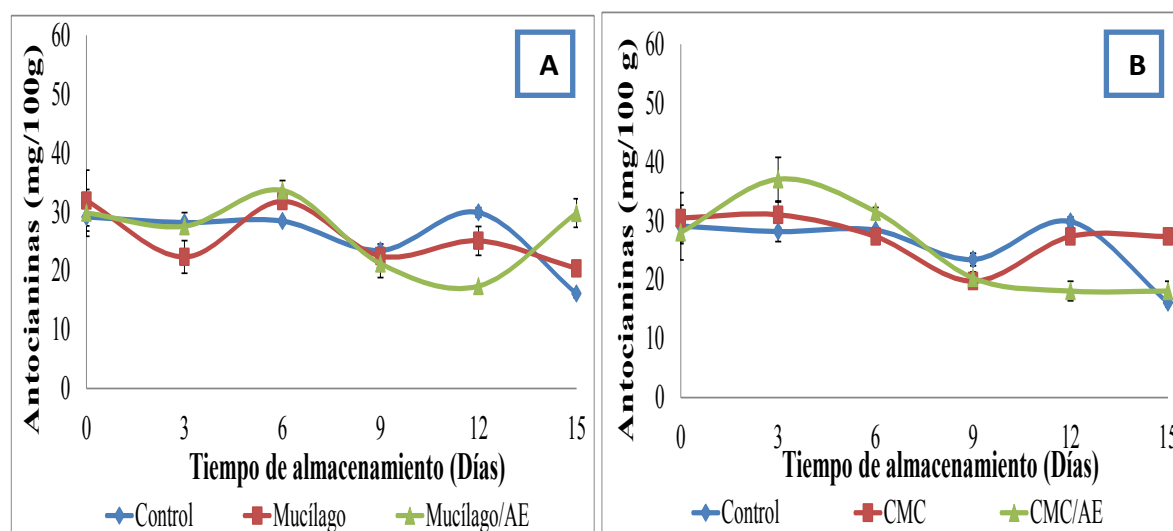


Figura 50.- Contenido de antocianos en las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) con y sin aceite esencial de eucalipto. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

Para el caso de las frambuesas recubiertas con carboximetilcelulosa (Figura 50B) el contenido de antocianos al inicio del almacenamiento fue entre 28-30 mg/100g fruto, las recubiertas adicionadas con aceite esencial aumentaron el contenido de antocianos del 24% para el tercer día, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con los demás frutos empleados; para el resto del seguimiento en el transcurso de los días comenzó a disminuir la concentración y para el último día de almacenamiento en un 51% de 37.07-18.07mg/100g fruto, presentando diferencia significativa ($p \leq 0.05$) nuevamente el día 12.



Resultados y Discusión

Las frambuesas control mantuvieron una tendencia constante hasta el día 9 donde presentaron una disminución en la concentración del 17.52%, para luego en el día 12 registraron un incremento del 22% (23.43-29.87 mg/100g fruto), para el último día de almacenamiento volvieron a tener una disminución del 46%, siendo los frutos control los que presentaron menor contenido de antocianos para el último día de almacenamiento.

Los frutos recubiertos de CMC al igual que los demás, para el día 9 tuvieron una disminución de 35.21% en la concentración de antocianos respecto al primer día, sin embargo después de ese día comenzó a aumentar su concentración siendo las que tuvieron la mayor cantidad de antocianos para el último día de almacenamiento, con una concentración de 27.34%.

Estadísticamente al final del almacenamiento las frambuesas recubiertas presentaron diferencia significativa respecto a los demás frutos ($p \leq 0.05$).

El contenido de antocianinas totales en frambuesa es influenciado por el ambiente de producción y la variedad. Peña-Varela (2006) trabajó con frambuesa a diferentes grados de maduración reportó valores entre 19 y 51 mg/100 g de antocianinas en frambuesa, de 28.7 a 55.6 mg/100 g para Tlamimilolpa, Hgo. y de 8.8 a 53 mg/100g de antocianinas en frambuesa para San Mateo Acatitlán, México. Los resultados expresados por este autor se encuentran entre los obtenidos en este trabajo.

Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago aplicados a zarzamora reportó una concentración de antocianinas alrededor de 40mg/100 g en las muestras control, mientras que con los tratamientos un valor de 47.36 mg/100 g al inicio del muestreo, mientras que al cabo de 12 días de seguimiento reporta valores entre 36-39 mg/100 g de los diferentes tratamientos trabajados, los valores reportados son más altos que el fruto de estudio en el proyecto, esto debido a que son diferentes frutillas, sin embargo en ambos trabajos se muestra un efecto protector por parte de los recubrimientos comestibles.



Resultados y Discusión

García *et al.* (2002) evaluó las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutas rojas encontró que el concentrado que presentó el mayor contenido en antocianos fue la grosella, seguido de la uva, frambuesa, zarzamora, y en último lugar la cereza, con valores que oscilaron entre 8.018 y 51.281 mg/Kg, para los concentrados con menor y mayor contenido, respectivamente.

En el concentrado de frambuesa se detectaron tres grupos de compuestos fenólicos, que de acuerdo a su concentración fueron: derivados del ácido elágico, antocianos y flavonoles. El valor medio de la concentración de antocianos fue de 12.164 mg/Kg, y es superior a las concentraciones de estos compuestos en la frambuesa que aparecen recogidas en la bibliografía científica; estos valores difieren con los obtenidos en la experimentación ya que al inicio (Día 0) se obtuvieron valores de 29 mg/100g fruto que son valores mayores a los obtenidos.

Estudios recientes demuestran que una dieta rica en frutas y vegetales está asociada con un bajo riesgo de contraer enfermedades crónicas (algunos tipos de cáncer) y cardiovasculares, atribuyendo este efecto protector a la presencia de compuestos bioactivos, dentro de los cuales destacan los Polifenoles. Las frutillas son fuente importante de fenoles, kaemferol, quercitina, elagitaninos y ácido elágico. Las características genéticas y el ambiente ejercen influencia notable en el contenido de diferentes tipos de fenoles encontrados en los frutos de frambuesa, así como el grado de maduración del fruto también influye en el contenido y tipo de antocianinas, así como en otros compuestos fenólicos. En uva (*Vitis vinífera* L.), el mayor contenido de antocianinas y ácido elágico se observó en los frutos completamente maduros, mientras que en fresa (*Fragaria x ananassa* L.) el contenido de éste último fenol decrece con la maduración del fruto, y el de antocianinas aumenta. En frambuesa se ha informado un comportamiento similar al que se indica para uva, en cuanto al contenido de ácido elágico y antocianinas (Aguilera *et al.*, 2011).



Resultados y Discusión

5.4.3.2 Determinación de capacidad antioxidante

La importancia de las propiedades antioxidantes de los alimentos en el mantenimiento de la salud y en la protección frente a enfermedades degenerativas ha despertado el interés de los científicos, fabricantes y consumidores. Por este motivo, uno de los objetivos actuales de la industria alimentaria es la elaboración de alimentos funcionales con efectos específicos sobre la salud del consumidor.

En la Figura 51A se muestran los tratamientos empleados en las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal, el día 0 los frutos con recubrimiento presentaron una capacidad antioxidante de 28.63 $\mu\text{mol eq. Trolox/g fruto}$, mientras que las frambuesas que presentaron una mayor concentración fueron las frambuesas recubiertas con 29.90 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ en el día 0, más sin embargo tuvieron una disminución del 41.28% al último día de almacenamiento. Las frambuesas recubiertas y adicionadas con aceite esencial de eucalipto al inicio del almacenamiento presentaron los menores valores de capacidad antioxidante (26.56 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$), teniendo menor disminución en la capacidad antioxidante del 34.82 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ en comparación con los demás frutos fue el que presentó la menor pérdida por efecto de la adición del aceite esencial en el recubrimiento comestible, el tratamiento control al no tener un medio de protección a las frambuesas fue el tratamiento que presentó la mayor pérdida de capacidad antioxidante en un 62.41%.

Estadísticamente las frambuesas control mostraron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) a partir del día 6 con respecto a los frutos recubiertos con y sin adición de aceite, mientras que los recubrimientos con y sin aceite esencial, no mostraron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) durante el almacenamiento.



Resultados y Discusión

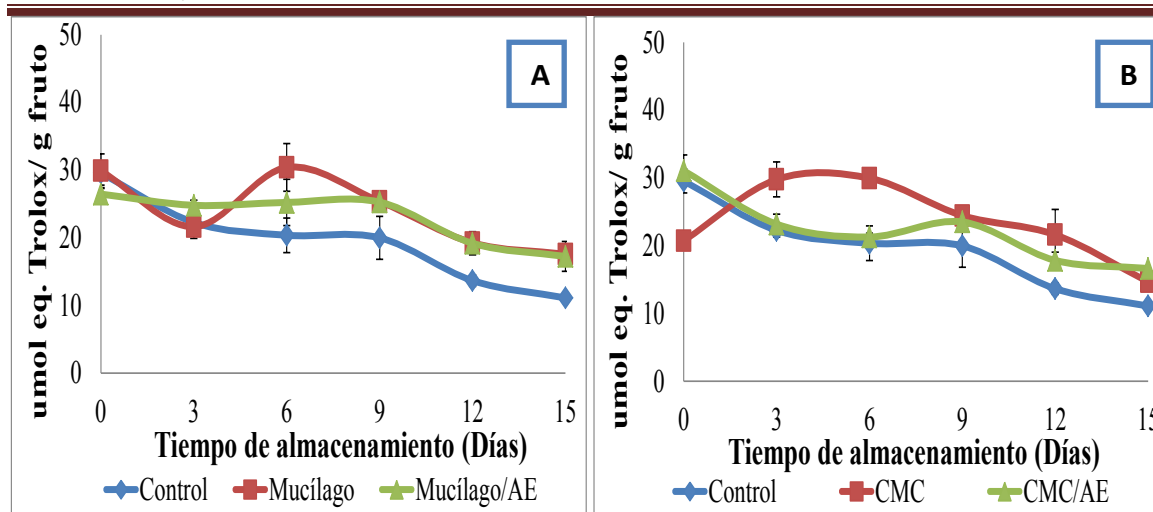


Figura 51.- Capacidad antioxidante de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal (A) y carboximetilcelulosa (B) con y sin aceite esencial de eucalipto. Las barras verticales representan \pm desviación estándar.

La Figura 51B muestra las frambuesas recubiertas de carboximetilcelulosa, las que presentaron una mayor concentración de capacidad antioxidante fueron las recubiertas adicionadas con aceite esencial con 31.091 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$ el día 0, teniendo una disminución del 46.44% al día 15 de almacenamiento, siendo las que conservaron más la capacidad antioxidante en comparación con los demás frutos. Las recubiertas con CMC mostraron la menor concentración de capacidad antioxidante con 20.72 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$, sin embargo para el tercer día presentó un incremento en los valores de capacidad antioxidante del 30%, y para el último día de almacenamiento presentó una concentración de 14.68 $\mu\text{mol eq. Trolox/ g fruto}$, teniendo un descenso con respecto al tercer día de capacidad antioxidante del día 3 al 15 de almacenamiento. Las frambuesas que presentaron una mayor disminución en la concentración de capacidad antioxidante fueron las control, que presentaron una disminución del 62.40% con respecto del día 0 al 15.

Estadísticamente los frutos recubiertos adicionados con aceite esencial de eucalipto presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la capacidad antioxidante de la frambuesa en todos los días de almacenamiento respecto a los demás tratamientos desde el primer día,



Resultados y Discusión

sin embargo, el día 15 de almacenamiento todos los tratamientos presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre sí.

García *et al.* (2002) evaluaron las propiedades antioxidantes en concentrados de uva y frutas rojas con la finalidad de establecer sus aptitudes como materias primas para la elaboración de alimentos funcionales con alta capacidad antioxidante. La actividad antioxidante del zumo de frambuesa roja (*Rubus idaeus*) de la variedad Glen Lyon fue de 17.3 mmol de Eq. Trolox/Kg por el método del ABTS, y de 25.6 mmol de Eq. Fe (II)/L por el método FRAP, la Actividad antioxidante de la frambuesa está determinada por la variedad, presentando los extractos de esta fruta capacidad para secuestrar las siguientes especies de oxígeno reactivo; H_2O_2 , $OH\cdot$, $O_2\cdot^-$, $1O_2$. La actividad antioxidante de esta materia se basa en la inhibición de la oxidación y en la capacidad de secuestrar radicales libres y especies reactivas de oxígeno. La actividad antioxidante de los distintos zumos concentrados se ha visto correlacionada con el contenido en compuestos fenólicos y concretamente con el contenido en antocianos, tanto para las determinaciones obtenidas con el método ABTS como para las del ensayo FRAP. Estos concentrados de frutas rojas podrían ser materias primas adecuadas para la elaboración de alimentos funcionales ricos en antioxidantes naturales, cuyo consumo a largo plazo pudiera tener efectos preventivos frente a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

No obstante los autores observan que las muestras ricas en antocianos son las que presentan la mayor capacidad antioxidante. Es necesario considerar que dicha correlación no solo depende de la concentración y la calidad antioxidante, sino también de su interacción con otros componentes y la metodología aplicada (García *et al.*, 2002).

Sánchez (2013) quien trabajó con recubrimientos comestibles a base de carboximetilcelulosa y maltodextrina con extracto de orégano, Hoja Sen y Sangre de Drago en zarzamora reportó valores promedios de 29-34 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ con una tendencia descendente de la capacidad antioxidante para todos los tratamientos, estos valores se encuentran dentro de los obtenidos en el desarrollo del proyecto ya que se obtuvieron



Resultados y Discusión

valores promedio entre 20-31 $\mu\text{mol eq. Trolox/g}$ al inicio del proyecto, al final del seguimiento los controles perdieron 64% de la capacidad antioxidante, mientras que los recubiertos con y sin aceite un 52%.

Peña-Varela (2006) trabajó con frambuesa a diferentes grados de maduración reportó que la actividad antioxidante de los frutos de frambuesa cosechados se ve afectada por el grado de maduración, ya que los frutos muy maduros tuvieron mayor actividad antioxidante que los frutos maduros e inmaduros. Se ha informado que gran parte de los compuestos fenólicos presentes en los frutos poseen actividad antioxidante; sin embargo, la magnitud de tal actividad no es la misma para todos los compuestos, de la actividad antioxidante total observada en frambuesa, las antocianinas contribuyen con cerca del 25%; los elagitaninos son responsables de 52 %, en tanto que la vitamina C participa con el 20%; la diferencia restante se atribuye a compuestos fenólicos que se hallan en pequeñas cantidades, tales como proantocianidinas.

5.4.4 Determinación de parámetros sensoriales

El análisis sensorial es un instrumento de gran utilidad para poder realizar un adecuado testigo de calidad y aceptabilidad en los alimentos; el cual tiene la finalidad de medir, analizar e interpretar las reacciones percibidas por los sentidos (Pérez, 2013), ya sea en el sabor, aroma, textura que puede modificarse por acción de diferentes factores a los cuales está expuesta la muestra.

A las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal y carboximetilcelulosa con o sin aceite esencial de eucalipto se les evaluaron atributos tales como: color, olor, olores extraños, sabor, sabores extraños, textura y apariencia. En la Figura 52 se observan los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de las frambuesas recubiertas con CMC.



Resultados y Discusión

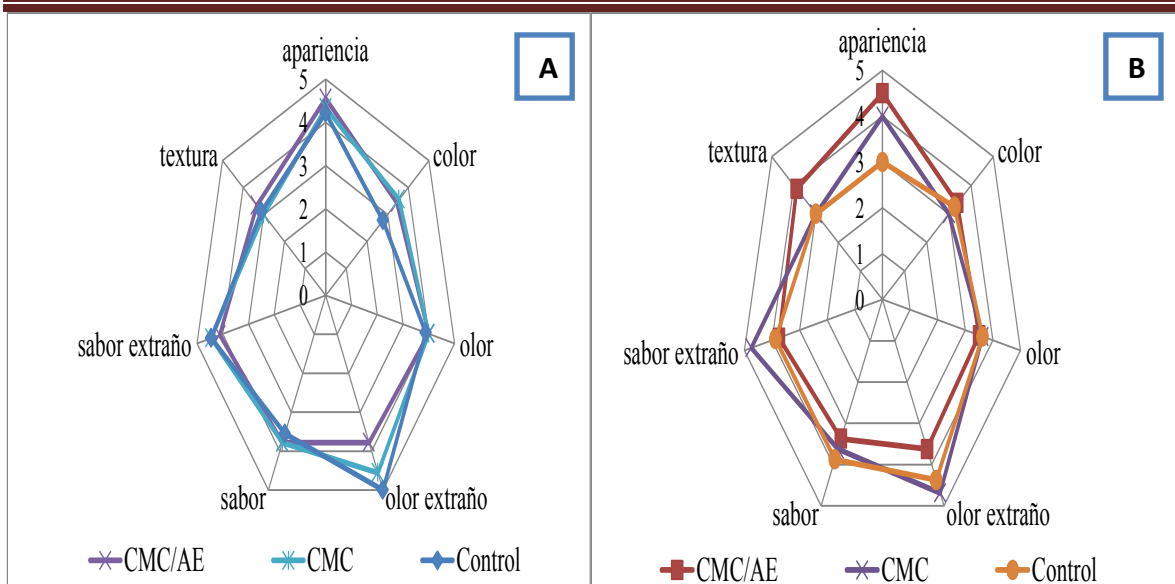


Figura 52.- Perfil sensorial de las frambuesas recubiertas con carboximetilcelulosa al 0.5% con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000ppm. (A) Día 0 (B) Día 15.

En la Figura 52A se presentan los resultados de la evaluación sensorial en el día 0 de almacenamiento de frambuesas, en donde se observa que las frambuesas recubiertas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto presentaron diferencia en los atributos de color y olor extraño; presentando un color rojo intenso, a diferencia de las frambuesas control que presentaron color de rojo claro a rojo, presentando 20.85% menos color que las frambuesas recubiertas; en cuanto al atributo de olor extraño, los jueces si percibieron un olor ajeno a las frambuesas, en los frutos que fueron adicionados con aceite esencial, mismo que fue evaluado como aceptable.

En la Figura 52B se muestran los resultados obtenidos de la evaluación sensorial en las frambuesas pasados 15 días de almacenamiento en donde con respecto al inicio del almacenamiento se muestran más diferencias en los atributos evaluados, las frambuesas control decayeron 23.57% más en el atributo de olor extraño, en comparación de los frutos que fueron recubiertos con y sin adición de aceite esencial; el tratamiento adicionado con aceite esencial de eucalipto siguió mostrando un ligero olor extraño, evaluado por los panelistas de aceptable a poco olor extraño, este dato disminuyó un 4% (3.77-3.6 puntos) con el paso de los días; en cuanto a sabores extraños al final de almacenamiento las



Resultados y Discusión

frambuesas que no presentaron sabores extraños fueron las recubiertas sin aceite esencial de eucalipto; en cuanto a olores extraños las frambuesas control y las adicionadas con aceite esencial mostraron 19.74% mayor presencia de olor extraño; los valores obtenidos de olor y sabor extraño en las frambuesas muestran que, con ayuda de la refrigeración este sabor y/o olor ya sea por el aceite esencial o del proceso de maduración de la frambuesa el sabor fue cambiando haciéndose más notorio comparado con el día 0; como se puede observar en la Figura 52B el hecho de que las frambuesas fueran recubiertas con CMC ayudó a que los frutos conservaran en un 22.58% más la textura que los tratamientos control y los recubiertos sin adición de aceite, lo que indica que el tener un barrera de protección, como lo es el recubrimiento con adición de aceite esencial ayuda a que no haya un ataque significativo por parte del hongo y retarda el proceso de senescencia de los frutos, ayudando así a conservar las propiedades sensoriales de las frambuesas.

Al inicio del almacenamiento las frambuesas recubiertas con CMC adicionadas con aceite esencial presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el atributo de olor con respecto a las frambuesas control y recubiertas sin aceite esencial de eucalipto. Para el final de almacenamiento los atributos de olor extraño, sabor extraño, textura y apariencia presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$), siendo las frambuesas con el recubrimiento adicionado con aceite esencial, las que presentaron cambios más notorios de igual manera presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) el atributo de apariencia por parte de los frutos control.

En la Figura 53A se muestran los resultados de la evaluación sensorial de las frambuesas recubiertas con y sin aceite esencial al día 0 de almacenamiento, en donde al igual que los tratamientos a base de CMC, se mostraron diferencias en los atributos sensoriales de color y olor extraño; como se observa los recubrimientos con y sin adición de aceite esencial realzan en un 17.47% el color de los frutos; mientras que la adición del aceite en las frambuesa fue percibida por los panelistas, asignando una calificación de 3.45 puntos, en cuanto a los demás parámetros no se obtuvieron diferencias en ese día en comparación con el tratamiento control.



Resultados y Discusión

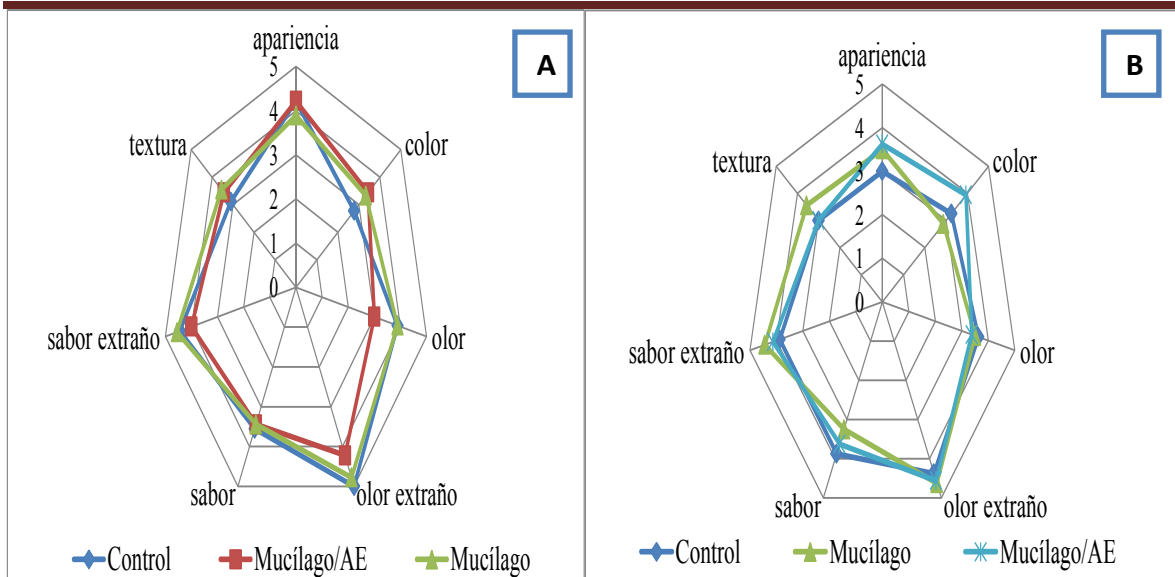


Figura 53.- Perfil sensorial de las frambuesas recubiertas con mucílago de nopal al 0.5% con y sin adición de aceite esencial de eucalipto a 2000ppm. (A) Día 0 (B) Día 15.

La Figura 53B muestra los resultados obtenidos al día 15 de almacenamiento de las frambuesas recubiertas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto, donde se observa que los frutos que mejor apariencia tuvieron fueron los recubiertos adicionados con aceite, siendo calificados por los panelistas, entre el “aceptable con límite de consumo” y “mala apariencia”, en cuanto al color, las frambuesas conservaron el mismo color rojo intenso, mientras que los otros 2 tratamientos tuvieron una caída del 22.22% del color, otra de las diferencias obtenidas fue en el sabor por parte de las frambuesas recubiertas adicionadas con el aceite, atributo que fue evaluado como “aceptable como límite de consumo” por parte de los panelistas; en cuanto a la textura la adición del aceite al tratamiento mostró el mismo efecto que el del CMC que ayudó a protegerla, ya que mostró valores similares que el tratamiento control (3 puntos), presentando 15.78% menos textura que el tratamiento sólo adicionado recubierto con mucílago de nopal.

Al igual que el tratamiento a base de CMC las frambuesas recubiertas con aceite esencial al inicio de la experimentación obtuvieron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el atributo de olor extraño, sólo al inicio de éste parámetro, para el final del muestreo se obtuvo



Resultados y Discusión

diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por parte del tratamiento control con respecto a los otros 2 tratamientos.

La pérdida de firmeza o textura en las frambuesas control y las recubiertas con y sin adición de aceite esencial de eucalipto, están relacionadas con la pérdida de peso y liberación de líquido ya que los tratamientos control presentaron valores más bajos que los recubiertos con y sin adición de aceite, la adición de los recubrimientos protege la estructura inicial de los frutos y al tener la adición del aceite ayuda a que el hongo no se desarrollara y no tomara los nutrientes del fruto ni propiciando debilidad el tejido, además de que retarda la senescencia de las frambuesas.

Los resultados obtenidos coinciden con los de Sánchez (2013) quien hizo una caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (*Rubus fruticosus*) para el control de podredumbre gris ya que las propiedades que más fueron afectadas fueron apariencia visual y textura para el día final de almacenamiento, siendo calificadas las zarzamoras recubiertas adicionadas con extracto de Hoja Sen como muy buena, obteniendo calificaciones más elevadas en comparación de los demás tratamientos, mientras que los tratamientos control fueron evaluados como malos, en el atributo de apariencia visual. En textura el tratamiento adicionado con extracto fue calificado como “aceptable como límite de consumo”, mientras que los otros tratamientos fueron evaluados como blandos, este comportamiento fue muy parecido a los obtenidos en las frambuesas.

Conclusiones





6. Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos en el presente proyecto se puede concluir lo siguiente:

- La hidrodestilación permitió obtener el aceite esencial de eucalipto, con rendimientos de extracción bajos, no hubo diferencia entre los tiempos de extracción propuestos, pero si en el tamaño de partícula.
- El empleo de aceite esencial de eucalipto como agente antifúngico resultó ser efectivo en la inhibición del crecimiento micelial para el control de *Botrytis cinerea*, presentando porcentajes de inhibición hasta de un 42% en una concentración de 2000 ppm por 10 días de incubación.
- El empleo de mucílago de nopal y carboximetilcelulosa permitió elaborar películas comestibles, encontrándose que a la concentración 0.5% para ambos polímeros presentaron mejores características en color, espesor y transparencia; seleccionando esta concentración para la elaboración de recubrimientos que pudieron ser aplicados a las frambuesas.
- El empleo del recubrimiento comestible en la frambuesa a base de mucílago de nopal y CMC al 0.5% adicionado con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm no afectaron los parámetros sensoriales, físicos, fisicoquímicos (pH, acidez titulable, sólidos solubles) por la aplicación del recubrimiento, mejoraron la apariencia de las frambuesas aportado brillo a la epidermis, disminuyendo el índice de decaimiento, así como la liberación de líquido, y la pérdida de peso. Del mismo modo la capacidad antioxidante y contenido de antocianinas fueron preservados en mayor medida en las frutillas recubiertas con y sin adición de aceite; destacando que el uso de aceite esencial de eucalipto en los recubrimientos aplicados a las frambuesas resultó ser efectivo en la inhibición de la podredumbre causada por el hongo *Botrytis cinerea*.



Recomendaciones

- La aplicación de los recubrimientos comestibles a base carboximetilcelulosa y mucílago de nopal al 0.5% adicionados con aceite esencial de eucalipto a 2000 ppm redujeron visiblemente los signos de senescencia, permitiendo alargar su vida de anaquel, mejorar la calidad y generar valor agregado en las frutillas; además de ser una tecnología emergente en el manejo poscosecha de frutas y hortalizas, que ayudan a reducir las pérdidas poscosecha y los costes de conservación.

Recomendaciones






7. Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda lo siguiente:

- 🍷 Emplear otros métodos de extracción de aceite para obtener mejores rendimientos.
- 🍷 Utilizar las ramas y flores del eucalipto no sólo hojas para conocer si así, se obtiene mayor extracción de aceite.
- 🍷 Evaluar mediante pruebas *in vitro* el efecto inhibitorio del aceite esencial de eucalipto en otro tipo de microorganismos como: *Trichoderma harzianum*, *Absidia sp.*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Phyphthora*, *Penicillium*, *Colletotrihcum* entre otros.
- 🍷 Estudiar otros métodos de aplicación del recubrimiento que evite daños a las frambuesas, como la nebulización.
- 🍷 Evaluar distintas concentraciones de aditivos formadores de los recubrimientos comestibles (surfactante, plastificante), ya que estos también influyen en las propiedades mecánicas y de barrea de las películas comestibles.
- 🍷 Evaluar el efecto de otros recubrimientos comestibles y/o concentraciones como quitosano, proteínas lácteas, almidón, goma xantana aplicadas en frutillas para alargar la vida útil y darle valor agregado.
- 🍷 Estudiar otro tipo de agentes antimicrobianos adicionados al recubrimiento comestible aplicados en frambuesa, como: aceite esencial de menta, naranja, limón, romero, rosa mosqueta, orégano, canela, clavo, tomillo, etc.



Recomendaciones

-  Evaluar el efecto del recubrimiento que presentó las mejores condiciones y concentración de aceite esencial de eucalipto con mayor poder inhibitorio (2000 ppm) en otros frutos.

Referencias





Referencias

8.-Referencias

1. AOAC (2000) *Methods of analysis*. 15 th ed. Association of Official Analytical Chemist, Washington, D.C.
2. Aguilar, C. (2007). Optimización del proceso de modificación del almidón de maíz ceroso por extrusión y el uso de mezclas de almidones modificados con mucílago de nopal para la encapsulación de aceite esencial de naranja empleando el secador por aspersión. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo, México.
3. Aguilera, O. M, Reza, V. M. C, Chew, M. R.G, Meza, V. J.A, (2011). Funcional Properties of anthocyanins. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Juárez del Estado de Durango. *Revista Biotecnia*.13 (2): 16-22.
4. Agustí M. (2010). *Fruticultura*. Ediciones Mundi-Prensa. Segunda edición. Madrid, España. pp: 157-159.
5. Alencastro, C.L.M (2011). Alternativas ecológicas para el control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en mora de castilla (*Rubus glaucus* Beth). Tesis de Ingeniero Agrícola. Escuela Politécnica del Ejército. Sancolquí, Ecuador.
6. Álvarez, G. T. B. (2012). Biocontrol de *Botrytis cinerea* a partir de extractos fenólicos de fresa. Tesis para obtener el título de maestro en Ciencia en Producción Agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el desarrollo integral regional unidad Michoacán. Jiquilpan, Michoacán.
7. Alzate N., A., Lopez V., K., Marin H., A.I., Murillo A., W.I (2009). Evaluación preliminar de la actividad fungicida de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus tereticornis*, *Myrtaceae*) y cáscara de naranja (*Citrus sinensis*, *Rutaceae*) sobre algunos hongos filamentosos. Grupo Interdisciplinario de Estudios Moleculares (GIEM). *Revista Umbaga*. 20(4):59-71.Medellín, España.
8. Andreatta, E. A., Longo B. M., Utrera, C., Saavedra, M., Foco, G. (2012). Caracterización de aceites esenciales del departamento San Justo. San Francisco, Córdoba. Argentina.



Referencias

9. Arce-Pérez, R., Morón, M.A. (2000). Taxonomía y distribución de las especies de *Macroductylus latreille* (Coleoptera: *Melolonthidae*) en México y Estados Unidos. Instituto de Ecología A. C. Acta Zool. Mex. 79:123-239.
10. Arredondo, .A.E. (2012). Diseño de empaques comestibles a base de almidón modificado para su posible aplicación en alimentos en fresco. Tesis para obtener el grado de maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química. Querétaro, México.
11. Ayala, S.L., Valenzuela, R.C., Bohorquez, P.Y. (2012). Efecto de un recubrimiento comestible a base de alginato y iones de calcio sobre la calidad de mora de castilla (*Rubus glauca Benth*). Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 19(1): 129-131.
12. Barrera-Necha y García-Barrera (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional y Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Revista UDO Agrícola 8 (1): 33-41.
13. Barros, S. C. (2009). Los aditivos en la alimentación de los españoles y la legislación que regula su autorización y uso. Segunda edición. Vision libros. Madrid, España.
14. Bautista, A.D. (1987). Influencias de la temperatura, sobre la insolación y la precipitación sobre los sólidos del fruto de la mora (*Rubus glaucus Benth*). Agronomía Tropical. 28(4): 399-407..
15. Ben-Yehoshua, S. (1985). Individual seal-packaging of fruit and vegetables in plastic film- A new postharvest technique. Horticultural Science. 20(1):32-36
16. Benito, P. E., Arranz, M. Eslava, P.A. (2000). Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Universidad de Salamanca, España. Rev. Iberoam Micol; 17: S43-S46.
17. Bifani, V., Ramírez, C., Ihl, M., Rubilar, M., García, A., Zaritzky, N., (2007). Effects of murta (*Ugni molinar Turcz*) extract on gas and water vapor permeability of carboxymethylcellulose-based edible films. LWT. 40(1):1473-1481.



Referencias

18. Bleoju, M. (2007). Estudio de estabilidad y algunas propiedades tecnológicas de pigmentos sintetizados por *Epicoccum nigrum*. Tesis de maestría en seguridad y biotecnología alimentaria. Universidad de Burgos. Burgos, España.
19. Borboa-Flores, J., Rueda-Puente, E. O., Acedo-Félix, E., Ponce, J. F., Cruz-Villegas, M., García-Hernández, J. L., Ortega-Nieblas, M. M. (2010). Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales contra *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. Centro de Investigación y Posgrado en Alimentos. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. *Revista Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12 (2010): 539 – 547.
20. Bósquez, M.E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goa de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*). Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
21. Box, M.J.M. (2005). Prontuario de agricultura. Cultivos agrícolas. Mundi-Prensa. Mundi-Prensa. Madrid, España.
22. Bustos, B. I, Paiz, S. M.A., (2009). Evaluación sensorial de Tres Líneas de Frijoles: MIB 395, MIB 396 y MIB 397; Mejorados nutricionalmente en las comunidades: La Vainilla en la Conquista y el Aguacate, en Diriamba departamento de Carazo. Trabajo Investigativo para obtener el Título de Ingeniero Industrial con Mención en Agorindustria. Universidad Centroamericana. Facultad de Ciencias, Tecnología y Ambiente. Managua, Nicaragua.
23. Caamal-Herrera, I.O. Pereira-Pacheco, F.E. Madera-Santana, T.J. (2011). Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, 12 (1): 100-109.
24. Canales, M. (1999). Físicoquímica: Teoría. Universidad Nacional Autónoma de México. Tomo I. México.
25. Cano, L.A.P. (2011). Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.), mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) y mora de Castilla *Ingeniería en Alimentos*



Referencias

- (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. Previa a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario. Sangolquí.
26. Cano, P. C.A. (2007). Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “muña”. Tesis para obtener el grado académico de Maggíster en Recursos Vegetales y Terapéuticos Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Unidad de Post Grado. Lima, Perú.
27. Casassa-Santiago, F.S. (2006). Aplicación del sistema Cier-Lab a los vinos tintos. Correlación con algunos parámetros tradicionales. Centro de estudios de Enología. Revista de Enología N°III.
28. Castaño, S. M. V. (2012). Evaluación de la capacidad conservante de los aceites esenciales de clavo (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*), sobre la levadura (*Rhodotorula mucilaginosa*) en leche chocolatada. Trabajo de grado para obtener el título de Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias agropecuarias. Medellín, Colombia.
29. Castellucci, F. (2009). Monografía sobre la goma de celulosa (Carboximetilcelulosa). Resolución OIV/OENO 366/2009.
30. Castro, P.A.X., Valencia, S. (2013). Efecto de la aplicación de recubrimientos comestibles en la calidad poscosecha de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.). Proyecto previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial. Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito, Ecuador.
31. Cerpa, C. M. Guillermo. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización. Memoria para optar al grado de Doctor. Universidad de Valladolid. Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente.
32. Collado G. J., Alacid, C.M., Obón, C.J.M. (2011). Identificación de los polifenoles en zumos de frutas rojas. Tesis para obtener el título de Máster en Ingeniería Ambiental y de Procesos Químicos y Biotecnológicos. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena.



Referencias

33. Codex Alimentarius (1981). International Food Standards. CODEX STAN 69-1981. Codex standard for quick frozen raspberries. Fecha de consulta:22/04/2014. Disponible en: http://www.codexalimentarius.org/standards/list-of-standards/en/?no_cache=1.
34. Cuevas-Montilla, E., Antezana, A., Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) boliviano. Red-Alfa Lagrotech. 2(1):79-95.
35. Chuchuca, (2012). “Implementación y Validación de una Metodología Económica para la Medición de Color Aplicada en Alimentos”. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero de Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica Y Ciencias de la Producción. Guayaquil, Ecuador.
36. De León, J. M.L., Cano, M. T.M. (2008). Comparación del rendimiento del aceite esencial de eucalipto de dos especies de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook y *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh), aplicando el método de hidrodestilación a nivel laboratorio. Trabajo de graduación para obtener el título de Ingeniero Químico. Universidad de Guatemala. Guatemala.
37. Del Valle, S. M. (2012). Aplicación de recubrimientos comestibles para mantener la calidad de frutillas congeladas. Tesis del Grado Académico de Doctor en Química. Universidad Nacional del Litoral para la obtención.
38. Díaz -Narváez, G. C., Pérez - Cabrera, L. E., Hernández Lozano, L. C., Ramírez - Gómez, M. M. (2010). Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano y su aplicación para extender vida útil de fresas. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de alimentos. Guanajuato, Guanajuato.
39. Domínguez, J.E., Ferrer, J. (2010). Mecanizado básico: transporte y mantenimiento de vehículos. Editex, México.
40. Domínguez, M-R. Guillén, F., Valverde, J.M., Serrano, M., Zapata, P., Bailén, G., Castillo, S., Valero, D. (2008). Aloe vera gel como recubrimiento comestible en frutas y hortalizas. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández.



Referencias

41. Doñaña, F. S.L., Castillo, J.C., Ramírez, J.M. (2008). Manual de Buenas Prácticas Agrarias Sostenibles de los frutos rojos. Comarca Doñana.
42. Duthie, G.G., Gardner, P.T., Kyle, A.M. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet?. Rowett Research Institute, Aberdeen. Proceedings of the Nutrition Society. 62(1): 599–603.
43. Durango, A., Soares, N., Andrade, N. (2006). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. Food Control. 17(5):336-341.
44. El Ghaouth, A., Arul, J., Grenier, J., and Asselin, A. (1992). Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology. 82(4): 398-402.
45. FAO. (2002-2013). Food and Agricultural Organization. Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de frambuesa. Consultado: 02/11/13. Disponible en: <http://apps.fao.org>
46. FAOSTAT. (2011) Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Consultado: 21/03/2014. Disponible: <http://faostat.fao.org/>.
47. Fernández-Sánchez, I.F., Marín-Morán, J.E., Teixeira-Pinto, Z. (2013). Extraction Condition Evaluation of *Pinus caribaea* Morelet var. *caribaea* Essential Oil Foliage (Dry Drug) by Hydrodistillation-Cohobation. Río de Janeiro, Brasil. Revista Cubana de Química 25(1): 100-108
48. Figueroa, J.A., Salcedo G.J., Narváez J.G. (2013). Efecto de recubrimientos comestibles a base de almidón nativo y oxidado de yuca sobre la calidad de mango (*Tommy Atkins*). Facultad de Ingeniería. Universidad de Sucre. Sincelejo, Colombia. Temas Agrarios. 18:(2): 94 – 105.
49. Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R.M., Narváez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación de mango, aguacate y su perspectiva al uso de propóleo en su formulación. Revista colombiana de Ciencias Agroindustriales. 3 (2): 386-400.
50. Flores, S. Alba, Hernández, E. A.L. Valladares, R.M.G. (2004) Determinación de la actividad antifúngica de los aceites esenciales extraídos de *Lippia graveolens* (Orégano), *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) en *Ingeniería en Alimentos*



Referencias

- Microsporium canis Trichophyton rubrum y Epidermophyton floccosum*. Tesis para obtener el grado de Licenciatura en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador, Centro América.
51. Galet, D.A. (2009). Envases activos que permiten alargar la vida útil de los alimentos. *Generalitat Valenciana*. 3(1):3-30.
52. García, A.J., Periago, M.J., Vidal, G.M.L., Cantos, E. (2002). Evaluation of antioxidant properties of grape and berry concentrates. *Anales de Veterinaria de Murcia*. (Murcia). 18(1): 103-114.
53. García-Méndez, A.D (2008). Evaluación de un tratamiento postcosecha de la tecnología IV gama en frutos de moras (*Rubus glaucus Benth*). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 9(1): 43-54.
54. Gomorra, B. G (2008). Comercialización de Frambuesa Mexicana en Ottawa-Canadá. Tesis para obtener el título de licenciado en comercio Internacional. Instituto Politécnico Nacional, México.
55. González, C. L.E. (2011). Efectos del aceite esencial y extractos acuosos de *Eucalyptus gomphocephala DC*. sobre la germinación y el crecimiento de arvenses. Proyecto final de Máster en Producción vegetal y ecosistemas Agroforestales. Universidad Politécnica de Valencia. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Departamento de Ecosistemas Agroforestales. Valencia.
56. González-Céspedes, M.I. (2010). Manual de producción de frambuesa orgánica. Ministerio de Agricultura, Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Centro Regional de Investigación Quilamapu. Chillán, Chile. Boletín INIA-N°XXX.
57. González, C.M.V. (2010). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeynalicum*). Tesis para obtener el grado previa la obtención del título de Bioquímico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador.
58. González M. M.M., (2011). Aplicación de un recubrimiento a base de alginato y un extracto natural para el control de antracnosis en mangos “Tommy atkins” y “Keitt”.



Referencias

- Tesis para obtener el título de Ingeniería en Alimentos. FESC- Universidad Nacional Autónoma de México. México.
59. Guarnizo, A., Martínez, P.N. (2010). Experimentos de Química Orgánica con enfoque en ciencias de la vida. Ed. Elizcom. Quindio, Colombia. pp:89-97.
60. Hernández-Lauzardo, A. N., Hernández-Martínez, M., Velázquez del Valle, M. G., Guerra-Sánchez M. G. y Melo-Giorgana, G. E. (2007). Actividad antifúngica del quitosano en el control de *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill. y *Mucor* spp. Revista Mexicana de Fitopatología 25 (2): 109-113.I.
61. Hernández, S. P. (2011). Encapsulación de Aceite Esencial de Clavo para su Aplicación en la Industria Alimentaria. Universidad Católica San Antonio, Facultad de Ciencias de la Salud, de la Actividad física y del deporte. Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición. Murcia.
62. Juárez-Becerra, G.P., Sosa-Morales, M.E, López-Malo, A. (2010). Hongos fitopatógenos de alta importancia: descripción y métodos de control. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Cholula, Puebla. 14-23
63. Katiushka, A. N., Alemán, H.A.E., Rojas, V.M.G., Morales, R.L. (2010). Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos. Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal 1(2):124-134.
64. Kukoski, E.M., Asueroro, A.G., Troncoso, A.M., García-Parilla, M. C.; Fett, R. (2011). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. Revista Brasileña de Ciencia y Tecnología Alimentaria, 24(4): 691-693.
65. Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Cote P. J. and Nychas, G. J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration carvacol. Journal of Applied Microbiology. 91: 453-462.
66. Lima, A. S. I. (2005). Análisis de los rendimientos obtenidos de dos especies de eucalipto trabajados en seco a nivel laboratorio y a nivel planta piloto en la extracción de su aceite esencial. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería. Guatemala. Coating. Crop Protection. 21(1): 211-224.



Referencias

67. Maqbool, M., Chinnan, M.S. (2010). Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Cop Protection*. 21(1): 211-224.
68. Márquez, C.J., Cartagena, J.R., Pérez-Gago, M. B. (2009). Effect of edible coatings on Japanese loquat (*Eriobotrya japonica* T.) postharvest quality. *VITAE, Revista de la Facultad de química farmacéutica Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*, 16(3): 304-310.
69. Márquez, R., Escobar, D., Repiso, L., Sala, A., Silvera, C. (2008). Elaboración, caracterización y comparación de películas comestibles en base aislada de proteínas de suero lácteo. *Publicación anual del laboratorio tecnológico del Uruguay. Universidad católica del Uruguay*.
70. Martínez-Cruz, N.S. Arévalo-Niño, K. Verde-Star, M.J. Rivas-Morales, C. Oranday-Cárdenas, A. Núñez-González (2011). Antocianinas y actividades anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldl (Zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42(4): 66-71.
71. Mesa-Vanegas A. M., Gaviria C. A., Cardona F., Sáez-Vega, J. A., Blair, T. S., Rojano, A. B. (2009). Antioxidant activity and total phenols content from some species of *Calophyllum* genus. *Laboratorio de Ciencias de los Alimentos. Escuela de Química. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Colombia*.
72. Miranda, S.P., Cárdenas, G., López, D., Lara-Sagahon, A.V (2003). Comportamiento de películas de quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47(4): 331-336.
73. Miramont, S., Gerschenson L. N. (2012). Tecnología de los alimentos recubiertos elaborados a partir de biopolímeros para el soporte de sustancias con actividad antimicrobiana: carvacrol y sorbatos. Tesis para obtener el grado de maestría en Tecnología de alimentos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
74. Mitchell, F.G., Mitchman, E., Thompson, J.E y Welch, N. (1996). Handling strawberry from fresh market. *Oakland, CA. Univ. Calif. Agric. Natu.*, 2242: 12-14.
75. NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix. *Foods. Fruits and derivatives. Determination of degrees Brix*.



Referencias

76. Molina, G.S Rotta, F.FC. Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinerea* en flores y frutos de mora de castillas (*Rubus glaucus Benth*). *Agronomía Colombiana*. 22(2): 101-109.
77. Montes-Belmont, R. Cruz, C. V., Martínez, M. G., Sandoval, G. G., García, L. R., Zilch, D. S., Bravo, L. L., Bermúdez, T. K. (2000). Propiedades Antifúngicas en Plantas Superiores. Análisis Retrospectivo de Investigaciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 18(2): 125-131.
78. Morales, A.C.G., González, A. M.I, Riquelme, S.J., France, I. A. Pedreros, L.A. (2009). Aspectos relevantes en la producción de frambuesa. Villa Alegre. Ministerio de Agricultura. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA-N°192.
79. Moreno, J., López, G., Siche, R. (2010). Modelación y optimización del proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus*). Facultad de Ciencias Agropecuarias. *Scientia Agropecuaria* 1:147 – 154. Trujillo, Perú.
80. Muñoz, R.M., Juárez, R. (2006). El mercado mundial de la frambuesa y zarzamora. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrícola. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
81. Navarrete, G.K. (2009). Aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina para preservar la calidad de la zarzamora (*Rubus frocticosus*) almacenada en refrigeración lista para consumir. Tesis para obtener el título de ingeniero en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México.
82. NOM-111-SSA2-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.NMX-F-103-1982. Alimentos, frutas y derivados. Determinación de grados Brix. Foods. Fruits and derivaties. Determination of degrees brix. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
83. Núñez, B. A., Sánchez, CH. E., Ruiz, V.J., Scott, N.D. (2008). Calidad de poscosecha en cultivares de arándano (*Vaccinium sp.*) sometidos a periodos de pre almacenamiento y temperaturas. *Agricultura Técnica en México*. 34(4):453-457.
84. Ornelas, N. J.L (2011). Mejoramiento del método de extracción del Mucílago de Nopal *opuntia ficus indica* y evaluación de sus propiedades de viscosidad. Tesis para obtener *Ingeniería en Alimentos*



Referencias

- el título de químico farmacobiológico. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
85. Ospina, L.D., Álvarez, V., Torres, H. G., Sánchez, M. S., Bonilla, C. R. (2011). Evaluación in vitro de la actividad inhibitoria de aceites esenciales de *Lippia organoides* H.B.K. sobre el desarrollo micelial y la formación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* Berk. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia,. Acta agronómica. 60 (4):306-311.
86. Ospina, M. S.M., José Régulo Cartagena, V. J.R. (2006). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. Revista Lasallista de Investigación. 5(2): 112-123. Corporación Universitaria Lasallista, Colombia.
87. Paredes, P. D.O., Quinatoa, C. F.D. (2010). Desarrollo de un sistema de extracción de aceites esenciales. Tesis de Grado para obtener el título de Ingeniero Mecánico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
88. Parodi, J. G. (2012). Estudio de pre-factibilidad para el desarrollo del cultivo de frambuesa (*Rubus idaeus*) en condiciones andinas. Sierra exportadora Perú.
89. Parra-Quezada, Rafael A.;Acosta-Rodríguez, Gerardo F.;Arreola-Ávila, Jesús G. (2008). Crecimiento y producción de zarzamora cv. Cheyenne con cubiertas orgánicas Terra Latinoamericana, Revista Chapingo. México. 23(2):233-240.
90. Parra, Q. R. (2002). Avances en el desarrollo de la frambuesa roja en el estado de Chihuahua. Folleto técnico: 14. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Chihuahua, México.
91. Pardo, B.J. (2013). Ensayo de un extracto de eucalipto como fungicida frente a *phytophthora capsici*. Trabajo de fin de grado. Universidad de Coruña. Facultad de ciencias. España.
92. 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.
93. Peña- Varela, G., Salinas-Moreno, Y., Ríos-Sánchez, R. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.)
Ingeniería en Alimentos



Referencias

- con diferente grado de maduración. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 12(2): 159-163.
94. Pérez-Gago, M. B., Del Río, M. A., Rojas-Argudo, C. (2013). Recubrimientos comestibles en frutas y hortalizas. Centro de Poscosecha. Moncada, Valencia.
95. Pérez, G.C.K., Ramos, L. K. (2006). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina en la calidad de fresa (*Fragaria vesca L.*) almacenada en refrigeración. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores. México.
96. Pérez, M.G. (2013). Extracción de compuestos activos de plantas para su aplicación en recubrimientos comestibles para controlar podredumbre gris en la fresa. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores. Cuautitlán, Izcalli.
97. Quintero, C.J., Falguera, V. Muñoz, H.A (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Facultad de Ingeniería Agronómica*. 5(1):93-118.
98. RE, R., Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26(9):, 1231-1237.
99. Ramos-García, M.L. Butista-Baños, S. Barrera-Necha, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista de Fitopatología*. 44(1): 44-57.
100. Restrepo, I.J., Aristizábal, D.I. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch *cv. Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca de sábila (*Aloe barbadensis* Miller) y cera de Carnaúba. *Revista VITAE de la Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia*. 17(3):252-263.
101. Rhim, J.W., Wu, Y., Weller, C.L. And Schnepf, M.1999. Physical Characteristics of composite film of soy protein isolate and propylenglycol alginate. *J. Food Sci.* 64(1):149-152.



Referencias

102. Ribeiro, C., A.A. Vicente, J.A., Teixeira, and C. Miranda. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology* 44:63–70.
103. Rodríguez A., J.; Avitia G., E. 1984. El cultivo de la frambuesa roja. Centro de Fruticultura, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Estado de México, 33 p.
104. Rodríguez, A. J. (1984). El cultivo de la frambuesa roja. Talleres Gráficos de la Nación. México, D.F.
105. Rodríguez, A. M., Alcaraz, M.L., Real, C.S.M. (2012). Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. Proyecto SAGARPA-CONACYT. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. México.
106. Rodríguez, L. J. A. (2009). Síntesis y caracterización de geles de carboximetilcelulosa obtenido del pericardio del maíz y sus potenciales aplicaciones. Tesis para optar por el título de Licenciado en Química. Universidad de Oriente Núcleo de Sucre. Escuela de ciencias. Departamento de Química. Cumaná.
107. Ronald, M.A. (2010). Frutoterapia. La fruta, el oro de mil colores. Bogotá, Colombia. EDAF.
108. Rojas, G. M.A. (2006). Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida, España.
109. Rojas, O. A. (2009). Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales en Santa María Huitepec, Oaxaca. Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias. Centro Interdisciplinario para el Desarrollo Integral Regional de Oaxaca; IPN. Oaxaca de Juárez, Oaxaca.
110. Saavedra, H. N., Algecira, N.A. (2010). Evaluación de películas comestibles de almidón de yuca y proteína aislada de soya en la conservación de fresas. *NOVA*. 14(8): 171-182.
111. Sánchez, S.A., (2013). Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (*Rubus frocticosus*) para el control de podredumbre
Ingeniería en Alimentos



Referencias

- gris. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, México.
112. Sancho, J. Bota, E., De Castro, J.J. (1999). Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Edicions Universitat de Barcelona. Barcelona, España.
113. Santacruz, C.L.A. (2011). Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos. Tesis de Maestría en Ciencias Química. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias.
114. Santos, H.M (1998). Manipulación genética del hongo fitopatógeno *Botrytis cinerea*: clonación del gen *gdh* A. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública, Fisiología y Genética. Universidad de Cádiz. pp: 1-13.
115. SENASA (2012). Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. DF 64/90. Normas de calidad para frambuesa fresca (*Rubus idaeus* L.). Disponible en: http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File4215-df_0064-90.pdfhttp://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File4215-df_0064-90.pdf
116. SIAP/SAGARPA (2012-2013). Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaria de Agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Resumen nacional de producción agrícola de frambuesa. Consultado: 24/10/13. Disponible en: http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350
117. Souza, M.P., Grosso, C.R. (2010). Polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. tree gu, (policaju) as a coating for Tommy Atkins mangoes. Chemical paper. 64(4):475-481.
118. Valdés, R. K.C., (2014). Desarrollo de un envase activo liberador de antifúngico para el control de antracnosis en chirimoya (*Annona cherimola* Mill.). Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. México.



Referencias

119. Valle–Guadarrama, S., López–Rivera, O., Reyes–Vigil, M., Castillo–Merino, J., Santos–Moreno, A. (2008). Recubrimiento comestible basado en goma arábica y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. Universidad Autónoma Chapingo. Rev. Chapingo Ser.Hortic. 14(3):99-103.
120. Valero, A. (2011). Principios de color y holopintura. Club Universitario, España, pp. 139-166.
121. Valera, A., Materano, W., Maffei, M., Quintero, I., Zambrano, J. (2011). Uso de recubrimientos comestibles y baja temperatura para mantener la calidad de frutos de mango “Bocado” durante el almacenamiento. Trujillo, Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 28(1): 600-608.
122. Villegas, C.A., Aquino, B.E.N. (2005). Cambios en la calidad de frutos de Litchi mínimamente procesados. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias agropecuarias. Tulancingo de Bravo.