



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

**EVALUACIÓN DE RECUBRIMIENTO DE QUITOSÁN CON
ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA EN CHILES SECOS.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

KARLA DANIELA SALAS FLORES

ASESORA: DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

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

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

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

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

Evaluación de recubrimiento de quitosán con actividad antifúngica en chiles secos.

Que presenta la pasante: Karla Daniela Salas Flores

Con número de cuenta: 305613471 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería 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 HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautilán Izcalli, Méx. a 07 de Mayo de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
VOCAL	Dra. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza	
SECRETARIO	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
1er. SUPLENTE	I.A. Ana María Sabina de la Cruz Javier	
2do. SUPLENTE	M. en C. Alma Adela Lira Vargas	

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

IHM/mmgm*



AGRADECIMIENTOS

*A **Dios** por darme la paciencia, la fuerza y el valor para llegar a este punto, para siempre perseverar y no morir en el intento. Por estar conmigo en cada paso que doy.*

Sólo cuando compartimos las metas alcanzadas con las personas que amamos es cuando esos logros adquieren su verdadero valor. Han sido mis seres queridos los que me han impulsado para llegar a metas que parecían inalcanzables.

*Le agradezco a **mi familia** por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante para no desistir. Por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan y que me han infundido siempre, por el valor mostrado para salir adelante y más que nada, por su amor, apoyo moral y material. Su apoyo me fortaleció y me fortalecerá toda mi vida.*

*Un muy importante y especial agradecimiento a **la M.en C. Liz Georgina Flores Díaz** por su gran paciencia, conocimiento, motivación, tiempo y dedicación incondicional en el transcurso de toda mi carrera.*

*A **mis maestros** que a lo largo de la carrera fueron parte fundamental en mi formación profesional y ética.*

*A la **Dra. Susana Patricia Miranda Castro** por su gran apoyo en la elaboración de esta tesis.*

*Al **MAI. Jorge H. Luna Domínguez** muy especialmente por su valiosa aportación y gran ayuda en la realización de este proyecto, ya que sin él la culminación de este proyecto no hubiera sido posible.*



*A mis sinodales la **Dra. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza**, a la **Dra. María Andrea Trejo Márquez**, a la profesora **I.A. Ana María Sabina de la Cruz Javier** y a la **M. en C. Alma Adela Lira Vargas** por las contribuciones y el tiempo dedicado en la revisión de este proyecto.*

A mis amigos, compañeros y personas que compartieron conocimientos, experiencias, vivencias y que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. ¡Gracias a todos ustedes!



ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	4
1. ANTECEDENTES	7
1.1. Chile fresco.	7
1.1.1. Historia del género <i>Capsicum</i>	7
1.1.2. Clasificación del género <i>Capsicum</i>	7
1.1.3. Usos del género <i>Capsicum annuum</i>	8
1.1.4. Taxonomía y morfología del género <i>Capsicum annuum</i>	9
1.1.5. Estructura del chile.	10
1.1.6. Composición química del género <i>Capsicum annuum</i>	10
1.2. Chile Seco.	11
1.2.1. Chile Pasilla.	12
1.2.2. Chile Mulato.	12
1.2.3. Principales componentes de los chiles secos.	13
1.3. Producción mundial y nacional de chiles frescos y secos.	14
1.3.1. Exportación de chile fresco y seco.	19
1.3.2. Importación de chile fresco y seco	21
1.3.3. Comercialización y precios del chile fresco y seco.	22
1.4. Normatividad de chiles secos	24
1.5. Cosecha y proceso de chiles secos.	26



1.6.	Condiciones de almacenamiento del chile.	28
1.7.	Recubrimientos.	30
1.7.1.	La quitina	31
1.7.2.	El quitosano	32
1.7.3.	El quitosano como recubrimiento filmogénico con actividad antimicrobiana.	35
1.8.	Microbiota de los chiles secos	38
1.8.1.	Bacterias	39
1.8.2.	Hongos	39
1.8.3.	Levaduras	41
1.8.4.	Requerimientos para el crecimiento microbiano	41
2.	OBJETIVOS	52
2.1.	Cuadro Metodológico.	53
2.2.	Materiales y Métodos.	54
2.2.1.	Materia Prima	54
2.2.2.	Actividades Preliminares	54
2.2.3.	Capacidad antifúngica del quitosán (OP 1)	57
2.2.4.	Influencia de la temperatura y humedad relativa (OP 2)	59
2.2.5.	Análisis Estadístico	61
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	63
3.1.	Actividades Preliminares.	63
3.1.1.	Clasificación del chile de acuerdo al tamaño, peso y humedad según la norma mexicana NMX-FF-107/1-SCFI-2006	63
3.2.	Capacidad antifúngica del quitosán (OP 1).	65
3.3.	Influencia de la temperatura y humedad relativa (OP 2).	68
	CONCLUSIONES	90



REFERENCIAS92

ANEXO 1. MÉTODO DE PREPARACIÓN DE PLACAS PETRIFILM PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE MOHOS Y LEVADURAS.99

ANEXO 2. TABLAS DE CONTRASTES DE LOS EFECTOS DEL MODELO ESTADÍSTICO APLICADO A LOS CHILES PASILLA Y MULATO.101



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química promedio del chile verde por cada 100 g de parte comestible.	11
Tabla 2. Variedades y estados productores de chile en México.	18
Tabla 3. Clasificación por tamaño (cm), peso (g) y humedad (%) por tipo de chile seco entero.	25
Tabla 4. Requerimientos fisiológicos y nutricionales de mohos.	40
Tabla 5. Valores de actividad de agua para diferentes microorganismos.	45
Tabla 6. Temperaturas a las que se desarrollan los microorganismos.	48
Tabla 7. Tamaños de lote para envasado.	55
Tabla 8. Valor de las variables que se ocuparon para obtener el tamaño de la muestra. .	56
Tabla 9. Clasificación de tamaño y peso por tipo de chile seco entero.	56
Tabla 10. Propiedades de permeabilidad del polipropileno (PP).	59
Tabla 11. Caracterización del chile pasilla y mulato por tamaño (cm), peso (g) y humedad (%).	63
Tabla 12. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la primera semana de experimentación.	69
Tabla 13. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la segunda semana de experimentación.	70
Tabla 14. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la tercera semana de experimentación.	71
Tabla 15. Conteo promedio del recuento de levaduras en chile pasilla control y recubierto con quitosán al 1% de las tres semanas de experimentación.	72
Tabla 16. Valores de p para las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre temperatura-humedad relativa para mohos y levaduras de chile pasilla.	74
Tabla 17. Gráficas de la interacción de los factores humedad relativa (%) y temperatura (°C) en el recuento de mohos y levaduras (UFC/mL) en chile pasilla control y recubierto.	75



Tabla 18. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la primera semana de experimentación.	77
Tabla 19. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la segunda semana de experimentación.	78
Tabla 20. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la tercera semana de experimentación.	79
Tabla 21. Conteo promedio del recuento de levaduras en chile mulato control y recubierto con quitosán al 1% de las tres semanas de experimentación.	80
Tabla 22. Valores de p para las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre temperatura-humedad relativa para mohos y levaduras de chile mulato.	82
Tabla 23. Gráficas de la interacción de los factores humedad relativa (%) y temperatura (°C) en el recuento de mohos y levaduras (UFC/mL) en chile mulato control y recubierto.	83
Tabla 24. Contrastes de los efectos del modelo aplicado a chile pasilla para mohos (a) y levaduras (b).	101
Tabla 25. Contrastes de los efectos del modelo aplicado a chile mulato para mohos (a) y levaduras (b).	102



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Especies de chile que se cultivan.	8
Figura 2. Mole-Subproducto de los chiles secos.	9
Figura 3. Estructura del chile.	10
Figura 4. Chiles secos.	11
Figura 5. Chile chilaca (chile en estado fresco) y chile pasilla (chile en estado seco).	12
Figura 6. Chile poblano (chile en estado fresco) y chile mulato (chile en estado seco). ...	13
Figura 7. Producción de los 5 principales países productores de chiles frescos (2003-2013).	15
Figura 8. Producción de los primeros 13 países productores de chiles secos.	15
Figura 9. Rendimiento en México de chiles frescos y secos de 2003-2013.	16
Figura 10. Distribución de la producción de chiles por entidad en 2012.	18
Figura 11. Exportaciones de chile verde México vs Países Bajos 2002-2012.	19
Figura 12. Exportaciones de chile seco de México al mundo (ton) en el periodo de 2002 a 2012.	20
Figura 13. Importación de chiles verdes y secos en México (2002-2012).	21
Figura 14. Precio y volumen de producción mensuales de chiles frescos de 2011-2014. .	22
Figura 15. Precio de chile pasilla y ancho por kg en la Central de Abastos Iztapalapa, D.F. (2004-06/2015).	24
Figura 16. Estructura de la quitina.	31
Figura 17. Proceso de desacetilación de quitina para la obtención del quitosano.	34
Figura 18. Esquema del recipiente utilizado para conservar la humedad interna.	60
Figura 19. Almacenamiento de los chiles secos en refrigeración a 10 °C (a), 25 °C (b) y 35 °C (c).	60
Figura 20. Curvas de solubilidad de cloruro de sodio (NaCl), sulfato de amonio ((NH ₄) ₂ SO ₄) y cloruro de potasio (KCl).	61
Figura 21. Caracterización física del chile pasilla (a) y del chile mulato (b).	63



Figura 22. Porcentajes de la calidad obtenida para chile pasilla (a) y chiles mulato (b). ..64

Figura 23. Mohos y levaduras presentes en una placa Petrifilm.65

Figura 24. Gráfica de intervalos del recuento de hongos en el chile pasilla control y con recubrimiento de quitosán al 0.5 y 1%.66

Figura 25. Gráfica de intervalos del recuento de hongos en el chile mulato control y con recubrimiento de quitosán al 0.5 y 1%.66

Figura 26. Proceso gráfico para recuento de mohos con placas Petrifilm, (a) almacenamiento de las placas, (b) aplicación de muestra, (c) utilización del dispersor, (d) incubación de placas. 100



Resumen



RESUMEN

El cultivo del chile seco en México, es importante desde el punto de vista socioeconómico, sin embargo, debido a su mala manipulación existe una deficiente calidad microbiológica lo cual se genera en pérdidas causadas por enfermedades principalmente por hongos (Velásquez-Valle & Amador-Ramírez, 2007).

El objetivo de este trabajo fue disminuir el número de colonias de mohos y levaduras con un recubrimiento de quitosán en chiles secos mulato y pasilla, ya que es un carbohidrato utilizado para la formulación de los recubrimientos comestibles, el cual reduce el crecimiento de hongos y bacterias (Ramos-García, y otros, 2010).

Se aplicó un recubrimiento de quitosán al 1% a chiles secos mulato y pasilla, los cuales se almacenaron a diferentes condiciones de humedad relativa (75, 80 y 84%) y temperatura (10, 25 y 35°C) controladas para comparar su comportamiento a través de 3 semanas con chiles secos mulato y pasilla sin recubrimiento y así determinar si el quitosán ayudaba a disminuir o eliminar la cantidad de hongos presentes en los chiles actuando como fungicida.

Para determinar las mejores condiciones de almacenamiento se le realizaron análisis microbiológicos a las muestras con placas petrifilm para el conteo de hongos y levaduras basados en la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006. Los resultados mostraron que las muestras de chiles mulato y pasilla con recubrimiento de quitosán no presentaron hongos y levaduras en la mayoría de los casos o fue mínima la cantidad con respecto a los chiles sin recubrimiento. Se encontró un efecto significativo ($P < 0.05$) de la interacción entre temperatura y humedad comparando chile control y recubierto en la aparición de mohos y levaduras, disminuyendo de 100 a 30% la presencia.

Se concluyó que las condiciones de almacenamiento adecuadas para ambas variedades de chile con el recubrimiento son a temperatura ambiente y humedad entre 75 y 80% por lo que el recubrimiento comestible de quitosán es una gran alternativa para la conservación, la exportación y el comercio de este producto.



Introducción



INTRODUCCIÓN

En el mundo se conocen alrededor de 27 especies de chiles de las cuales se reconocen cinco especies de chile cultivadas, una de ellas es la *Capsicum annuum* L. de la que provienen la inmensa mayoría de los chiles que se consumen en México y a la que pertenecen los chiles secos mulato y pasilla (López-Riquelme, 2003).

El cultivo del chile seco en México es afectado por diversas enfermedades que provocan pérdidas no completamente cuantificadas (Velásquez-Valle & Amador-Ramírez, 2007). Las diferentes variedades de chiles secos se venden a diferentes precios, de acuerdo a la clasificación de calidad, según la NMX-FF-107/1-SCFI-2006: extra, primera, segunda, y tercera; clasificación que se hace en base al número, tipo de defecto y el área afectada en los chiles (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

Los chiles secos son un componente económico importante para el consumo nacional. Hay estados y regiones productores especializados en la producción de chiles secos. Esta condición de chiles deshidratados, permite almacenar el producto por varios meses y así buscar mejores oportunidades de mercadeo (Flores-Vega, 2009). Un mal manejo e inadecuado almacenamiento del chile seco resultan en pérdidas millonarias para México, representando hasta un 30% de la producción Nacional, siendo el crecimiento de hongos, uno de los factores que incide en esas pérdidas (Mojica-Marín, y otros, 2009).

En la exportación de chile seco, los cargamentos son inspeccionados de acuerdo con las normas vigentes en el puerto de entrada, las muestras de chile seco examinadas que no excedan 3% de frutos con presencia evidente de hongos o insectos, u otro tipo de daño o contaminantes, indica que el cargamento será aceptado (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

Como material de recubrimiento, la quitina y sus derivados han demostrado ser eficaces en el control de plagas y enfermedades de plantas. Su mecanismo de acción está fuertemente ligado a su estructura química. Se prevé que en el futuro se utilizarán estos biopolímeros en mayor extensión, principalmente para la sustitución de los pesticidas químicos reales o como reguladores del crecimiento (Ramírez, 2010). El quitosán es el derivado más relevante, es un carbohidrato utilizado para la formulación de los recubrimientos comestibles que reduce el crecimiento de hongos y bacterias (Ramos-García, y otros, 2010).



Este proyecto surgió a partir de una investigación que buscaba la reducción fúngica en chiles secos (mulato y pasilla) aplicando un recubrimiento con quitosán, un tratamiento térmico con vapor y la mezcla de ambos, en donde se concluyó que el tratamiento térmico con vapor y el recubrimiento de quitosán por separado son capaces de preservar la calidad del chile y reducir la carga fúngica (Cruz-Sánchez, 2013). Basándose en este estudio, se utilizó sólo un recubrimiento de quitosán con diferentes condiciones de almacenamiento para determinar las condiciones de almacenamiento postcosecha.

Como método para disminuir la carga fúngica, se planteó utilizar un recubrimiento de quitosán ya que posee, entre otras características, propiedades antifúngicas que están en función de la concentración utilizada, el peso molecular y grado de desacetilación del mismo (Ramos-García, y otros, 2010) y que podría contribuir en la optimización de costos en la industria comparado con el tratamiento de vapor antes mencionado.



Antecedentes



1. ANTECEDENTES

1.1. Chile fresco.

Se entiende por chiles frescos enteros, a los frutos de las plantas cultivadas pertenecientes a la familia de las Solanáceas, del género *Capsicum* destinadas para consumo humano. Son bayas que presentan formas, tamaños, color y pungencia característicos de la variedad (NMX-FF-025-SCFI-, 2007).

1.1.1. Historia del género *Capsicum*.

El género *Capsicum*, de la familia de plantas solanáceas, denominado así en el siglo XVI por los herbarios europeos, en varias lenguas occidentales el *Capsicum* lleva un nombre relacionado con la pimienta. En inglés chili pepper; en francés, piment enragé o poivre rouge; en italiano peperone y pimentão picante en portugués. La palabra española "chile", modificación de la náhuatl chilli, sigue siendo utilizada en México y América Central. Los arahuacos, grupo cultural de la zona del Caribe, lo denominaban en el siglo XVI ají o axi.

Se considera que el chile (*Capsicum annuum*) fue la base de la alimentación de las culturas de Mesoamérica, llamados Cococ, Cocopatic y Cocopalatic, desde la época prehispánica en náhuatl para categorizar la variedad de chiles según su grado de pungencia (picantes, muy picantes y picantísimos), factor determinado por la cantidad de capscicina ($C_{18}H_{27}NO_3$) en el fruto que se encuentra principalmente en la placenta del chile (López-Riquelme, 2003).

1.1.2. Clasificación del género *Capsicum*.

En el mundo se conocen alrededor de 27 especies de chiles, de las cuales se reconocen cinco especies de chile cultivadas (Figura 1):

- *Capsicum annuum* L. de la que provienen la inmensa mayoría de los chiles que se consumen en México,
- *Capsicum chinense* a la que pertenece el habanero y otros parecidos,
- *Capsicum pubescens* en la cual se incluye el chile manzano,
- *Capsicum frutescens* a la que pertenecen los chiles tipo Tabasco, y finalmente



- *Capsicum baccatum* que incluye aquellos chiles sudamericanos del grupo de los ajíes.

Casi todos los chiles cultivados en México pertenecen a la especie *annuum*. México destaca a nivel mundial por tener la mayor variabilidad genética de *C. annum*, que ha dado origen a un gran número de variedades o tipos de chiles, entre los que destacan el serrano, jalapeño, ancho, pasilla, guajillo y de árbol (López-Riquelme, 2003).



Figura 1. Especies de chile que se cultivan.

Fuente: (Zonneveld, y otros, 2012).

1.1.3. Usos del género *Capsicum annum*.

Los chiles pasilla y mulato pertenecen a la variedad genética *C. annum*. Fresco o seco, el chile se consume de muy diversas maneras: el fresco generalmente como verdura o condimento, el seco –ancho, mulato, mirasol y pasilla principalmente– se destina a la industria artesanal del mole (Figura 2). Actualmente también se usa para extraer un pigmento rojo que se emplea para colorar embutidos, como chorizo y salami, y en la industria avícola se mezcla con los alimentos balanceados para producir huevos con yema de color más roja, e incluso en la elaboración de cosméticos (Lesur, 2006).



Figura 2. Mole-Subproducto de los chiles secos.

Fuente: (Mexico's National Food Dish, 2009).

1.1.4. Taxonomía y morfología del género *Capsicum annum*.

El chile es una planta anual en cultivos en zonas templadas y es perenne en las regiones tropicales. Tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro. El sistema de raíces llega a profundidades de 0.70 a 1.20 m y lateralmente hasta 1.20 m pero la mayoría de las raíces están a una profundidad de 5 a 40 cm (Valadez, 1994).

La altura promedio de las plantas es de 60 cm variando según la especie. Las hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada. Las flores son perfectas (hermafroditas), formándose en las axilas de las ramas, son de color blanco y a veces púrpura.

El fruto es como una baya o vaina y en algunas variedades se hace curvo cuando se acerca a la madurez; el color verde de los frutos se debe a la alta cantidad de clorofila acumulada en las capas del pericarpio. Los frutos maduros toman color rojo o amarillo debido a los pigmentos lico-percisina, xantofila y caroteno.

El género *Capsicum annum* se clasifica de acuerdo al reino, división, clase, orden y familia como se presenta a continuación (Valadez, 1994):

- ✚ REINO: *Plantae*
- ✚ DIVISIÓN: *Magnoliophyta*
- ✚ CLASE: *Magnoliopsida*
- ✚ ORDEN: *Solanales*
- ✚ FAMILIA: *Solonáceae*
- ✚ GÉNERO: *Capsicum*
- ✚ ESPECIE: *annuum*



1.1.5. Estructura del chile.

La estructura del chile es en general similar para cualquier variedad de chile, consta de: cáliz, hombro, semillas, pedúnculo, margen del cáliz, base, glándulas de capsaicina y capsaicinoides, pared placentaria, placenta, exocarpio, mesocarpio, endocarpio, y ápice fin de la flor, en la figura 3 se ilustran las partes de las que constan los chiles (Pérez-Castro & Sosa, 2009).

El pimiento *Capsicum* comprende de 4 partes principales que son: el pericarpio, placenta, semillas y tallo. El pericarpio es la pared del fruto que conforma aproximadamente el 38% del *Capsicum*, en él se distinguen 3 capas: el exocarpio es la capa externa, delgada y poco endurecida, el mesocarpio es una capa intermedia y carnosa y el endocarpio que es la capa interior y de consistencia poco leñosa. En promedio, la placenta comprende el 2% del chile, 56% de semillas y un 4% de tallos (Pérez-Castro & Sosa, 2009).

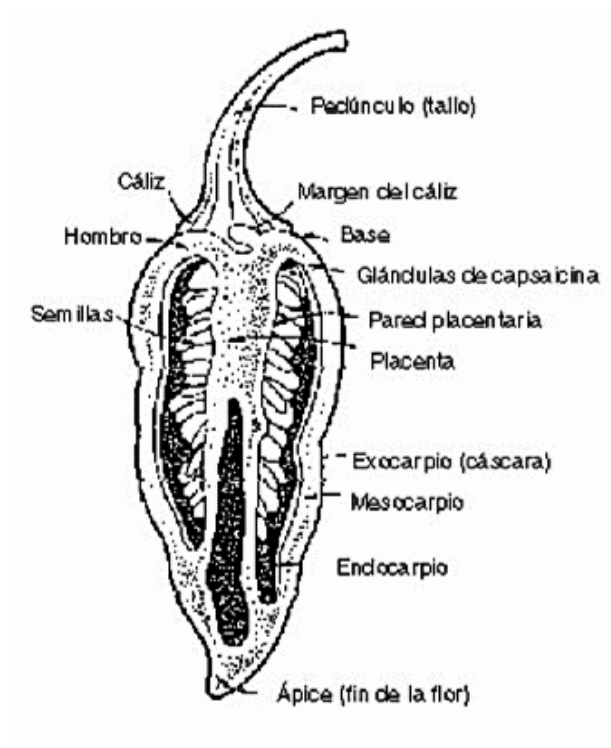


Figura 3. Estructura del chile.

Fuente: (Pérez-Castro & Sosa, 2009).

1.1.6. Composición química del género *Capsicum annuum*.

El sabor picante de los chiles se debe a la capsaicina y al ácido decilénico que son alcaloides que se encuentran en las placentas. Abundando sobre el valor nutritivo de los chiles verdes, están compuestos en un gran porcentaje por agua, en promedio 74.3%. El contenido de proteína es de 2.3%, y el de carbohidratos es de 15.8%. Por otra parte



contienen gran cantidad de vitamina C, por ejemplo el *C. annum* contiene de 50 a 280 mg de ácido ascórbico y de 100 a 1,200 UI de vitamina A por cada 100 g de fruto, el *C. frutescens* contiene de 2 a 50 mg de ácido ascórbico y de 200 a 20,000 UI de vitamina A por cada 100 g de fruto. En la tabla 1 se observan por cada 100 g de fruto la cantidad de estos componentes (Pérez-Castro & Sosa, 2009).

Tabla 1. Composición química promedio del chile verde por cada 100 g de parte comestible.

Agua	93.0	g
Calcio	6.0	mg
Fierro	1.8	mg
Fósforo	22.0	mg
Potasio	195.0	mg
Sodio	3.0	mg
Carbohidratos	5.3	g
Fibra	1.2	g
Grasa	0.5	g
Proteínas	0.9	g
Acido ascórbico	128.0	mg
Vitamina A	530.0	UI
Energía	25.0	Kcal

Fuente: (Pérez-Castro & Sosa, 2009).

1.2. Chile Seco.

Fruto de la planta cultivada *Capsicum annum* perteneciente a la familia de las Solanáceas que ha pasado por un proceso de deshidratado. Dicho fruto presenta formas, tamaños, colores, sabores y pungencia característicos de acuerdo a los tipos (Figura 4) (NMX-FF-107/1-SCFI-2006).



Figura 4. Chiles secos.

Fuente: (Aviña, 2014).



De los chiles secos que se producen en México predominan el chile ancho, mulato, mirasol, pasilla, puya, de árbol y otros de menor importancia. Los principales estados donde se produce esta hortaliza para secado son: Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco, Durango, Guanajuato y Aguascalientes (González, 2007).

1.2.1. Chile Pasilla.

Es un fruto largo de cuerpo ondulado que termina en un ápice puntiagudo o chato; presenta de dos a tres lóculos. Su producción se destina casi exclusivamente para deshidratado con una pequeña cantidad que se consume en fresco (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

Tiene nombre de Chilaca en estado fresco. La chilaca de alta calidad es larga, delgada y ondulada. Algunas llegan a medir hasta 30 cm y crecen en forma de semicírculo, con 2 ó 3 lóculos interiores. Es de color verde oscuro en estado tierno, pero va adquiriendo un tono café oscuro al madurar (Figura 5) (Long-Solis, 1998).

El nivel de pungencia es semipicante y en unidades Scoville tiene un valor de 2500.

En los estados de Aguascalientes, Jalisco, Guanajuato, Zacatecas y Michoacán se siembran alrededor de tres mil hectáreas de chile pasilla. Su demanda como fresco es reducida (SIAP, 2013).



Figura 5. Chile chilaca (chile en estado fresco) y chile pasilla (chile en estado seco).

Fuente: (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

1.2.2. Chile Mulato.

Los frutos son de forma cónica, con tamaños que varían de longitud y ancho. La base de inserción del pedúnculo puede ser plana o con cajete; el cuerpo es aplanado, generalmente; el ápice es puntiagudo o chato y presenta de dos a cuatro lóculos. Es de color café oscuro en fruto sazón y café negruzco una vez deshidratado. Su producción



como chile seco se logra en su mayor parte al deshidratar artificialmente los frutos, aunque una parte importante de este tipo de chiles es comercializado en fresco (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

La forma fresca del poblano es grande y carnosa, triangular, de cáscara brillante y tersa, verde mediano hasta oscuro, que cuando madura, adquiere un color rojo intenso. Cuando se madura y seca, se convierte en el *chile ancho* y *el mulato*, cuando está verde y es secado se convierte en el "*chile pasado*" (Figura 6) (Lesur, 2006).

El nivel de pungencia es media-baja y en unidades Scoville tiene un valor de 1000.

Los estados con mayor producción de chile poblano son Zacatecas, Sinaloa y Guanajuato donde se producen dos de cada tres chiles de esta variedad (SIAP, 2013).

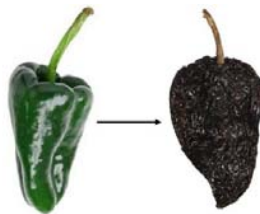


Figura 6. Chile poblano (chile en estado fresco) y chile mulato (chile en estado seco).

Fuente: (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

1.2.3. Principales componentes de los chiles secos.

Los chiles secos tienen como principales componentes: oleorresina, capsaicinoides y pigmentos que son compuestos con alto valor dentro del mercado internacional.

Oleorresinas: Las oleorresinas son extractos de naturaleza oleosa, obtenidos de especias o diferentes plantas que proporcionan a los productos color, sabor y percepción picante. Las oleorresinas del aji picante y paprika pueden ser usadas como saborizantes, aromas y colorantes para quesos, salchichas, mortadelas, chorizos, entre otros. La importancia de este producto, presente en los chiles secos, se debe a que si se comercializa como oleorresina, se está asegurando la estabilidad de los componentes químicos, como son la permanencia del color debido a los carotenos, ausencia de contaminantes microbiológicos por su alta acidez, no es atacado por insectos; además facilita la dosificación de su uso y reduce el espacio de almacenamiento y transporte (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).



Carotenoides: Los carotenoides son los responsables de la gran mayoría de los colores amarillos, anaranjados o rojos presentes en los alimentos vegetales, y también de los colores anaranjados de varios alimentos animales. Se conocen alrededor de 600 compuestos de esta familia, que se dividen en dos tipos básicos: los carotenos, que son hidrocarburos formados por átomos de carbono y dobles enlaces que propician inestabilidad característica de estos pigmentos y las xantofilas, sus derivados oxigenados. Los chiles secos son ricos en estos compuestos, ya que tienen la función de ser actividad de pro vitamina A (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

Capsaicina: Es el componente responsable del comportamiento picante en mayor o menor grado de los frutos del género *Capsicum*, localizándose fundamentalmente en sus semillas y membranas, es un compuesto orgánico de nitrógeno de naturaleza lipídica, frecuentemente clasificado como un alcaloide, se trata de un protoalcaloide, cuya formulación es $C_{18}H_{27}O_3N$, siendo un producto de condensación del ácido decilénico y de la 3-hidroxi-4metoxi benzilamida. La capsicina es un compuesto lipofílico, inodoro, incoloro (Flores, 2009).

La escala Scoville fue la primera prueba de laboratorio utilizada para medir el picante de las distintas variedades de chile, consiste en diluir un extracto en agua tantas veces como sea necesario hasta hacer imperceptible la capsicina pero es una prueba subjetiva ya que depende del degustador y su sensibilidad a las sustancias químicas responsables del picor.

La determinación de los capsaicinoides presentes en los chiles actualmente se realiza mediante análisis instrumentales, como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); estos análisis son los autorizados por la Administración de Alimentos y Drogas (FDA), ya que actualmente son los más exactos dadas las pequeñas cantidades en que se encuentran presentes en los chiles y cuyos resultados se reportan en gramos (Bosland & Walker, 2010).

1.3. Producción mundial y nacional de chiles frescos y secos.

La producción de chiles en el mundo ha tenido un crecimiento espectacular en los últimos 10 años. Este aumento en la producción de chiles, se debe a la creciente demanda de este producto en todas sus presentaciones (fresco, seco y procesado), tanto para consumo directo como para usos industriales. Según los datos más recientes de FAOSTAT (2013) la producción es de 31 131 225.56 toneladas entre frescos y secos (FAO, 2013).



A nivel mundial, China produce el 54% de la producción de chiles fresco, el segundo lugar lo ocupa México con 6.5%. Les siguen Turquía (4.2%), Indonesia (4.2%) y España (4.1%). En la figura 7 se muestra la producción promedio de los principales países productores. Se observa que China produce 13 968 000 ton, México 1 964 709 ton, Turquía 1 883 387 ton, Indonesia 1 291 637 ton y España 1 001 441 ton (FAO, 2013).

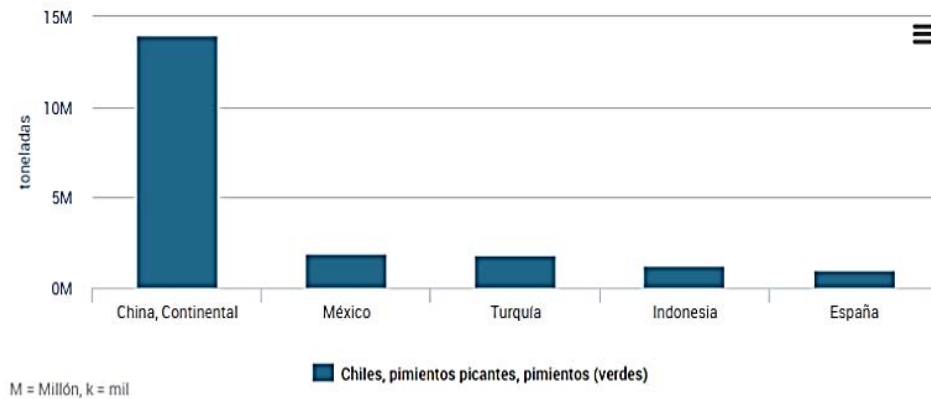


Figura 7. Producción de los 5 principales países productores de chiles frescos (2003-2013).

Fuente: (FAO, 2013)

La producción mundial de chiles secos es de 2348 millones de toneladas, India produce el 32%, le siguen en importancia China (11%), Tailandia (7%), Perú (7%) y Bangladesh (6%). México ocupa el décimo segundo lugar en producción, con 60 mil toneladas, en una superficie de 37 mil hectáreas, según datos de la FAO. Esta producción representa el 2.6% del total mundial.

La producción promedio de los principales países productores del 2003 a la fecha se observa en la figura 8. Los principales son India produce 1 237 867 ton, China 259 031 ton, Tailandia 155 856 ton, Perú 148 331 ton y Bangladesh 136 788 ton. En la gráfica se ilustra hasta el doceavo lugar donde se encuentra México con 60 000 ton en promedio (FAO, 2013).

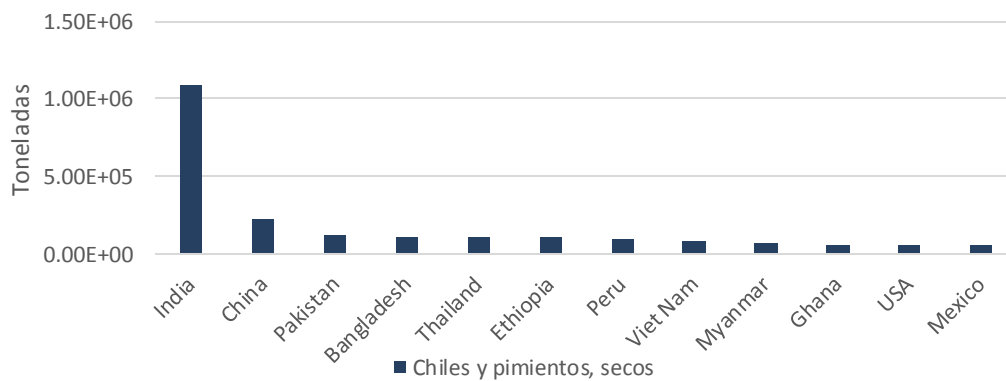


Figura 8. Producción de los primeros 13 países productores de chiles secos.

Fuente: (FAO, 2013).



De 1980 a la fecha se han duplicado los rendimientos unitarios, debido principalmente al uso de nuevas tecnologías en la producción de chiles frescos. Los países que presentan rendimientos más altos son aquellos que emplean tecnologías de alta precisión para la aplicación de riegos y fertilizantes, entre los que se encuentran Países Bajos, Bélgica, Reino Unido, Finlandia y Austria, todos con rendimientos arriba de 50 ton/ha en la producción de chiles frescos. México se clasifica un poco arriba del rendimiento mundial (15.30 ton/ha), con un rendimiento promedio de 18.17 ton/ha (FAO, 2013).

El rendimiento de la producción de chiles secos en el mundo ha tenido un incremento de 50%, aunque comparado con el rendimiento de los chiles frescos es considerablemente menor, en buena medida debido a que el peso específico por cada fruto seco es mucho menor que el mismo fruto en fresco. Los rendimientos más altos los presenta Cabo Verde, Jamaica, Marruecos y Martinica, todos con rendimientos mayores a 8 ton/ha, seguidos por Perú con 7.67%. México, por su parte, presenta un rendimiento promedio de 1.62 ton/ha debido principalmente a la mediana a baja tecnología de producción que tienen la mayoría de las regiones del país, mientras que el rendimiento mundial es de 1.51 ton/ha.

El mayor rendimiento se observa en la producción de chiles en condiciones de invernadero, seguido de los cultivos con sistemas de riego como el jalapeño que asciende a 27.923 ton/ha, chile bell o morrón y la de serrano que en 2007 presenta un rendimiento de 32.203 ton/ha. En la figura 9 se presenta el rendimiento en México de la producción de chiles frescos y secos del 2003 al 2013. El rendimiento del chile fresco es mayor que el del chile seco pero en ambos ha ido en aumento. El rendimiento de chile fresco aumento 23.7% (40 879 hg/ha) y el de chile seco 12.6% (2318.68 hg/ha) (FAO, 2013).

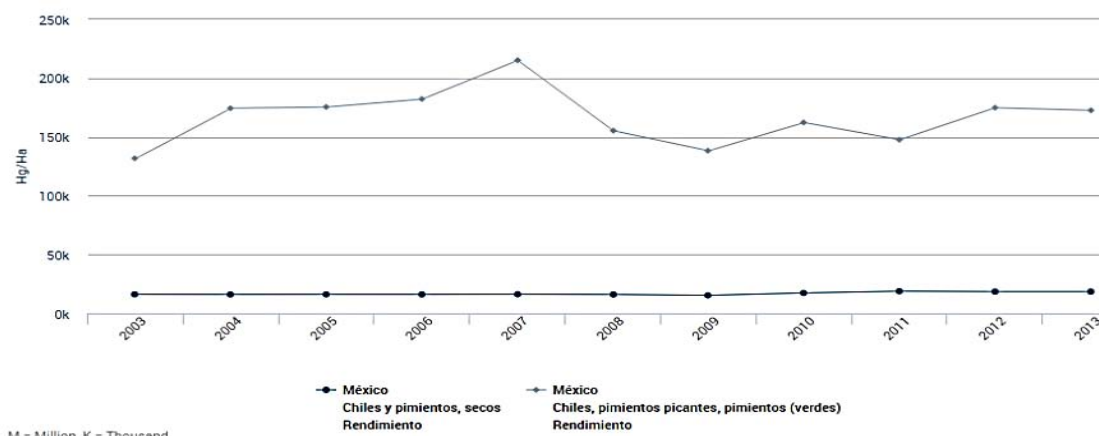


Figura 9. Rendimiento en México de chiles frescos y secos de 2003-2013.

Fuente: (FAO, 2013)



Los rendimientos más altos de la producción de chile verde en el país se logran en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, Sinaloa y Colima, principalmente debido al uso de alta tecnología de producción como avanzados sistemas de riego y producción en invernaderos, así como el uso de cultivares mejorados e híbridos. El rendimiento depende del grado de tecnificación (SAGARPA, 2012).

El chile se produce en prácticamente todo el territorio nacional y es en México donde se cultiva la mayor variedad de los mismos. Las más de cien variedades se concentran en 22 grupos de verdes y 12 de secos (SIAP, 2013).

Las especies que se producen en México en mayor cantidad son: *Capsicum annuum* L. (jalapeño, serrano, pasilla, guajillo, anchos, mulatos, pimientos, morrones y chile bell), *Capsicum frutescens* L. (chile manzano) y *Capsicum chinense* (chile habanero). En algunos estados del país se destinan superficies al cultivo de chile para deshidratado, principalmente, y en otros se destinan principalmente para producto fresco y encurtido.

El chile jalapeño es el que mayor producción representa, con el 37% del volumen producido, mayormente para el mercado doméstico. Le sigue en producción el chile serrano con el 16%, chile bell, pimiento con el 15%, la mayoría para exportación. El volumen de producción se complementa con el poblano con el 13%, y chilaca con el 11%. Con respecto a la superficie sembrada, más del 20% se destina a la producción de chile jalapeño, seguido del poblano (11%) y el serrano (8%), mientras que el chile bell, morrón o pimiento cuenta con poco menos del 4% de la superficie total. Casi la mitad de la producción de chile seco es de chile ancho con el 40% de la producción nacional, seguido del guajillo, con el 29% y el de chile mirasol con el 7%. El resto de las variedades de chiles más regionales se cultivan en pequeñas cantidades. La variedad que presenta un menor volumen producido es el chile tabaquero (SAGARPA, 2012).

Los estados de Sinaloa, Zacatecas, Chihuahua, San Luis Potosí y Michoacán encabezan la lista por el valor de producción, superficie sembrada y volumen de producción. En cuanto a chile seco el 95% del volumen de producción lo obtienen San Luis Potosí y Zacatecas.

En la figura 10 aparece la distribución de la producción en volumen y valor de los chiles que se producen principalmente en los estados de Chihuahua (40 ton/ha), Sinaloa (20 ton/ha) y Zacatecas (7 ton/ha), que en su conjunto participaron con el 67.1% del valor y el 72.5% del volumen generados en 2012 (SHCP, 2014).

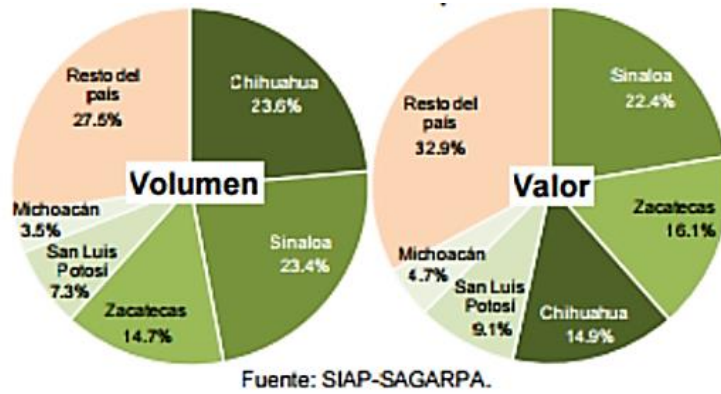


Figura 10. Distribución de la producción de chiles por entidad en 2012.

En la tabla 2 se encuentran los chiles frescos de mayor producción en México y los estados donde se producen.

Tabla 2. Variedades y estados productores de chile en México.

Nombre	Estados
Jalapeño	Baja California, BCS, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas.
Serrano	BCS, Chihuahua, Colima, Guanajuato, Coahuila, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas.
Habanero	BCS, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Colima, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas.
Poblano	Aguascalientes, BCS, Chihuahua, Colima, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán.
Morrón	BC, BCS, Jalisco, Morelos, Sinaloa y Sonora.

Fuente: (SIAP, 2010).

La región productora de chile para secado incluye principalmente a los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Guanajuato, Aguascalientes y Durango (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).



1.3.1. Exportación de chile fresco y seco.

De acuerdo a los datos más recientes de la FAO en el 2012 se exportaron 2, 923,552 ton de chile fresco en el mundo. Los principales países exportadores de chiles frescos son: China, India, España, México, Holanda y EUA.

México es el principal exportador de chile verde; nuestros principales clientes Estados Unidos, Japón, Canadá, Reino Unido y Alemania. Además de un producto con presencia mundial, éste es un cultivo originario de nuestro país y parte simbólica del imaginario culinario y cultural (SIAP, 2013).

En 2009, el producto nacional fue adquirido por 52 países de los cinco continentes. Estados Unidos compró 98.3%, por el cual pagó 705 millones de dólares. Reino Unido, Canadá y Alemania representan en conjunto un punto porcentual de las compras, con volúmenes entre 2 mil cien y 2 mil 600 toneladas. En Centroamérica Honduras y Guatemala adquieren en conjunto 926 toneladas con un valor de casi un millón de dólares (SIAP, 2013).

En 2009, el volumen que la nación colocó en el mercado internacional excedió 28.8% al de Países Bajos segundo del orbe, aunque el valor comercial representó la mitad de lo que obtiene tal país (SIAP, 2013). México tuvo un volumen de exportación de chile fresco (verde) de 767 mil 860 toneladas; valor, 773 millones 481 mil dólares. Países Bajos: volumen de exportación, 462 mil 554 toneladas; valor, mil 106 millones 804 mil dólares (Figura 11).

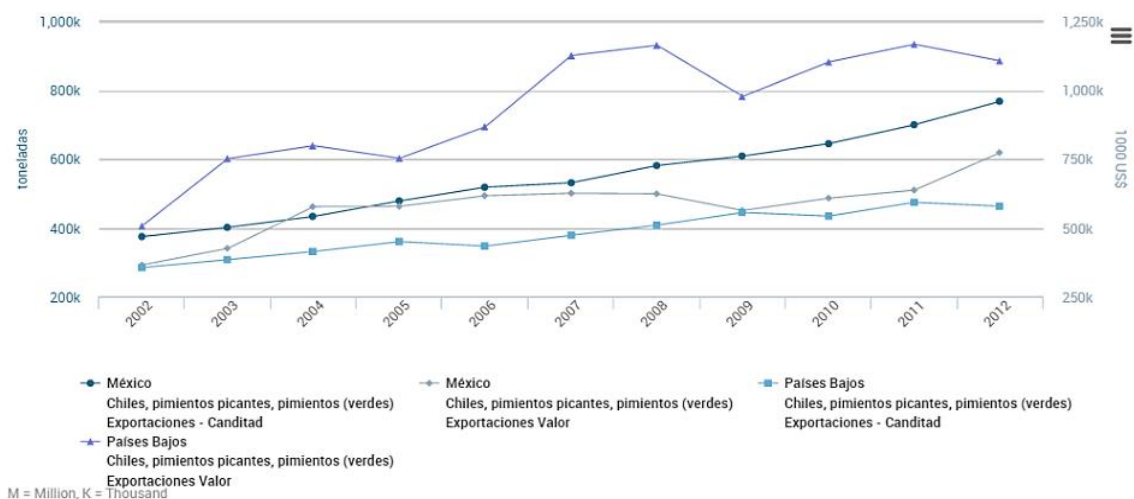


Figura 11. Exportaciones de chile verde México vs Países Bajos 2002-2012.

Fuente: (FAO, 2013).

El 99% de las exportaciones que hace México de chiles frescos tienen como destino Estados Unidos. Se da preferencia a las variedades de chile serrano y jalapeño por ser las



de mayor demanda en el mercado externo. Casi la totalidad de productos que se exportan a Reino Unido, Japón y Alemania son de conserva.

El comercio internacional de chiles secos o deshidratados también ha ido aumentando en los últimos años. Información reciente de la FAO indica que las exportaciones de chile seco en el mundo en 2012 fueron de 651 280 toneladas. Los principales países exportadores de chiles secos ordenados de mayor a menor son: India, China, Perú, Malasia, España, México y Myanmar (SIAP, 2013).

La exportación de chiles deshidratados está limitada por la alta exigencia y severas sanciones con relación a las condiciones de inocuidad y seguridad, tanto en chiles enteros como molidos, ya que frecuentemente presentan residuos de pesticidas, fragmentos de insectos o roedores, debido al uso de sistemas artesanales y tradicionales en el secado y empacado de los chiles (SIAP, 2013).

En la figura 12 se muestran las toneladas de chile seco que México ha exportado de 2002 a 2012 en donde muestra que la cantidad de exportación ha aumentado. En 2012 exportó 17 306 ton de chile seco.

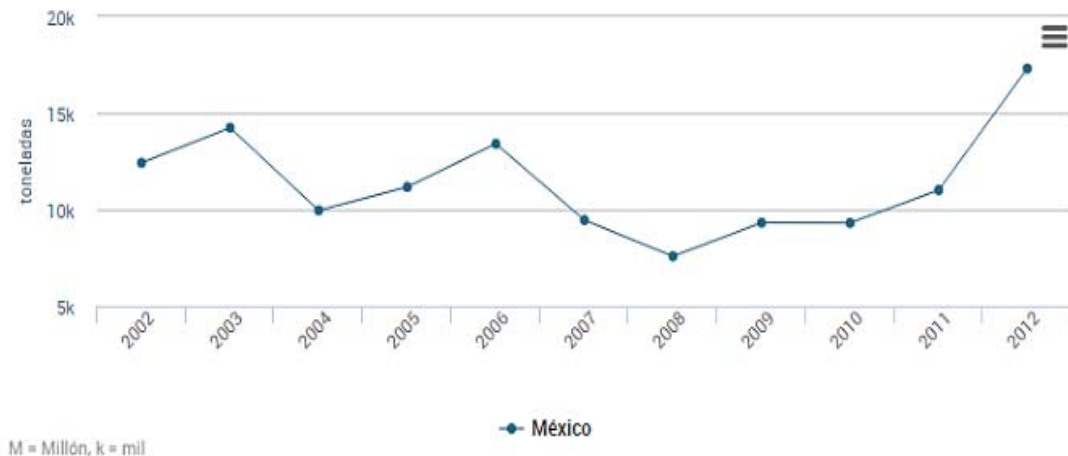


Figura 12. Exportaciones de chile seco de México al mundo (ton) en el periodo de 2002 a 2012.

Fuente: (FAO, 2013)



1.3.2. Importación de chile fresco y seco

En 2012 se importaron 2,876,764 toneladas de chile fresco en el mundo. Siendo Estados Unidos, Alemania y Francia los países con mayores importaciones de este producto.

México adquirió del extranjero en 2012, 6473 toneladas de chile fresco mientras que en el 2008 adquirió 7086 toneladas (figura 13). De los siete países que más venden a México, España cobra 2.8 dólares por cada kilo del picante y China la mitad. En general, el chile seco es el que se importa en mayor cantidad (SIAP, 2013).

Las importaciones de chiles secos en el mundo durante 2012 fueron de 594,404 toneladas en comparación con el 2002 que fueron de 380,521 toneladas. Los principales países importadores de chiles secos son Estados Unidos, Malasia, México, España y Tailandia.

En México, las importaciones de chile seco han disminuido, en 2008 se importaron 46,448 toneladas mientras que en 2012 se importaron 28,831 toneladas. Los principales países proveedores de chiles secos a México son: China con 26 mil 243 toneladas (62.6% de las adquisiciones), Perú (10 mil 258 toneladas) y Estados Unidos (mil 385 toneladas). Entre otros se encuentran Chile, España, Pakistán e India (Secretaría de Economía, 2013).

El chile ancho y Anaheim seco provienen principalmente de Perú. Todo el morrón proviene de Estados Unidos de América (SAGARPA, 2012).

En la figura 13 se comparan las toneladas de importación de chile fresco con las toneladas de importación de chile seco de 2002 a 2012.

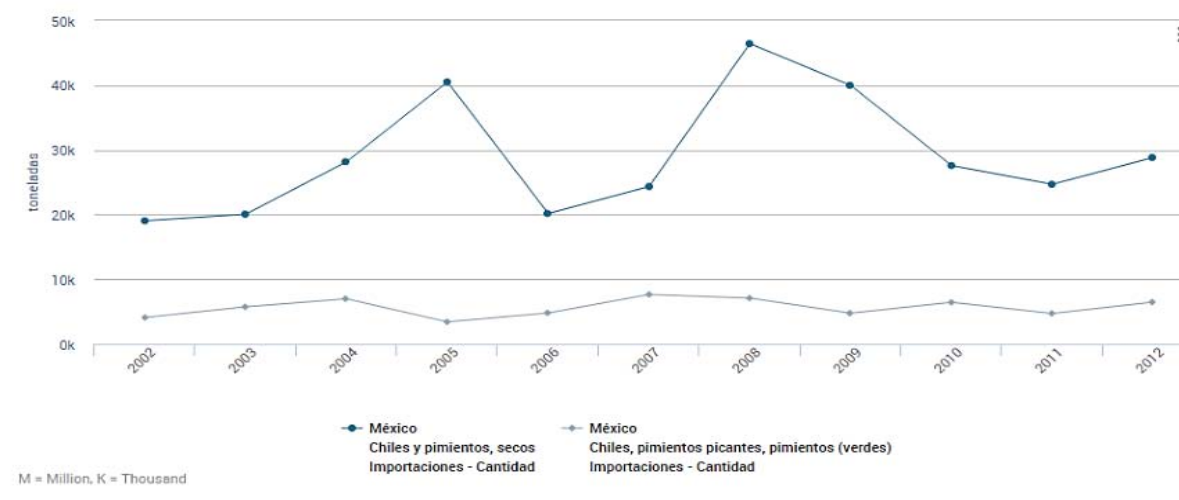


Figura 13. Importación de chiles verdes y secos en México (2002-2012).

Fuente: (FAO, 2013)



1.3.3. Comercialización y precios del chile fresco y seco.

El chile es una hortaliza que se cultiva en casi todo el país en los dos ciclos agrícolas y forma parte del grupo de los principales productos hortofrutícolas exportados. No obstante, el 80% de la producción nacional se consume internamente, lo que determina su importancia como alimento, ya que, además de poseer minerales y vitaminas, es un condimento que está presente en la mayoría de los platillos mexicanos. El suministro de chile fresco (verde) en México proveniente de la región Centro de México inicia en el mes de mayo, con el ingreso de chile fresco de Guanajuato. La cosecha de chile verde de San Luis Potosí, Zacatecas, Aguascalientes y Durango, confluyen en el mes de Agosto cuando Guanajuato ya terminó de comercializar su producto (SAGARPA, 2012).

El chile es el 8° cultivo con mayor valor generado en la agricultura nacional, alcanzando alrededor de 13 mil millones de pesos anualmente.

El precio del chile verde, depende de la variedad, por ejemplo el jalapeño promedió \$8.2/kg al mayoreo en 2013. Los secos, por su parte, tienen un mayor valor, que puede ser hasta seis veces el del verde, por ejemplo el chile ancho promedió \$55.9/kg en 2013 (figura 14) (SIAP-SAGARPA, 2014).

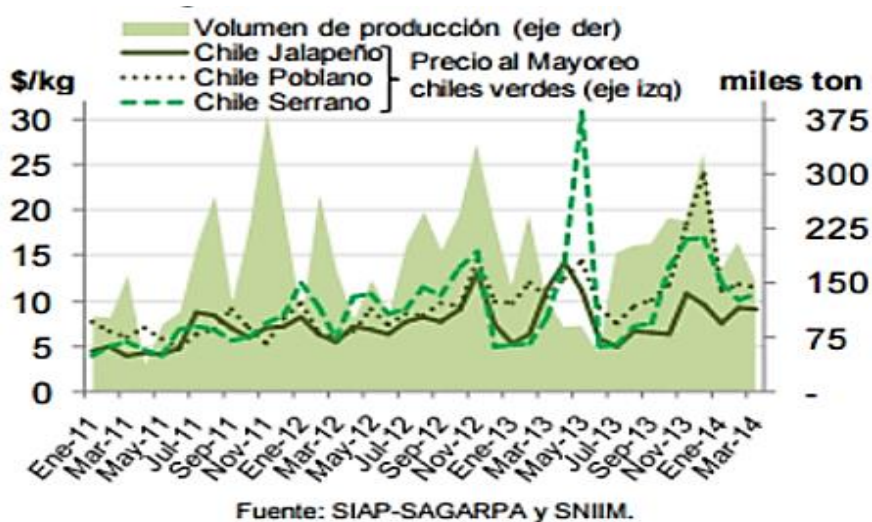


Figura 14. Precio y volumen de producción mensuales de chiles frescos de 2011-2014.

El comportamiento de los precios de chile verde pagados al productor se ha mantenido estable durante diez años; en tanto que en el caso del chile seco el flujo de comercio a nivel mundial presenta una tendencia creciente y por lo tanto un campo de oportunidad



(Pedraza-Robles & Gómez-Gómez, 2008). Por ejemplo, en México, el precio del chile mirasol tiene la tasa media de crecimiento más alta, con 26% anual (SAGARPA, 2012).

La Central de Abasto del Distrito Federal (CEDA) es el principal centro acopiador y distribuidor de chile seco en el país. La temporada alta o de mayor oferta de chile seco en el país se da entre los meses de septiembre y diciembre, época en que los mayoristas hacen las transacciones de mayor proporción. Posteriormente, entre enero y febrero se tiene una temporada media que corresponde a la época donde los mayoristas compran gran cantidad de chile para guardar y vender durante el resto del año. Finalmente existe una temporada baja que se extiende entre marzo y agosto en donde la oferta es más reducida (Pedraza-Robles & Gómez-Gómez, 2008).

La magnitud de chile seco que ha entrado a la CEDA de la Ciudad de México en los últimos años, solo se puede estimar de forma indirecta con base en la información proporcionada por los mayoristas, quienes coincidieron en señalar un volumen aproximado a las 14,000 toneladas anuales para 2000 (SAGARPA, 2012).

Con datos recopilados de SNIIM (Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados) se obtuvieron los precios del chile pasilla y ancho de primera calidad que se muestran en la figura 15, en donde el chile pasilla de 2004 a 2015 en promedio ha tenido un costo de 54.34 pesos y el chile ancho (que se asemeja al chile mulato) ha tenido un costo promedio de 57.37 pesos. Como se observa, a partir de 2012 han tenido un incremento acelerado de precio. En 2012 el chile pasilla tenía un precio de 43.68 pesos y a la fecha tiene un costo de 79.16 pesos; a su vez el chile ancho costaba 41.43 pesos en 2012 y en 2015 el precio es de 88.71 pesos. Los precios varían dependiendo de la oferta en la época determinada del año, así como de la variedad o tipo ofrecido (SNIIM, 2015).

Esto puede deberse a los cambios fundamentales en la oferta y la demanda mundial del producto. La inflación de estos alimentos está motivada por diversas fuerzas: altos precios de la energía, cambio climático y altos costos de semillas mejoradas y agroquímicos. El ingreso y el consumo per cápita están aumentando en los países en desarrollo y, por este motivo, también se incrementa la demanda.

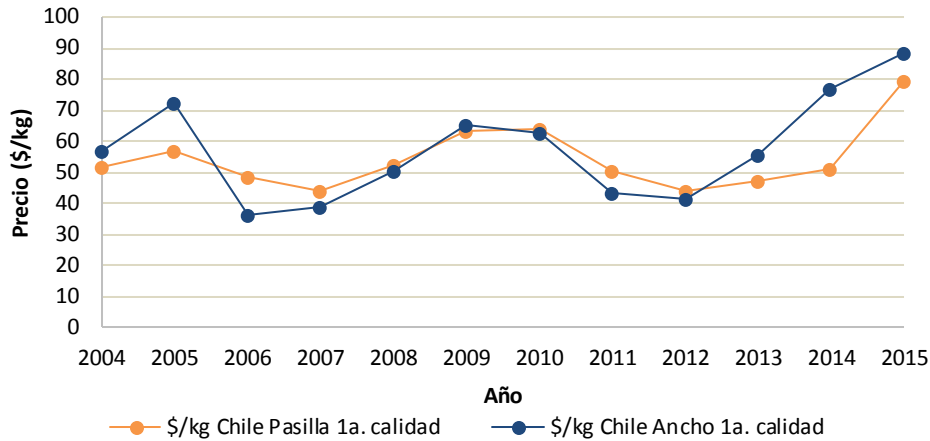


Figura 15. Precio de chile pasilla y ancho por kg en la Central de Abastos Iztapalapa, D.F. (2004-06/2015).

Fuente: (SNIIM, 2015).

1.4. Normatividad de chiles secos

A nivel nacional la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006 establece las condiciones y características de calidad que deben cumplir los chiles secos enteros (deshidratados) *Capsicum annuum* de los tipos guajillo (mirasol), ancho, mulato, de árbol, puya y pasilla destinados para el consumo humano, que se comercializan en el territorio nacional.

El chile seco entero, de los tipos mencionados anteriormente, destinados para consumo humano se clasifican en 4 grados de calidad, en orden descendente:

- Extra
- Primera
- Segunda
- Tercera o fuera de clasificación

El producto clasificado se designa por su nombre, tipo, tamaño y calidad, siendo el tamaño un parámetro de diferenciación comercial.

El producto designado como tercera o fuera de clasificación, primordialmente se utiliza para elaborar subproductos. Las especificaciones de defectos son las siguientes:

Extra: Estar prácticamente libres de cualquier defecto.

Primera: Pueden presentar como máximo un defecto menor y dentro de las tolerancias establecidas para esta calidad.



Segunda: Puede presentar como máximo un defecto mayor y dentro de las tolerancias establecidas para esta calidad.

Tercera o fuera de clasificación: Presentan más de un defecto mayor y son considerados de uso industrial.

Los chiles secos a los que se refiere la presente norma en sus diferentes tipos, tamaños y grados de calidad deben cumplir con las siguientes especificaciones sensoriales:

- Presentar forma y color característicos.
- Presentar sabor (pungencia o picor) característico de acuerdo al tipo.
- Presentar fuerte olor característico.
- Estar bien desarrollados, enteros, sanos, limpios, de consistencia firme y textura brillante.
- Provenir de frutos cosechados en el grado de madurez óptimo y con pedúnculo.
- Estar sin humedad exterior anormal.
- Estar libres de pudrición o descomposición.
- Estar libres de defectos de origen mecánico, entomológico, microbiológico, meteorológico y genético-fisiológico.
- Estar libres de insectos, hongos y fragmentos de insectos así como de contaminantes de roedores.
- Estar libres de materia extraña.

La clasificación por tamaño de los chiles se determina en base a su longitud, ancho y peso. En la tabla 3 reportada de la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006, se muestra la calidad con respecto a estas características.

Tabla 3. Clasificación por tamaño (cm), peso (g) y humedad (%) por tipo de chile seco entero.

Tipo	Calidad	Tamaño		Peso (g)	Humedad (%)
		Longitud (cm)	Ancho (cm)		
Pasilla	Extra o flor	>20		>7.5	13.5
	Primera	14-20	>3	>7.5	
	Segunda	<14	2-3	<7.5	
Mulato	Extra	>10	>7	>17	12.5
	Primera	7-10	5-7	14-17	
	Segunda	<7	<5	<14	

Fuente: (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).



Esta norma es parcialmente equivalente a la norma internacional ISO 972:1997. Aunque a nivel internacional no se establecen límites de contenido de *capsicinoides* (pungencia o picor), si se admite que hay diferencias en su contenido entre los diversos tipos de chile.

1.5. Cosecha y proceso de chiles secos.

La cosecha de chile es manual cuando la producción se destina para el deshidratado, en general los cortes se van realizando a medida que los frutos cambian de verde a rojo como es el caso del chile tipo Mirasol y de verde oscuro a café oscuro para los pasillas y mulatos (Macías-Valdez, y otros, 2010).

El secado o deshidratación consiste en la extracción del agua contenida en los alimentos por medios físicos, hasta que el nivel del agua sea adecuada para su conservación por largos periodos. Cuando la humedad final que se busca está por debajo de la humedad del aire normal o del medio ambiente, como es el caso del chile, es necesario realizar un proceso controlado de secado, utilizando aire caliente que provenga de una fuente de energía solar, eléctrica o por combustión de madera u otros productos derivados del petróleo (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

El secado por aire caliente, orientado en túneles o cabinas donde se coloca el producto, es el más eficiente y recomendado, ya que los equipos construidos pueden controlar el proceso de secado a través de la temperatura, velocidad del aire y la disposición del alimento a secar. El secado por este método es más rápido y práctico cuando se trata de grandes volúmenes (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006; Macías-Valdez, y otros, 2010).

El secado al sol es el medio más barato y más accesible para preservar alimentos en los países de desarrollo, pero ocurren pérdidas considerables de carotenos precursores de vitamina A. Secar al sol y proteger al alimento de la luz directa minimiza la destrucción de las provitaminas (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

Para los chiles ancho, pasilla y mulato los procesos de deshidratación comúnmente utilizados son:

- a) Mediante hornos secadores. Esta operación se efectúa por calor artificial en un túnel largo, de cemento, con dos entradas y dos salidas; en la parte de en medio hay otro túnel con una cámara a lo largo del cuarto y un quemador de diesel o de



gas en un extremo. Los chiles se transportan dentro de los túneles en carros, con bastidores o charolas, con fondo de malla de alambre; el secado se realiza a temperatura entre los 60 y 80°C, con un tiempo de 30 a 40 horas para lograr la extracción del agua del chile. El paso siguiente es el enfriado, para lo cual se depositan en un piso de cemento y mediante un rociado de agua potable para evitar la pérdida excesiva de agua y lograr el buen manejo de empaque (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006). El empaque se realiza un día después de haber humedecido los frutos y se hace en costales de ixtle o petates (Macías-Valdez, y otros, 2010).

- b) El secado por “paseras” se realiza con calor del sol. El proceso consiste en trasladar los chiles maduros recién cosechados a las paseras, que son camas o pequeñas terrazas, con un ligero declive para evitar encharcamiento en caso de lluvia; el declive debe estar orientado hacia la mayor exposición de los rayos del sol. Sobre las camas se extiende una capa de paja de frijol, de cereales o hierba seca, la cual permite el paso del aire y el agua de lluvia, evitando así que los frutos se pudran. Posteriormente se extiende una capa de chiles, los cuales son volteados diariamente para que el secado sea uniforme y evitar daños por quemaduras del sol. El secado bajo este método dura de 10 a 20 días, dependiendo de la intensidad del sol y de la temperatura. Estos frutos son de mayor calidad y tienen mejor precio (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006; Macías-Valdez, y otros, 2010).
- c) Secado en pasera modificada, es similar al anterior, pero con la diferencia de que los frutos colocados en las paseras, son cubiertos con una tira de plástico o polietileno transparente y se colocan piedras o bloques en las orillas del polietileno, a un metro de distancia. Esta operación permite la circulación del aire por debajo del plástico, disminuyendo la humedad contenida en los frutos rápidamente. Con este método, los frutos se voltean con menos frecuencia que en el secado en paseras comunes, ya que por lo general se exponen dos veces por cada cara en los 8 o 10 días que dura el proceso. Este método ahorra por lo menos la mitad del tiempo y más de la mitad de la mano de obra, con respecto al método anterior, y evita la pudrición de frutos ocasionada por el agua de lluvia. A los frutos secados con éste método se les atribuye mejor calidad de sabor y color, por lo que



los compradores pagan un sobreprecio del 5 al 10% (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

Los principales problemas que enfrentan los productores mexicanos de chile seco son: bajos niveles de tecnología debido principalmente a un lento cambio tecnológico en el proceso productivo, falta de recursos económicos, alto costo de los insumos incluyendo la energía eléctrica, escasez de agua, precio de la cosecha variable, comercialización deficiente, enfermedades propias del cultivo, falta de crédito, escasez de mano de obra y falta de asistencia técnica especializada (Pedraza-Robles & Gómez-Gómez, 2008).

De acuerdo con las descripciones anteriores, se observa que durante la cosecha de chile seco no se lleva ningún control físico-sanitario y los frutos están expuestos a cualquier contaminación, lo que es una gran limitante para cumplir con las buenas prácticas de manejo de postcosecha de vegetales. En tales circunstancias del poco control de calidad del fruto de chile seco, el precio de venta es bajo y por tanto existen pocas posibilidades de exportar para obtener un mejor precio de venta y mejores ganancias (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

1.6. Condiciones de almacenamiento del chile.

Las condiciones más importantes de almacenamiento son la temperatura, humedad y la atmósfera. Estas pueden variar drásticamente de una especie a otra y aun entre un cultivar y otro. Si se mantienen las condiciones óptimas de almacenamiento para un producto se logra maximizar su vida útil (Ardila-Núñez & Parra-Coronado, 1999).

La temperatura es el factor individual más importante en cuanto a condiciones de almacenamiento. Por ello, su manejo adecuado debe tener la más alta prioridad.

La humedad es el segundo factor que debe considerarse. Una alta humedad relativa durante el almacenamiento minimiza la transpiración y la pérdida de agua de los productos; también ayuda en algunos productos a mantener su vigor y retardar la senescencia. Sin embargo una alta humedad relativa puede ocasionar condensación, crecimiento de hongos en las superficies, crecimiento de raíces, piel agrietada, mayor deterioro, etc. (Ardila-Núñez & Parra-Coronado, 1999).



El tercer factor a ser considerado es la atmósfera de almacenamiento. Hay aproximadamente 79% de nitrógeno (N_2), 21% de oxígeno (O_2), 0.03% de bióxido de carbono (CO_2) y cantidades de trazas de otros gases en la atmósfera. La vida de los productos hortícolas puede extenderse reduciendo la concentración de oxígeno aumentando la concentración de CO_2 o combinando ambas situaciones (Kitinoja & Kader, 2004).

Un mal manejo e inadecuado almacenamiento del chile seco resultan en pérdidas millonarias para México, representando hasta un 30% de la producción Nacional, siendo el crecimiento de hongos, uno de los factores que incide en esas pérdidas. Los mohos toxigénicos se reproducen y producen sus metabolitos tóxicos cuando se encuentran bajo las condiciones adecuadas (composición, humedad, temperatura, tiempo y luz) (Flores-Vega, 2009).

Si la producción agrícola ha de almacenarse, es importante que el producto de partida sea de primera calidad. El lote a almacenar debe estar libre de daños o defectos y los recipientes que lo contengan deberán estar bien ventilados y ser lo suficientemente resistentes para soportar el apilado. En general, unas prácticas adecuadas de almacenamiento incluyen el control de la temperatura, de la humedad relativa, de la circulación del aire y del espacio entre las cajas para una ventilación adecuada, así como evitar una mezcla de artículos incompatibles (Kitinoja & Kader, 2004).

Los productos secos se conservan mejor si la humedad es baja durante el almacenamiento. El contenido de agua generalmente bajo ayuda bastante a prevenir el crecimiento fungoso, se recomienda usar bolsas de polietileno para prevenir cambios en contenido de humedad.

Las condiciones de almacenamiento recomendadas para frutos y hortalizas secas son a temperatura de $10^\circ C$ aproximadamente y humedad relativa de 55-70% por un tiempo de almacenamiento promedio de 6 meses. Los fabricantes de productos de chile guardan las materias primas para su conservación en cámaras frigoríficas en $0-10^\circ C$, pero prefieren molerlos antes y almacenarlos en esa forma manufacturada en envases herméticos (Kitinoja & Kader, 2004).

Una alternativa con potencial viable para la conservación de frutas y vegetales frescos es la utilización de recubrimientos comestibles multicomponentes, los cuales pueden elaborarse con ingredientes básicos adecuados al producto para brindarle la protección de barrera deseada y además, sirven como vehículos para incorporar aditivos específicos



que refuerzan su funcionalidad tales como antioxidantes, colorantes y antimicrobianos, que en el caso de estos últimos evitarían el crecimiento de microorganismos patógenos en la superficie de los productos vegetales (Ramos-García, y otros, 2010).

1.7. Recubrimientos.

Un recubrimiento comestible 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. Dichas soluciones formadoras del recubrimiento pueden estar conformadas por un polisacárido, un compuesto de naturaleza proteica, lipídica o por una mezcla de los mismos (Figuroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narváez, 2011).

El propósito de los recubrimientos comestibles es prolongar la vida útil del alimento y proporcionarle una efectiva barrera contra los riesgos que generan las condiciones ambientales existentes como la migración de humedad, lípidos o el transporte de gases y solutos (Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010).

Las proteínas, lípidos y polisacáridos ya sea como componentes únicos o combinados, les confieren diferentes propiedades fisicoquímicas a las películas y recubrimientos comestibles y biodegradables con la finalidad de desarrollarlas con mejores propiedades de barrera y mecánicas. El mecanismo por el cual los recubrimientos conservan la calidad de frutas y vegetales es debido a que crean una barrera física a los gases y vapor de agua, produciendo una atmósfera modificada que restringe el intercambio de humedad, reduce la absorción de O_2 para disminuir su tasa respiratoria, aumentar su vida útil y reducir las pérdidas postcosecha (Figuroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narváez, 2011).

En la mayoría de los productos frescos o procesados, la contaminación microbiana se lleva a cabo y con una alta intensidad sobre la superficie del alimento, por lo tanto se requiere un efectivo sistema de control de crecimiento de dicha biota. Tradicionalmente, los agentes antimicrobianos son adicionados directamente a los alimentos, pero su actividad puede ser inhibida por diferentes sustancias que forman parte del alimento, de manera que se puede disminuir su eficiencia. En tales casos, la implementación de películas o recubrimientos antimicrobianos puede ser más eficiente que los aditivos que se utilizan en el producto alimenticio, ya que desde éstos se puede migrar selectiva y gradualmente



compuestos desde el empaque a la superficie del alimento (Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010).

Las películas y recubrimientos comestibles y biodegradables representan una alternativa de empaque sin costos ambientales. Aunque no se pretende el reemplazo total de películas de empaque sintéticas, se tiene el potencial de reducir considerablemente estos materiales. Además, se busca proporcionar una actualización concerniente al desarrollo e implementación de recubrimientos de frutas, como alternativa natural, y viable desde el punto de vista medioambiental para la conservación de productos hortofrutícolas (Ramos-García, 2010; Figueroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narváez, 2011).

Destacando la utilización de polisacáridos en el desarrollo de esta tecnología se hondará en la quitina y el quitosán (quitosano), el polisacárido empleado para el desarrollo del proyecto, el cual es un carbohidrato utilizado para la formulación de los recubrimientos comestibles que reduce el crecimiento de hongos y bacterias (Miranda-Castro, Cárdenas-Galo, López, & Lara-Sagahon, 2003).

1.7.1. La quitina

La quitina es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa y está compuesta por unidades de N-acetilglucosamina (exactamente, N-acetil-D-glucos-2-amina). Éstas están unidas entre sí con enlaces β (1 \rightarrow 4) (figura 16). A menudo se considera como derivado de la celulosa, a pesar de que no se produce en organismos productores de celulosa. Es estructuralmente idéntica a la celulosa, pero tiene grupos acetamida (-NHCOCH₃) en las posiciones C-2 (Kumar-Dutta, Dutta, & Tripathi, 2004).

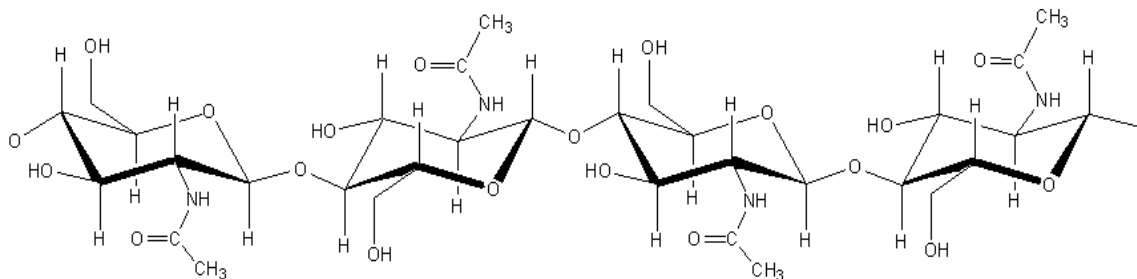


Figura 16. Estructura de la quitina.

Fuente: (Kumar-Dutta, Dutta, & Tripathi, 2004).



La producción anual mundial de quitina se estima aproximadamente en 10^{10} - 10^{12} toneladas siendo sintetizados y degradados en la naturaleza. Esta sustancia se encuentra en las estructuras celulares de los hongos, bacterias, insectos, arácnidos, crustáceos, nematodos y otros invertebrados tales como: anélidos, moluscos, cefalópodos y hemicordados (Ramírez, 2010; Gortari & Hours, 2013).

Su principal función biológica es estructural. Las conchas de crustáceos son la fuente más importante de la quitina para uso comercial debido a su alto contenido y disponibilidad.

La quitina y sus derivados tienen gran valor económico debido a sus numerosas aplicaciones: alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos, industrias textiles, tratamiento de aguas residuales y agricultura. Ambos han demostrado ser eficaces en el control de plagas y enfermedades de plantas y su mecanismo de acción está fuertemente ligado a su estructura química (Gortari & Hours, 2013).

Estos mecanismos pueden resultar de la acción directa sobre el patógeno o pueden ser una consecuencia de su capacidad para inducir los mecanismos de defensa en las plantas. En cualquier caso, el efecto es su protección contra varias enfermedades vegetales, antes y después de la cosecha. La adición de quitina y sus derivados para el suelo favorece el crecimiento y la actividad de muchos organismos quitinolíticos que constituyen controles biológicos y son los enemigos naturales de muchos agentes responsables de plagas vegetales y enfermedades (Gacén & Gacén, 1996).

1.7.2. El quitosano

El quitosano (del griego χιτών "coraza"), es un biopolímero. Es un polisacárido lineal formado por monómeros de D-Glucosamina (unidades deacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada), que se encuentran unidos por enlaces $\beta(1,4)$, siendo nombrada químicamente: 2- Amino-2-Desoxi- β -D-Glucopiranososa (figura 17) (Hernández, 2004; Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009).

El quitosano es un producto natural derivado de la quitina (figura 17) que ofrece un amplio potencial que puede ser aplicado a la industria alimentaria debido a sus propiedades fisicoquímicas particulares, tales como biodegradabilidad, biocompatibilidad con los tejidos humanos, el no ser tóxico y en especial sus propiedades antimicrobianas y



antifúngicas. Estos aspectos lo hacen de vital interés para la preservación de alimentos y las tecnologías emergentes (Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010).

Se define al quitosano y a la quitina como solubles o insolubles en ácido acético a 0.1 mol/L respectivamente o por el grado de desacetilación. La quitina con más de un 50% de desacetilación es considerada quitosán e incluso otros la definen como tal ante un grado de desacetilación superior al 60%. Usualmente en el caso de las quitosanas, se establece que el grado de desacetilación se encuentra comprendido entre 60-98% (Hernández, 2004; Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009; Rinaudo, 2006).

Es de particular interés la característica del quitosano de cargarse positivamente en un medio ácido asumiendo un rol único entre los glucanos, siendo los grupos amino responsables de esta densidad de carga positiva que hace al biopolímero soluble en sistemas acuosos (Hernández, 2004).

Se han desarrollado varios procedimientos para la obtención de quitosano en los últimos años. El método más utilizado es la reacción de conversión de quitina en este polisacárido natural principalmente por N-desacetilación alcalina. Dicho proceso se realiza mediante el tratamiento directo de la quitina con una solución concentrada de hidróxido de sodio o potasio (40-50%) a una temperatura de 100°C o más, con hidrólisis de la mayoría o todos los grupos acetilos del polímero. Otro de los procedimientos de obtención de este polímero, es también la desacetilación de la quitina pero mediante el uso de reactivos ácidos; sin embargo, este método puede provocar la hidrólisis del polisacárido y traer como consecuencia, bajos rendimientos del producto final (quitosano). Por esta razón, los métodos alcalinos son los procesos comúnmente empleados para la desacetilación de la quitina (Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009).

Es conocida la dificultad que presenta la preparación de quitosano con un grado de desacetilación superior al 90%, sin que produzca degradación de la cadena del polímero. Sin embargo en 1983 se estableció un método de preparación de quitosano con un grado de desacetilación cercano al 100% sin tener degradaciones significativas en la cadena polimérica. El método consiste en lavar sucesivamente el producto intermedio con agua, dos o más veces durante el tratamiento alcalino a un tiempo menor a 5 horas para una concentración de NaOH del 47% a una temperatura de 110°C. También se estableció un método para obtener quitosano completamente desacetilado sin disminución excesiva del



peso molecular. El mismo incluye el uso del tiofenol durante los tratamientos sucesivos de álcali, durante una hora a una temperatura de 100°C.

El quitosano también ha sido preparado a partir de caparazones de camarón tigre (*Penaeus monodon*) desacetilando la quitina dos veces, con disoluciones de NaOH al 50% bajo vacío durante 30 min a 100°C, obteniendo productos con grado de desacetilación entre 43 y 54% en cada lavado. El proceso termoquímico consiste en someter la quitina a 230°C en una solución alcalina al 10% durante 1 min a presión reducida. Una descompresión repentina en el proceso y posterior tratamiento durante 24 h, a una temperatura de 4°C permite alcanzar una desacetilación completa de la quitina (Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009).

Las propiedades del quitosano, tales como el grado medio de polimerización, el grado de N-desacetilación, la carga positiva, y la naturaleza de las modificaciones químicas de su molécula influyen fuertemente en su actividad biológica (Hernández, 2004).

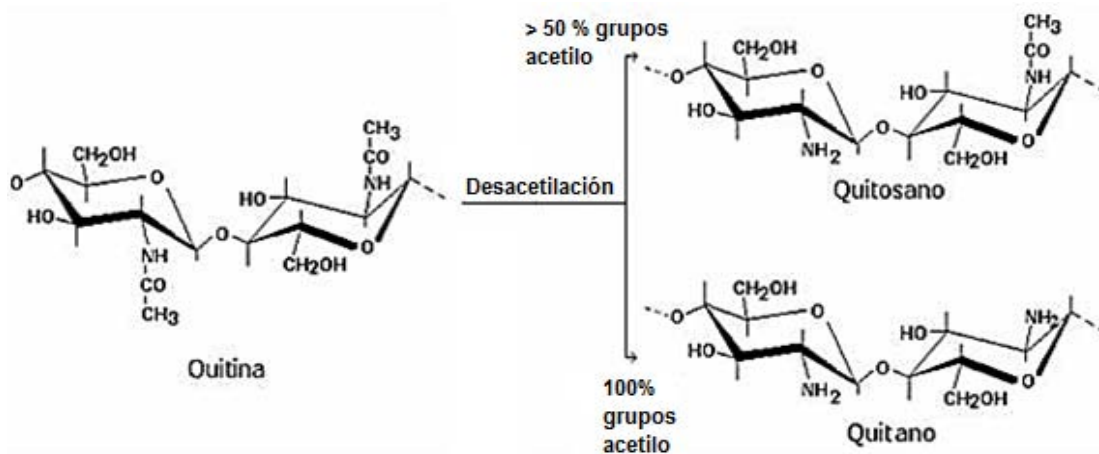


Figura 17. Proceso de desacetilación de quitina para la obtención del quitosano.

Fuente: (Tapia-Paredes, y otros, 2009).

Son muchos y variados los parámetros a influir en la obtención del producto final ya sea este quitosano o algún otro derivado de la quitina. Se puede apreciar la influencia que tienen en el quitosano a obtener, procesos vinculados directamente a la quitina como son la desmineralización, desproteización y decoloración. Especial atención requieren procesos como la desacetilación de la quitina y las hidrólisis del quitosano, pues estos ejercen un efecto directo en la estructura, composición y distribución de las unidades que



conforman el copolímero y los oligómeros de quitosano, que son propiedades que influirán directamente en las aplicaciones que puedan tener los productos obtenidos; de ahí que sea evidente la importancia enorme que tiene el control de las condiciones que requieren estos procesos de reacción (Hernández, 2004).

1.7.3. El quitosano como recubrimiento filmogénico con actividad antimicrobiana.

El quitosán se ha utilizado como recubrimiento de frutas y hortalizas para inhibir el crecimiento microbiano, se ha propuesto y ensayado desde hace más de 15 años debido a sus propiedades bactericidas y fungicidas, su capacidad para formar películas y su baja toxicidad en seres humanos. En principio, la capacidad del quitosán para formar películas favorece la preservación de los productos debido a la modificación de la atmósfera interna y a la disminución de las pérdidas por transpiración, también se han encontrado beneficios como la conservación de una mejor textura con el tiempo, y la carga microbiológica a lo largo del tiempo permanece siempre más baja en los sistemas tratados con quitosán (Lárez-Velásquez, 2008).

El quitosano exhibe actividad antimicrobiana contra algunos hongos filamentosos, levaduras y virus, sin embargo, las bacterias son poco sensibles. La actividad fungicida del quitosano ha sido reportada en varios estudios, inhibiendo el crecimiento de los hongos causantes de enfermedades postcosecha manifestándose esta inhibición en el crecimiento micelial y esporulación o en ambos estados de desarrollo. Se ha mencionado que el efecto fungicida del quitosano está en función de la concentración utilizada, el peso molecular y grado de desacetilación del mismo; por ello, para una buena efectividad se deberá encontrar la dosis adecuada en cada situación (Lárez-Velásquez, 2008).

En algunos hongos, el quitosano puede producir alteraciones en las funciones de la membrana, mediante su fuerte interacción con esta superficie de carga electronegativa, guiando cambios en la permeabilidad, disturbios metabólicos y eventualmente la muerte (Quintero, Falguera, & Muñoz, 2010). En este mecanismo de acción el quitosano se adhiere a la membrana plasmática de los hongos gracias a las interacciones electrostáticas entre las cargas positivas del quitosano y a las cargas negativas de los fosfolípidos formadores de membrana, una vez adherido a la membrana, causa una filtración a través de ella hasta llegar al citosol; el quitosano utiliza energía para atravesar la membrana, sin embargo,



este proceso no involucra al proceso de endocitosis. Los hongos normalmente mantienen en su citosol niveles muy bajos de Ca^{2+} , esto es gracias a la barrera que forma la membrana plasmática, la cual posee reguladores herméticos que impiden el paso libre de gradientes de Ca^{2+} , este proceso en el que también se involucra al mecanismo homeostático, donde dentro del citosol se regula la concentración de Ca^{2+} , enviando fuera de la célula al exceso de Ca^{2+} , o los almacena en organelos de la propia célula. Por lo tanto, al introducirse el quitosano al interior del citosol se transforma drásticamente el mecanismo homeostático, ya que al formar canales en la membrana permite el paso libre de gradientes de calcio, ocasionando una inestabilidad en la célula hasta su muerte. Sin embargo, no todos los hongos presentan la misma sensibilidad al quitosano y esto puede ser debido a la composición de fosfolípidos de membrana y particularmente a la naturaleza de sus cargas (cargas neutras) (Ramos-García, y otros, 2010).

El quitosán inhibe multitud de especies de hongos, exceptuando, o siendo menos efectivo con aquellas que lo poseen en sus paredes celulares, como cabría esperar. Los hongos que poseen quitosán como componente de sus paredes celulares deberían ser menos sensibles a la aplicación de dosis razonables de éste por dos razones: (a) la presencia natural de quitosán en las paredes celulares no genera efectos adversos para el microorganismo y (b) las interacciones electrostáticas del quitosán añadido (exógeno), cargado positivamente, deberían verse menos favorecidas con paredes celulares que poseen quitosán endógeno que cuando éstas poseen material con cargas negativas (Lárez-Velásquez, 2008).

El quitosano logra su efecto antifúngico por vías diferentes en las que parece desempeñar un papel importante el grado de su polimerización. Una disminución en el grado de polimerización de la molécula de quitosano provoca una disminución en el número de especies de hongos inhibidos. La inhibición del crecimiento es debido a los grupos aminos protonados a pH 5.6 del quitosano y esto puede formar complejos poli electrolitos con los grupos ácidos y básicos de la superficie celular creando desórdenes; pero también ha sido encontrado que existe cierto requerimiento mínimo de tamaño molecular para poder mostrar actividad antifúngica in vitro. En 1986 se demostró que para *Fusarium solani* este valor es de al menos siete residuos de glucosamina a través de estudios histoquímicos demostró que el quitosano se acumula en el interior celular del hongo y evita su crecimiento (Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009; Hernández, 2004).

Otros autores reportan que el grado de acetilación es de gran importancia en la actividad antifúngica in vitro del quitosano. En este sentido El Gaouth, Arul, & Asselin, 1992,



demonstraron que quitosanos de similar grado de polimerización y diferentes grados de acetilación presentan actividad inhibitoria sobre el crecimiento de algunos hongos, correspondiendo las mayores inhibiciones con el menor grado de acetilación (Rodríguez-Pedroso, y otros, 2009).

En otros reportes se observó que la sensibilidad a la acción del quitosano depende del género y especie ya que los hongos *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporoides* y *Rhizopus stolonifer* redujeron marcadamente su crecimiento radial aplicando una elevada concentración de quitosano (Hernández, 2004).

La carga positiva que se desarrolla en el quitosán en medio ácido ($\text{pH} < 5.5$) lo hace soluble en medio acuoso, diferenciándolo de su polímero matriz la quitina y, según muchos autores, confiriéndole también mayor actividad biocida. El quitosano a $\text{pH} 5,8$ induce un rompimiento masivo de los compuestos de proteínas y se sugiere que la actividad antifúngica del quitosano está asociada a su habilidad para distorsionar la membrana plasmática del hongo. También El Ghaouth relacionó la propiedad fungistática del quitosano parcialmente acetilado contra *Rhizopus stolonifer*, con su habilidad para inducir cambios morfológicos en la pared celular del hongo. La interacción de la quitosana con el plasmalema fúngico, especialmente en la hifa donde la membrana está menos protegida, puede causar la formación de poros y consecuentemente inducir cambios en la conformación de la membrana. Tales cambios pueden alterar el balance existente entre biosíntesis y degradación de componentes de la pared celular del hongo (Hernández, 2004).

Las ventajas del quitosán como fungicida protector contra enfermedades postcosecha radican en la capacidad para formar películas semipermeables compatibles con el recubrimiento céreo que se aplican a frutos y vegetales, y a sus propiedades combinadas de inhibir el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos y estimular reacciones defensivas en tejidos vegetales (Hernández, 2004).

La actividad antimicrobiana del quitosano contra las bacterias, podría ser atribuida a la naturaleza policatiónica de su molécula, la cual permite la interacción y formación de polielectrolitos complejos con polímeros ácidos producidos en la superficie de la célula bacteriana (lipopolisacáridos, ácido teicoico, teicuronico, y polisacáridos capsulares). Recubrimientos y películas a base de quitosano probados sobre *Listeria monocytogenes* mostraron efecto inhibitorio sobre el crecimiento de dicha bacteria (Hernández, 2004).



Estudios sugieren que el quitosano, en películas plastificadas o no, muestra actividad fungistática, lo cual hace posible el desarrollo de nuevos empaques activos con buenas propiedades térmicas. Factores como la temperatura de almacenamiento y las modificaciones de las propiedades mecánicas y de barrera influenciadas por aditivos y otros tipos de sustancias antimicrobianas pueden potenciar el efecto antimicrobial de las películas (Martínez-Camacho, y otros, 2010).

1.8. Microbiota de los chiles secos

Los alimentos en ocasiones pueden vehicular microorganismos patógenos o sus toxinas, con el consiguiente riesgo para la salud del consumidor, pudiendo causar brotes de origen alimentario, lo que puede representar un grave problema de salud pública. Es imprescindible un control eficaz de la higiene, a fin de evitar las consecuencias perjudiciales que derivan de las enfermedades y los daños provocados por los alimentos y por el deterioro de los mismos para la salud y para la economía. La alteración, adulteración o contaminación, tanto química como biológica influye directamente en la calidad de los alimentos (Campos-Díaz, Rodríguez-Alvarez, Sierra-López, & Arias-Rodríguez, 2003).

El análisis microbiológico de un alimento permite conocer sus fuentes de contaminación, valorar las normas de higiene utilizadas en la elaboración y manipulación de alimentos, detectar la posible presencia de microbiota patógena que suponga un riesgo para la salud del consumidor (siendo éste uno de los objetivos más importantes en microbiología alimentaria) y establecer en qué momento se producen fenómenos de alteración en los distintos alimentos, con el fin de delimitar su período de conservación (Pascual-Anderson & Calderón y Pascual, 2000).

La calidad microbiológica de los productos deshidratados depende fundamentalmente de la contaminación inicial proveniente del material fresco, del método de deshidratación y de las condiciones operativas empleadas, así como también de los tratamientos especiales efectuados en el producto antes y después del secado (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

Para prolongar la vida postcosecha de los productos hortofrutícolas se han implementado diferentes tecnologías, entre ellas el almacenamiento a bajas temperaturas, la utilización de empaques plásticos para crear atmósferas modificadas, la aplicación de tratamientos hidrotérmicos, irradiación y formulaciones que contienen agentes biológicos, entre otras.



Todas ellas a su vez ejercen cierto control en la incidencia de microorganismos patógenos. Se ha reportado que durante el manejo postcosecha de los productos vegetales se pueden estimar pérdidas hasta del 40% del total cosechado, éstas varían entre productos, áreas de producción y época del año. Entre las principales razones que generan estas pérdidas se encuentra la incidencia de enfermedades causadas principalmente por hongos de diversos géneros (Ramos-García, y otros, 2010).

1.8.1. Bacterias

Por otro lado, los productos contaminados por bacterias tales como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*, pueden causar enfermedades graves a los humanos ocasionando hasta la muerte si no son tratados a tiempo. En relación a las bacterias, éstas pueden contaminar el producto durante la etapa precosecha principalmente por aguas contaminadas o durante la manipulación de los productos hortícolas (Ramos-García, y otros, 2010).

1.8.2. Hongos

Pertenecen al reino fungi, su método para la adquisición de alimentos es por absorción, características relevantes esporas sexuales y asexuales. Todos los hongos son quimioheterótrofos, es decir que necesitan compuestos orgánicos como fuente de energía y de carbono. Los hongos son aerobios o anaerobios facultativos; solo se conocen algunos hongos anaerobios (Gerard, Berdell, & Funke, 2007).

Generalmente, en el caso de los hongos, éstos no aparecen durante el crecimiento de las plantas, en algunos casos permanecen en estado latente hasta la maduración del producto hortícola y otros se adquieren durante la cosecha, el transporte y/o el manejo del producto (Gerard, Berdell, & Funke, 2007).

Entre sus características más importantes están:

- Poseen una pared celular rígida que contiene quitina, glucano, manano y otros polisacáridos.
- La membrana plasmática es rica en esteroides.



- Su citoplasma presenta organelos (mitocondrias, retículo endoplasmático, etc) y además existe flujo citoplasmático.
- Poseen núcleo verdadero (núcleo rodeado de membrana nuclear) y contiene varios pares de cromosomas (los filamentos de ADN están unidos por puentes histonas y proteínas).
- Se cultivan sólo en medios ácidos, donde se desarrollan lentamente ya sea en forma de levaduras o de filamentos (hifas y/o micelios).

El término moho se utiliza para los hongos pequeños, filamentosos, multinucleados y, en ciertos casos, pluricelulares. Muchos de ellos se reconocen en la apariencia algodonosa del micelio vegetativo (Castillo & Andino-Rugama, 2010).

Fisiológicamente, los mohos se adaptan a condiciones más severas que los otros microorganismos. Por ejemplo los mohos se desarrollan en sustratos con concentraciones de azúcares que las bacterias no pueden tolerar, ya que los mohos no son tan sensibles a la presión osmótica elevada. Los mohos toleran y se desarrollan en concentraciones de acidez relativamente elevadas. Soportan escalas de pH entre 2 a 9.0, pero el pH óptimo para casi todas las especies es de 5 - 6. En la tabla 4 se muestra el rango de temperatura, pH y gases que requieren los mohos (Castillo & Andino-Rugama, 2010).

Tabla 4. Requerimientos fisiológicos y nutricionales de mohos.

Parámetro	Mohos
pH óptimo	5.6
Temperatura óptima	22 – 30° C
Gases	Aerobios estrictos
Luz	Ninguna
Concentración de azúcares en el medio	4%
Carbono	Heterotróficos

Fuente: (Castillo & Andino-Rugama, 2010)

Casi todos los mohos son estrictamente aerobios, su crecimiento lo incrementa la presencia de abundante O₂, se desarrollan en condiciones de temperaturas muy variadas, pero entre 22 a 30° C es la óptima para la mayor parte de las especies. Los hongos filamentosos aislados de las hortalizas con más frecuencia son *Aureobasidium*, *Fusarium*,



Alternaria, *Epicoccum*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Phoma*, *Chaetomium* y en menor proporción *Aspergillus*, *Acremonium*, *Botrytis*, *Cladosporium*.

El chile seco en el norte centro de México es afectado en postcosecha principalmente por el hongo *Alternaria spp* y en menor grado por *Fusarium spp*, *Verticillium spp* y *Rhizotocnia spp*. Otros hongos que también lo llegan a afectar son *Helminthosporium spp*, *Penicillium spp*, *Rhizopus spp* y *Stemphyllium spp* (Bravo-Lozano, Galindo-González, & Amador-Ramírez, 2006).

1.8.3. Levaduras

Las levaduras son hongos que forman sobre los medios de cultivo colonias pastosas, constituidas en su mayor parte por células aisladas que suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoideas o alargadas. Su forma es una de las características más relevantes para distinguirlas. Unas pocas presentan hifas. Las dimensiones pueden oscilar de 1 a 9 μm de ancho y 2 a más de 20 μm de longitud según la especie, nutrición, edad y otros factores (Carrillo, 2003).

Las levaduras pertenecen a dos clases de hongos: ascomicetos o basidiomicetos, aunque muchas de ellas se presentan comúnmente en la forma imperfecta. Las levaduras ascomicéticas forman ascas libres, con 1 a 8 ascosporas, y en las especies hifales las ascas están desnudas. Las ascosporas de las levaduras son algo más resistentes al calor y la desecación que las células vegetativas, si bien tienen mucha menor resistencia térmica que las esporas bacterianas, por lo que mantienen la viabilidad de la especie durante los cambios adversos del medio ambiente (Carrillo, 2003).

1.8.4. Requerimientos para el crecimiento microbiano

La conservación de los alimentos es un proceso que aprovecha los factores físicos y químicos para el control del crecimiento bacteriano en calidad de parámetros intrínsecos y extrínsecos que se tienen en cuenta para desarrollar tratamientos que previenen o inhiben la presencia y la reproducción microbiana (Jay, 2009).

Los parámetros intrínsecos son predominantemente químicos e incluyen la concentración y disponibilidad de nutrientes, concentración de iones hidrógeno (pH), potencial de óxido-



reducción (Eh), estructura del alimento, agentes antimicrobianos presentes y contenido de humedad. Los parámetros extrínsecos de los alimentos son aquellas peculiaridades del ambiente donde se almacenan, que influyen tanto en los alimentos como en los microorganismos que aquellos contienen. Los que tienen una importancia máxima para el desarrollo de los microorganismos presentes en los alimentos son: la temperatura de almacenamiento, la humedad relativa del ambiente, la presencia y concentración de gases en el ambiente, y presencia y actividades de otros microorganismos (Jay, 2009).

a) Factores Intrínsecos

Se refieren a las características físico-químicas de los alimentos. Determinan lo que se denomina “resistencia a la colonización de un alimento”.

✚ Concentración de iones hidrógeno (pH)

Cada microorganismo tiene un pH mínimo, un pH óptimo y un pH máximo de crecimiento. A las células microbianas les afecta de forma importante el pH de los alimentos, ya que, al parecer, carecen de un mecanismo que regule su pH interno. En general, las levaduras y los mohos toleran mejor la acidez que las bacterias. El pH intrínseco de los alimentos es diferente en cada uno de ellos, aunque la mayoría tienen un pH neutro o ácido. Los alimentos cuyo pH es bajo (valores inferiores a 4.5) no son alterados fácilmente por las bacterias, siendo más sensibles a la alteración por levaduras y mohos. Todo alimento que tenga un pH intrínsecamente bajo tendería por ello a ser más estable, desde el punto de vista microbiológico, que un alimento neutro. La extraordinaria facilidad con que se conservan los alimentos que a continuación se citan, está relacionada con su bajo pH: las frutas, las bebidas refrescantes, las leches fermentadas, el sauerkraut (col agria en alemán) y los encurtidos (Frazier & Westhoff, 1993).

Los mohos son capaces de crecer dentro de una escala de valores de pH más amplia que la correspondiente a la mayoría de las levaduras y bacterias, y algunos crecen a valores de pH excesivamente ácidos tanto para las levaduras como para las bacterias. El crecimiento de la mayoría de las levaduras fermentativas es estimulado por un pH de aproximadamente 4.0 a 4.5 (ej. zumos de frutas), mientras que las levaduras formadoras de película crecen bien en alimentos ácidos (sauerkraut y los encurtidos). Por otra parte, la mayoría de las levaduras no crecen bien en sustratos básicos, y de aquí que para crecer en ellos deban adaptarse a este tipo de medios. El crecimiento de la mayoría de las bacterias es estimulado por un pH próximo a la neutralidad, aunque algunas, como por



ejemplo las acidificantes, son estimuladas por un grado de acidez medio, mientras que otras, como por ejemplo las bacterias con actividad proteolítica, son capaces de crecer en medios de pH elevado (básico), como las que se encuentran en la clara de los huevos almacenados (Frazier & Westhoff, 1993).

En general, la mayor parte de los microorganismos crecen a pHs cercanos a la neutralidad (desde 6.6 a 7.5). Pocos se pueden desarrollar a pHs por debajo de 4.0.

Los ácidos cítricos, clorhídrico, fosfórico, y tartárico, permiten el desarrollo a pHs menores que los ácidos acético o láctico. A la propiedad inhibidora de algunos ácidos orgánicos, entre lo que se incluyen los ácidos acético, benzoico, chico, láctico, propiónico y sórbico, se debe que sean los más utilizados como acidulantes o como conservadores de alimentos (Frazier & Westhoff, 1993).

Las frutas por lo general solo se alteran por mohos y levaduras como consecuencia de la capacidad de estos microorganismos de desarrollarse a valores de pH menores a 3.5. La mayor parte de las hortalizas presentan pHs mayores que los de las frutas, y en consecuencia, las primeras son más fáciles de alterar por bacterias que las frutas (Jay, 2009).

El pH afecta no sólo al crecimiento microbiano en los alimentos también a su tasa de supervivencia durante el almacenamiento y los diversos tratamientos de conservación (Castillo & Andino-Rugama, 2010).

Actividad de agua (Aw)

Uno de los métodos más antiguos para conservar los alimentos es la deshidratación o desecación. Esto quiere decir que se elimina agua o se fija y así le es imposible a los microorganismos desarrollarse (Jay, 2009).

La demanda de agua para el crecimiento de los microorganismos es variable. Se expresa de forma más apropiada como agua disponible o actividad agua (Aw), que se define como la presión de vapor de la solución (de sustancias disueltas en agua en la mayoría de los alimentos), dividida por la presión de vapor del disolvente a la misma temperatura (generalmente agua) (ecuación 1).

$$A_w = \frac{P}{P_0} = \frac{\text{Presión de vapor de la solución}}{\text{Presión de vapor del solvente}}$$

Ecuación 1. Ecuación de la actividad de agua.



La ecuación que relaciona la A_w con la humedad relativa (H_R) es:

$$H_R = 100 \times A_w \quad (\text{Ecuación 2})$$

Una humedad relativa en la atmósfera que rodea al alimento correspondiente a una A_w inferior a la del alimento, tendería a desecar la superficie de éste; por el contrario, si la humedad relativa tuviese un valor más elevado que la correspondiente a la A_w del alimento, ésta aumentaría en la superficie del alimento en cuestión (Frazier & Westhoff, 1993).

La actividad de agua del agua pura es de 1.00 a 0°C, la actividad de agua de la mayor parte de los alimentos frescos se sitúa por encima de 0.99. Ésta puede reducirse aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa de los alimentos mediante la extracción de agua o mediante la adición de solutos (Jay, 2009).

La mayor parte de las bacterias crecen bien en medios con una actividad de agua próxima a 1.00 aunque se desarrollan mejor a concentraciones bajas de sal o azúcar. La actividad de agua óptima y mínima varía en función de bacterias, alimentos, temperatura, pH, presencia de oxígeno, dióxido de carbono y sustancias inhibidoras. La actividad de agua mínima para la germinación de esporas es en algunos mohos de 0.62 mientras que para otros es de 0.93. Ejemplo de A_w óptimas: 0.98 *Aspergillus*; 0.995-0.98 *Rhizopus*; 0.9935 *Penicillium* (Jay, 2009).

Una actividad de agua menor a 0.70 es suficiente para inhibir a la mayoría de mohos productores de alteraciones alimentarias. A menos de 0.62 cesan todas las posibilidades de crecimiento de mohos. Actividad de agua por debajo de la óptima retrasa la germinación de esporas y reduce la velocidad por crecimiento.

Los valores mínimos de la actividad de agua compatibles con el crecimiento de los microorganismos productores de alteraciones se muestran en la tabla 5.

La actividad de agua depende de la disponibilidad de ésta en el medio ambiente y de la concentración de solutos presentes en ella. Por lo que se relaciona con las concentraciones de NaCl (Castillo & Andino-Rugama, 2010).



Tabla 5. Valores de actividad de agua para diferentes microorganismos.

Clase de microorganismo	Actividad de agua (Aw)
Bacterias	0.91-0.98
Levaduras	0.88-0.98
Mohos	0.80-0.98
Bacterias halofílicas	0.75
Hongos xerófilos	0.65-0.80
Levaduras osmofílicas	0.60

Fuente: (Jay, 2009)

🔗 Potencial de óxido-reducción (redox)

Se refiere a la facilidad con la que un sustrato pierde o gana electrones (e^-). Cuando los pierde (e^-), el sustrato se oxida; y si el sustrato gana e^- se reduce.

La tensión de oxígeno o presión parcial del oxígeno en torno a un alimento y el potencial de óxido-reducción (O-R) o poder oxidante y reductor del alimento tienen influencia en la clase de microorganismo que en él se desarrollan, y los cambios ocurren.

El potencial de O-R de un alimento depende de:

- El potencial O-R característica del alimento en su estado original.
- La capacidad de equilibrio del alimento, es decir, su resistencia a cambiar el potencial.
- La tensión de oxígeno de la atmósfera que rodea al alimento.
- El acceso de la atmósfera del alimento.

Desde el punto de vista de su capacidad para utilizar el oxígeno libre, los microorganismos se han clasificado en *aerobios* cuando necesitan oxígeno libre, *anaerobios* cuando crecen mejor en ausencia de oxígeno libre, y *facultativos* cuando crecen bien tanto en aerobiosis como en anaerobiosis. Los mohos son aerobios, la mayoría de las levaduras crecen mejor en aerobiosis, mientras que las bacterias de las diferentes especies pueden ser aerobias, anaerobias o facultativas (Frazier, & Westhoff, 1993; Jay, 2009).

Con respecto al potencial óxido-reducción, cuando los potenciales son elevados (oxidantes) favorecen el crecimiento de los aerobios pero permiten también el desarrollo



de los microorganismos facultativos. Los potenciales bajos (reductores) facilitan el crecimiento de los gérmenes anaerobios y facultativos (Carrillo, 2003).

Como notación escrita del potencial de O-R de un sistema se suele utilizar Eh, midiéndose y expresándose en milivoltios (mV). Un sustrato fuerte (oxidado) tendrá un Eh+, el reducido será Eh-. Los microorganismos aerobios, entre los que se incluyen los bacilos, los micrococcos, las *Pseudomonas* y los *Acinetobacters*, necesitan valores de Eh positivos, o, lo que es lo mismo, potenciales de O-R positivos, expresados en mV. Por el contrario, los anaerobios, entre los que se incluyen los clostridios y los bacteroides necesitan valores de Eh negativos, o potenciales de O-R negativos, expresados en mV (Frazier & Westhoff, 1993).

Nutrientes

El mayor o menor contenido en proteínas, en azúcares y otros nutrientes va a determinar cuál es el tipo de microorganismos capaz de crecer en el alimento. La presencia de vitaminas, aminoácidos, etc. va a permitir el crecimiento de algunos microorganismos más exigentes a nivel nutricional. De manera general los hongos constituyen el grupo de microorganismos nutricionalmente menos exigentes, seguido de las levaduras y estas de las bacterias (Castillo & Andino-Rugama, 2010).

Los microorganismos relevantes en los alimentos necesitan las siguientes sustancias para multiplicarse y desarrollar sus actividades con normalidad: agua, una fuente de energía, fuente de nitrógeno, minerales, vitaminas y factores de crecimiento relacionados.

El agua ya se ha discutido anteriormente. En relación con los otros factores los mohos son los que tienen menos necesidades, seguidos por las bacterias Gram negativas, levaduras y bacterias Gram positivas.

Los microorganismos relevantes en los alimentos pueden utilizar azúcares, alcoholes y aminoácidos como fuente de energía. Los microorganismos también pueden utilizar las grasas como fuente de energía pero solo pueden aprovecharse de estas sustancias un número limitado de los que crecen en los alimentos. La fuente primaria de nitrógeno para los organismos heterótrofos son los aminoácidos (Castillo & Andino-Rugama, 2010).

En términos generales, las bacterias Gram positivas son las que tienen menos capacidad de síntesis de vitaminas, y por consiguiente, necesitan un aporte de una o más de tales sustancias para poder iniciar su multiplicación. En cambio las bacterias Gram negativas y



los mohos son capaces de sintetizar casi todas las vitaminas que van a necesitar para su multiplicación (no es difícil encontrarlos en alimentos pobres en vitamina B).

Las frutas suelen contener menos vitamina B que las carnes y este hecho, junto a su característico bajo pH y su potencial Eh positivo, hace que la causa más habitual de la alteración de estos alimentos radique en el desarrollo de mohos en vez de bacterias (Jay, 2009).

Estructuras biológicas

Las cubiertas naturales de algunos alimentos dotan un excelente sistema protector frente a la entrada y al posible daño que pudieran causarles los agentes alterantes, como por ejemplo, la piel de las frutas, cáscara de frutos secos, piel de animales, etc.

Estos parámetros intrínsecos representan la vía natural de conservación de los tejidos animales y vegetales frente a la alteración microbiana. Si se analiza la importancia, los intervalos de cada uno y se asocian después a un alimento dado, puede predecirse el tipo de microorganismo que se podría desarrollar con mayor probabilidad, y consecuentemente, la estabilidad del alimento. También se puede incluir en el análisis el tiempo que transcurrió desde la recolección u obtención y el manejo, es decir, la historia del producto (Carrillo, 2003).

b) Factores Extrínsecos

Se refieren a las condiciones de almacenaje de los alimentos y a las condiciones ambientales.

Temperatura

Probablemente la temperatura es el más importante de los factores ambientales que afectan a la viabilidad y el desarrollo microbianos. La utilización de temperatura inadecuada durante el procesado de los alimentos se apunta como la principal causa de toxiinfecciones.

El crecimiento microbiano es posible entre alrededor de -8 y hasta 90°C, el rango de temperatura que permite el desarrollo de un determinado microorganismo rara vez supera los 35°C (Gerard, Berdell, & Funke, 2007).



Cualquier temperatura superior a la máxima de crecimiento de un determinado microorganismo resulta fatal para el mismo, y cuanto más elevada es la temperatura en cuestión tanto más rápida es la pérdida de viabilidad. Sin embargo, la letalidad de cualquier exposición a una determinada temperatura por encima de la máxima de crecimiento depende de la termorresistencia que es una característica fundamental del microorganismo considerado (ITESCAM, 2013).

Siempre se debe tener en cuenta a la relación temperatura-tiempo. Las células vegetativas de los gérmenes esporulados, al igual que las levaduras y los hongos, no son más termorresistentes que las bacterias vegetativas. Los microorganismos sobreviven a temperaturas inferiores a la mínima de crecimiento. Los efectos letales de la refrigeración y la congelación dependen del germen considerado, del microambiente y de las condiciones de tiempo y temperatura de almacenamiento. Algunos microorganismos permanecen viables durante largos periodos de tiempo si se mantienen congelados a temperaturas suficientemente bajas (ITESCAM, 2013).

Hay que conocer el intervalo de temperatura en que se desarrollan los microorganismos para elegir la temperatura más adecuada para el almacenamiento de los productos alimenticios.

Los microorganismos se clasifican en tres categorías de acuerdo a sus necesidades de temperatura para poder multiplicarse: psicrótrofos que crecen a temperaturas bajas, mesófilos que se desarrollan a la temperatura corporal, termófilos se desarrollan a altas temperaturas y psicrófilos. En la tabla 6 que se presenta a continuación se muestran los rangos de temperatura que requieren estos microorganismos para desarrollarse (Jay, 2009).

Tabla 6. Temperaturas a las que se desarrollan los microorganismos.

Tipo de microorganismo	Temperatura mínima (°C)	Temperatura óptima (°C)	Temperatura máxima (°C)
Psicrótrofos	<7	20-30	30-35
Mesófilos	20	30-40	45
Termófilos	40-45	55-65	60-90
Psicrófilos	-5,+5	12-15	15-20

Fuente: (Jay, 2009)



Los psicrótrofos que con mayor frecuencia se detectan en los alimentos pertenecen a los géneros *Pseudomonas* y *Enterococcus*.

Los psicrótrofos se desarrollan sin problemas a temperaturas de refrigeración y pueden causar la alteración de carnes, pescados, huevos y otros alimentos que por lo general han de mantenerse a estas temperaturas.

Los mesófilos pueden detectarse en todos los alimentos mantenidos a temperatura de refrigeración. Aparentemente, estos microorganismos no crecen en tales condiciones, pero si lo harán a temperaturas de este rango si otras condiciones son adecuadas. Hay microorganismos que crecen en un amplio rango de temperaturas que van de 0 a 40°C como la *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*. La mayor parte de las bacterias termófilas relevantes en los alimentos pertenecen a los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Geobacillus*, etc., importantes en la industria del enlatado (Jay, 2009).

Humedad relativa del ambiente.

La humedad relativa es la humedad del medio ambiente, rodea al alimento, está presente en el medio y busca un equilibrio con el alimento. Su interacción con la actividad de agua se representa por la ecuación 2 descrita anteriormente.

La humedad relativa es importante desde dos puntos de vista: La actividad de agua del interior del alimento y el posible crecimiento de los microorganismos en la superficie del producto.

Si la actividad de agua ha alcanzado un valor de 0.60 es de gran importancia que la humedad relativa del entorno en el que se almacene no permita que el alimento capte humedad del aire que lo rodea, incrementándose, por consiguiente, el contenido en agua de su superficie y su actividad de agua y la de zonas más internas hasta un grado que quizás ya consienta el desarrollo de los microorganismos (Jay, 2009).

Si un alimento tiene baja actividad de agua y se localiza en un ambiente de humedad relativa elevada, el producto capta agua hasta que se establece un equilibrio, y pasa igual si la actividad de agua es alta y la humedad relativa es escasa, la actividad de agua disminuirá.

Una alta humedad relativa durante el almacenamiento minimiza la transpiración y la pérdida de agua de los productos; también ayuda en algunos productos a mantener su



vigor y retardar la senescencia. Sin embargo una alta humedad relativa en el almacenamiento de los chiles puede ocasionar condensación, crecimiento de hongos en las superficies, crecimiento de raíces, piel agrietada, mayor deterioro, etc. provocando la descomposición de los chiles y afectando la calidad de los mismos (Mojica-Marín, y otros, 2009).

✚ Presencia y concentración de gases en la atmósfera

Influencia del CO₂

El almacenamiento de los alimentos en atmósferas gaseosas (como las de CO₂) en cantidades previamente establecidas se denomina "atmósferas controladas". Este método se utiliza para frutas (manzanas y peras) retardando el pudrimiento por los hongos filamentosos.

Este efecto es debido, probablemente, a la inhibición del etileno por el gas carbónico. El etileno actúa en las frutas como un factor de aceleración de la maduración. La concentración de CO₂ no debe exceder del 10%. Se han usado atmósferas de gas carbónico para aumentar el tiempo de almacenamiento de carnes. Las bacterias Gram-negativas son más sensibles al CO₂ que las Gram-positivas. Las atmósferas con CO₂ y O₂ juntos han sido más eficaces que aquellas con gas carbónico solo (Jay, 2009).

Influencia del O₃ (Ozono)

Algunos vegetales, sobre todo las frutas, se conservan en atmósferas con O₃, entre 2 y 3 ppm. Este tipo de atmósfera no es recomendado para alimentos con cantidad elevada de lípidos, puesto que el ozono aceleraría la oxidación. El ozono y el gas carbónico son eficaces retrasar las alteraciones en la superficie de carnes almacenadas por un tiempo largo (Jay, 2009).

✚ Presencia y actividades de otros microorganismos

Algunos microorganismos típicos de los alimentos producen ciertas sustancias que inhiben o eliminan a otros. Por ejemplo, antibióticos, bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos (Jay, 2009).



Metodología Experimental



2. OBJETIVOS

- **Objetivo General.**

Evaluar un recubrimiento de quitosán en chile seco mulato y pasilla bajo diferentes condiciones de almacenamiento que permitan reducir la actividad microbiológica por efecto fungicida.

- **Objetivos Particulares.**

- Objetivo Particular 1.**

Evaluar la capacidad antifúngica de un recubrimiento de quitosán en chile seco mulato y pasilla a 2 concentraciones (0.5 y 1.0%) a través de la evaluación microbiológica para encontrar la concentración adecuada.

- Objetivo Particular 2.**

Determinar la influencia de la temperatura (10, 25, 35°C) y humedad relativa (75, 80, 84%) sobre la actividad microbiológica en chiles secos (mulato y pasilla) recubiertos con quitosán a la concentración seleccionada.

- **Hipótesis Alternativa (H_1).**

Si se le aplica un recubrimiento de quitosán al 1% a los chiles secos mulato y pasilla a una temperatura de 25°C y humedad de 80%, entonces no habrá aparición de hongos y levaduras.

- **Hipótesis Nula (H_0).**

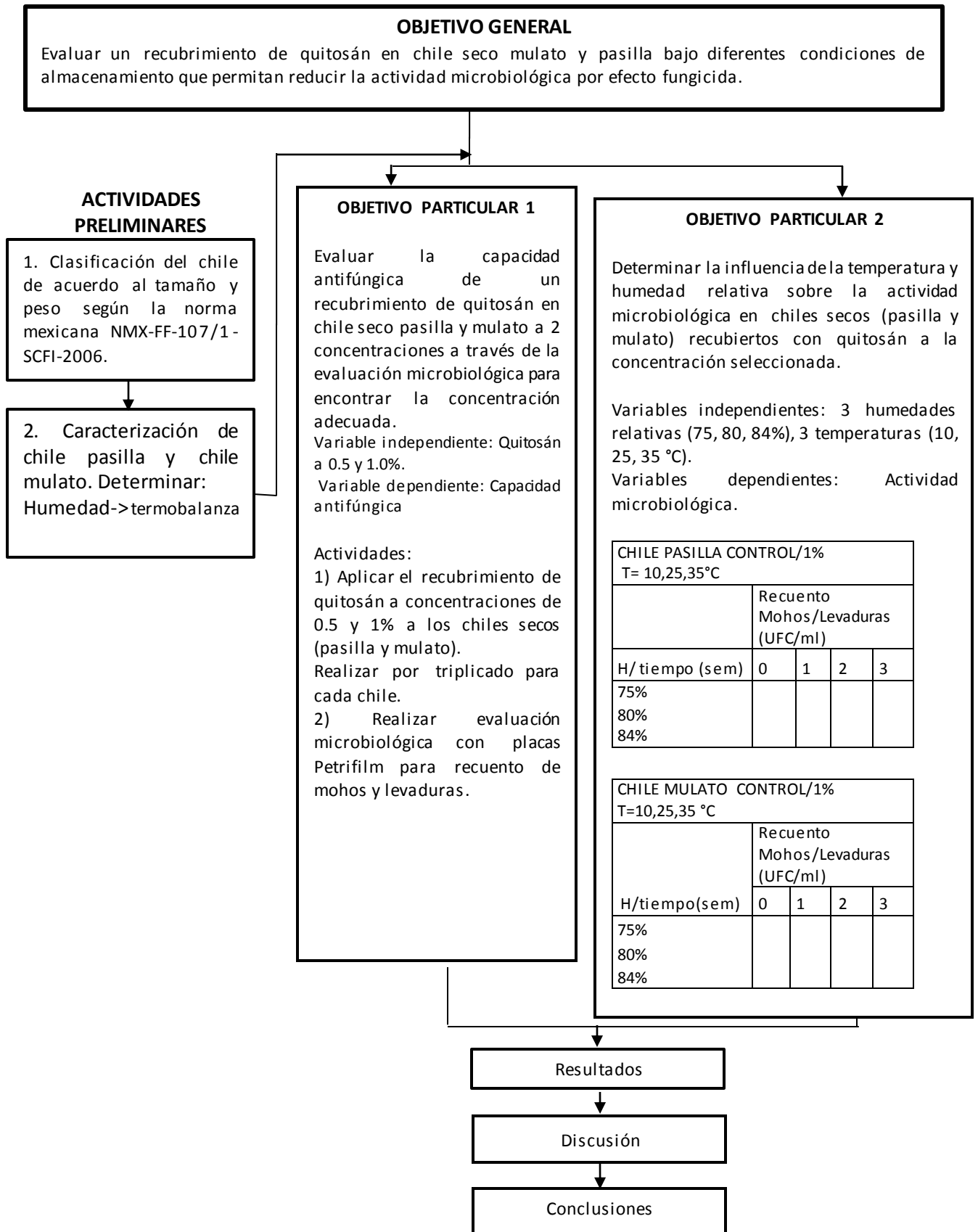
El recubrimiento no influye en la aparición de mohos y levaduras.

La hipótesis nula se contrastará con los resultados obtenidos para determinar si es falsa o verdadera.

A continuación se presenta el cuadro metodológico con la secuencia de actividades para cada experimento.



2.1. Cuadro Metodológico.





2.2. Materiales y Métodos.

2.2.1. Materia Prima

Se utilizaron chiles secos mulato y pasilla (*Capsicum annuum*), los cuales se obtuvieron de un mercado local de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Los frutos fueron transportados al laboratorio de biotecnología en el edificio de Posgrado de la FES-Cuautitlán, UNAM. Para el estudio se seleccionaron los chiles descartando visualmente los frutos con daños físicos.

2.2.2. Actividades Preliminares.

2.2.2.1. Tamaño de muestra para clasificación de tamaño y peso.

Para las especificaciones del tamaño de muestra a evaluar para la clasificación de tamaño y peso se empleó el sistema de muestreo contemplado en la Norma Mexicana NMX-Z-12/1-1987 y NMX-Z-12/2-1987. Muestreo para la inspección por atributos: Parte 1- Información general y aplicaciones, y parte 2-Métodos de muestreo, tablas y gráficas; esta norma señala que a partir de un lote, conjunto de unidades de producto del cual se toma la muestra para su inspección, se selecciona una muestra representativa aleatoriamente (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

Formación de lotes o partidas. El producto debe agruparse en lotes, sublotes o partidas identificables o de cualquier otra forma que se especifique. En lo posible cada lote o partida debe estar constituido por unidades de producto de un sólo tipo, grado clase, tamaño y composición, fabricados esencialmente bajo las mismas condiciones y en el mismo período (NMX-Z-12-2-, 1987).

El método propuesto para la calidad de lote es el muestreo simple aleatorio, donde todas las posibles muestras del tamaño requerido tienen igual probabilidad de ser la muestra extraída (FAO/OMS, 2008).

En la tabla 7 se identifican distintos tamaños de lotes:



Tabla 7. Tamaños de lote para envasado.

Tamaño de Lote (envasado)
1-100
101-400
401-600
601-1000
1001-1400
1401-1800
1801-2200
2201-2600
2601-3000
3001 en adelante

Fuente: (FAO/OMS, 2008)

Para este estudio se contó con un lote de 270 chiles, por lo tanto para obtener el tamaño de la muestra e identificar propiedades como el peso se utilizó la siguiente ecuación:

$$n = \frac{N z_{\alpha}^2 s^2}{d^2 (N-1) + z_{\alpha}^2 s^2}$$

(Ecuación 3)

Donde:

n =Tamaño de la muestra

N = Tamaño de la Población

Z = Valor de Z crítico, nivel de confianza.

S² = Una estimación de la varianza de la distribución de la variable cuantitativa que se supone que existe en la población. Esta se obtiene de estudios previos (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

d = es la precisión con que se generalizará el estudio para un nivel de confianza de 95%.

En la tabla 8 se presenta el valor de las variables descritas anteriormente, que se ocuparon para sustituir en la ecuación 3 y obtener el tamaño de la muestra.



Tabla 8. Valor de las variables que se ocuparon para obtener el tamaño de la muestra.

Variables	Valor
Tamaño Lote (N)	270
Z (95% de seguridad)	1.96
S ²	3.5
d	1.5

Sustituyendo:

$$n = \frac{(270)(1.96)^2(3.5)^2}{1.5^2(270 - 1) + (1.96)^2(3.5)^2}$$

n = 19.47 por lo tanto se utilizó un tamaño de muestra de 20 chiles.

2.2.2.2. Clasificación del chile de acuerdo al tamaño y peso.

La clasificación se hizo con base en la norma mexicana NMX-FF-107/1-SCFI-2006: Productos Alimenticios-chiles secos enteros (guajillo, ancho, mulato, de árbol, puya y pasilla)- Parte I- especificaciones y métodos de prueba, que establece las condiciones y características de calidad que deben cumplir los chiles secos destinados para el consumo humano, que se comercializan en el territorio nacional.

La clasificación por tamaño de los chiles se determinó con base a su longitud, ancho y peso. La tabla 9 muestra la calidad requerida por la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006 con respecto a estas características.

Tabla 9. Clasificación de tamaño y peso por tipo de chile seco entero.

TIPO	CALIDAD	TAMAÑO		PESO (g)
		Longitud (cm)	Ancho (cm)	
MULATO	EXTRA	>10	>7	>17
	PRIMERA	7 -10	5-7	14 - 17
	SEGUNDA	<7	< 5	<14
PASILLA	EXTRA o FLOR	>20		>7,5
	PRIMERA	14-20	>3	>7,5
	SEGUNDA	<14	2-3	<7,5

Fuente: (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).



Con la muestra representativa de 20 unidades se realizó la caracterización de los chiles mulato y pasilla para conocer la calidad del producto.

- Preparación de la muestra: La clasificación se realizó después de haber limpiado los chiles quitándoles basuras y materia extraña como patas de araña, telarañas y polvo a cada variedad.

El chile se pesó y después se colocó en una superficie horizontal plana para medirlo. Con un calibrador vernier, graduado en milímetros, se tomó la medida de la longitud, expresándola en centímetros. La medición del largo se realizó de la base al ápice del fruto sin considerar el pedúnculo. El ancho se midió en la parte de mayor amplitud del fruto (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006).

2.2.2.3. Caracterización del chile seco mulato y pasilla de acuerdo a la humedad.

El porcentaje de humedad en los chiles mulato y pasilla se determinó utilizando una termobalanza XM50 (Precisa®). El equipo consiste en una balanza electrónica y un módulo calefactor, la balanza se encarga de medir el peso de la muestra orgánica mientras se le aplica calor (115°C) para evaporar el agua que contiene. El cálculo de la humedad se determina por la pérdida de peso que sufre la muestra después de ser sometida al proceso de calentamiento (Precisa, 2015). La humedad obtenida se comparó con la humedad que se establece por norma. Se utilizó 1.0 gramo de muestra para cada evento. La determinación de humedad se realizó por triplicado.

2.2.3. Capacidad antifúngica del quitosán (OP 1).

Evaluar la capacidad antifúngica de un recubrimiento de quitosán en chile seco mulato y pasilla a 2 concentraciones a través de la evaluación microbiológica para encontrar la concentración adecuada.

Actividades:

- 1) Elaborar y aplicar los recubrimientos de quitosán a concentraciones de 0.5 y 1% a los chiles secos mulato y pasilla, realizar por triplicado para cada chile.
- 2) Realizar evaluación microbiológica con placas Petrifilm para recuento de mohos y levaduras cada semana de incubación por tres semanas.



2.2.3.1. *Desarrollo de recubrimientos.*

El recubrimiento de quitosán empleado fue elaborado en el laboratorio de biotecnología en el edificio de Posgrado de la FES-Cuautitlán, UNAM.

El quitosán fue obtenido a partir de exoesqueletos de camarón, tuvo un peso molecular promedio de 146.73 kDa y un grado de desacetilación de 87% (Cruz-Sánchez, 2013).

Con la finalidad de establecer la concentración adecuada de quitosán fue necesario elaborar recubrimientos con concentraciones de 0.5 y 1.0% de quitosán cuidando mantener el pH a 5 mediante solución de ácido acético (CH_3COOH) al 1%. Inicialmente se prepararon 500 mL. El quitosán se incorporó por agitación a temperatura ambiente al medio acuoso, una vez incorporado se dejó reposar durante una hora con la finalidad de que las cadenas de quitosán adsorbieran la mayor cantidad de agua.

2.2.3.2. *Aplicación del recubrimiento.*

Los recubrimientos fueron aplicados auxiliándose de una brocha sobre chiles mulato y pasilla, dejándose secar a temperatura ambiente para posteriormente envasarse en bolsas herméticas estériles. Se realizaron tres réplicas para cada variedad de chile seco.

2.2.3.3. *Pruebas microbiológicas.*

➤ Preparación de la muestra:

Inicialmente se esterilizó todo el material e instrumentos que tuvieron contacto con las muestras bajo estudio mediante autoclave durante 15 minutos a $121 \pm 1,0^\circ\text{C}$.

Los chiles se limpiaron quitándoles basuras y materia extraña como patas de araña, telarañas y polvo.

Los chiles control y recubiertos con quitosán se almacenaron a temperatura ambiente por una semana y se realizó el análisis microbiológico.

Para obtener una distribución lo más uniforme posible de los microorganismos presentes en la porción de muestra se realizó una disolución del chile entero en 10 ml de solución salina, ya que el chile debía permanecer íntegro para que los compuestos internos no influyeran en los resultados del conteo. Se tomó un mililitro de muestra para su incubación en las placas petrifilm. Las pruebas se realizaron en un ambiente estéril.



Las placas fueron incubadas cara arriba por 3 días a una temperatura de 25°C. Las levaduras deben mostrar color azul-verdoso y los mohos pueden mostrar pigmentación variable y bordes difusos.

El análisis microbiológico se realizó con paquetes de análisis microbiológico de la marca 3M, los cuales son placas Petrifilm para cuantificación de mohos y levaduras (Ver anexo 1).

2.2.4. Influencia de la temperatura y humedad relativa (OP 2).

Determinar la influencia de la temperatura y humedad relativa sobre la actividad microbiológica en chiles secos mulato y pasilla recubiertos con quitosán a la concentración seleccionada.

2.2.4.1. Desarrollo de recubrimiento y envasado de las muestras.

Se elaboró el recubrimiento de quitosán al 1% y se aplicó en los chiles mulato y pasilla siguiendo la metodología descrita en el objetivo particular 1 (ver pág. 58-desarrollo y aplicación del recubrimiento).

Como control se emplearon chiles sin tratar. Después de la aplicación del recubrimiento los chiles se dejaron secar a temperatura ambiente y se envasaron en recipientes de polipropileno (PP).

Las propiedades físicas de permeabilidad de los recipientes polipropileno (PP) a diferentes componentes se muestran en la tabla 10:

Tabla 10. Propiedades de permeabilidad del polipropileno (PP).

Propiedad	Valor	Unidades
Permeabilidad al Agua @25°C	16	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
Permeabilidad al Agua @38°C	70	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
Permeabilidad al Dióxido de Carbono @25°C	6 @30°C	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
Permeabilidad al Hidrógeno @25°C	30	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
Permeabilidad al Nitrógeno @25°C	0.3	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$
Permeabilidad al Oxígeno @25°C	1.7 @30°C	$\times 10^{-13} \text{ cm}^3 \cdot \text{cm cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$



Los envases de polipropileno contenían una solución salina sobresaturada de cloruro de sodio (NaCl), sulfato de amonio $[(NH_4)_2SO_4]$ y cloruro de potasio (KCl) para mantener una humedad relativa interna de 75, 80 y 84% respectivamente. Los recipientes cerrados se rotularon, para garantizar la hermeticidad se sellaron con papel parafilm al borde y el sistema se llevó a cámaras de temperatura controlada a 10, 25 y 35°C (figura 18 y 19) durante 3 semanas realizando análisis microbiológico cada semana.

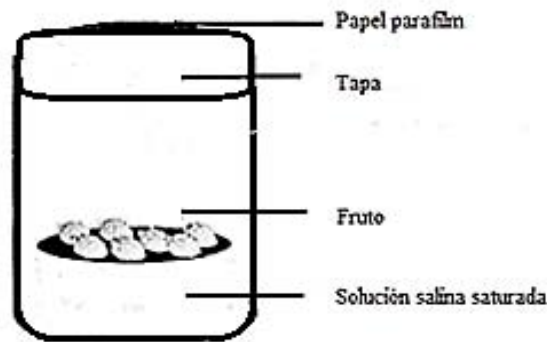


Figura 18. Esquema del recipiente utilizado para conservar la humedad interna.

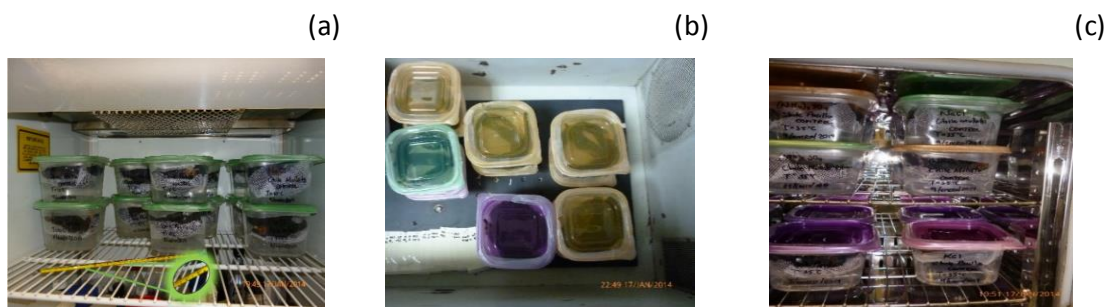


Figura 19. Almacenamiento de los chiles secos en refrigeración a 10 °C (a), 25 °C (b) y 35 °C (c).

El método de las soluciones salinas produce ambientes de humedad relativa constante a una temperatura dada (Estrada, Rodríguez, Caballero, Sarmiento, & Racedo, 2008). Para generar las humedades relativas constantes se prepararon las soluciones salinas de acuerdo a su solubilidad (figura 20).

La proporción de solución que se requería se calculó por el número de experimentos que se iban a incubar (12 por cada humedad), se prepararon soluciones saturadas y se vertieron en el recipiente correspondiente.

Nota: La solución no debía tocar la malla que sostenía los chiles ya que los chiles absorberían humedad y se propiciaría la formación de los hongos alterando el resultado del recuento.

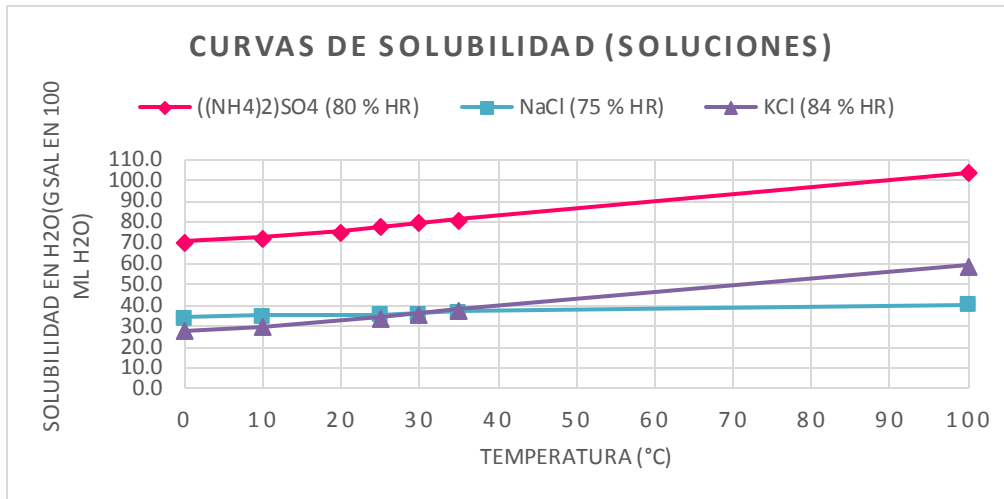


Figura 20. Curvas de solubilidad de cloruro de sodio (NaCl), sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) y cloruro de potasio (KCl).

Cada semana se realizaron análisis microbiológicos de cada condición de humedad y temperatura por duplicado con el método de las placas Petrifilm para conteo de hongos y levaduras descrito en el anexo 1 controlando el ambiente estéril en cada análisis realizado.

Con los datos obtenidos del cálculo de mohos y levaduras con las placas Petrifilm se obtuvieron los gráficos correspondientes para determinar las mejores condiciones de almacenamiento para los chiles secos mulato y pasilla.

2.2.5. Análisis Estadístico.

Para establecer la concentración de quitosán con mejor capacidad antifúngica para el recubrimiento (objetivo particular 1) se analizaron los datos mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía utilizando un intervalo de mínima diferencia significativa (ISD-5%), la comparación de medias se hizo con la prueba de Fisher utilizando el programa Minitab 17.

Para determinar la influencia de la temperatura y humedad relativa sobre la actividad microbiológica (objetivo particular 2) se les aplicó un análisis multivariante a los datos obtenidos con una significancia menor a 0.05 y su interacción se realizó por medio de un modelo lineal generalizado. El paquete estadístico utilizado fue el programa SPSS y para los gráficos obtenidos se utilizó Origin.



Resultados y Discusión



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

3.1. Actividades Preliminares.

3.1.1. Clasificación del chile de acuerdo al tamaño, peso y humedad según la norma mexicana NMX-FF-107/1-SCFI-2006.

En la figura 21 se muestran los chiles secos pasilla (a) y mulato (b) utilizados para la caracterización física de tamaño y forma.

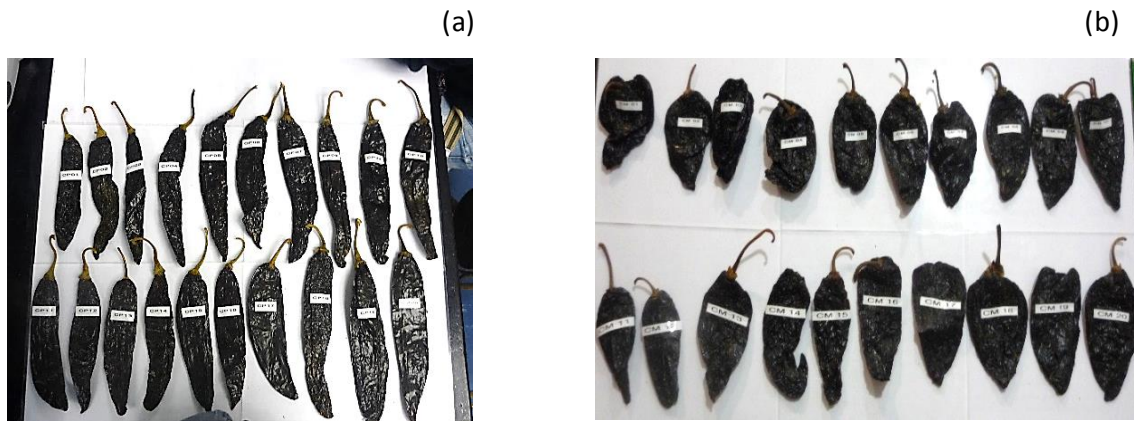


Figura 21. Caracterización física del chile pasilla (a) y del chile mulato (b).

De acuerdo a la tabla 3 que se presentó en el marco teórico, la clasificación de los chiles se determinó de acuerdo al tamaño con base en su longitud, ancho, peso y humedad. De los 20 datos de tamaño y peso que se obtuvieron se reporta la media, desviación estándar y el coeficiente de variación de los chiles pasilla y mulato (tabla 11), con los cuales se obtuvo la calidad promedio de cada variedad (figura 22).

Tabla 11. Caracterización del chile pasilla y mulato por tamaño (cm), peso (g) y humedad (%).

Variedad de chile	Tamaño		Peso (g)	Humedad (%)
	Longitud (cm)	Ancho (cm)		
Pasilla	19.445 ± 2.05	4.295 ± 0.56	10.32 ± 3.29	10.587 ± 1.040
C.V.	0.105	0.131	0.319	0.098
Mulato	12.465 ± 1.23	7.71 ± 1.10	16.82 ± 3.76	11.107 ± 0.366
C.V.	0.098	0.143	0.224	0.033



El porcentaje de las diferentes calidades de los chiles que se encontraron según la NMX-FF-107/1-SCFI-2006 se presentan en la figura 22 (a) y (b).

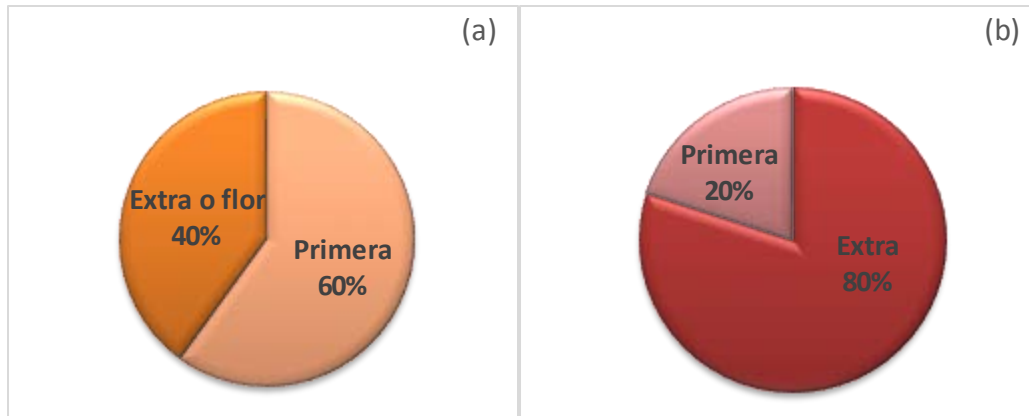


Figura 22. Porcentajes de la calidad obtenida para chile pasilla (a) y chiles mulato (b).

De acuerdo a los resultados obtenidos con respecto al chile pasilla se obtuvo 60% de primera calidad y 40% de calidad extra o flor, mientras que para el chile mulato se obtuvo 20% de primera calidad y 80% de calidad extra. No se encontraron calidades inferiores, algunos presentaron defectos menores como manchas ligeras o deformaciones ligeras, por lo que entran en los límites de tolerancia permitidos por la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006. Los chiles secos se venden en el mismo lote de diferentes calidades y eso tiene una relación directa con la formación de mohos y levaduras por lo que se espera que al ser chiles de calidades extra o de primera calidad la formación de mohos y levaduras sea menor con respecto a chiles de calidades inferiores.

La humedad promedio obtenida de las pruebas realizadas muestra que los chiles secos analizados cumplen con la humedad máxima permitida que dictamina la norma NMX-FF-107/1-SCFI-2006, ya que el chile pasilla presentó una humedad media de 10.6% y el valor máximo que estipula la norma es de 13.5% y los chiles mulato mostraron un contenido promedio de 11.1% de humedad y el valor máximo en la norma es de 12.5%.

La humedad en los chiles se tiene que controlar ya que es un factor crítico para disminuir riesgos de contaminación por microbiota, proliferación de micotoxinas. El hecho de conocer este contenido es de gran importancia y poder modificarlo tiene aplicaciones inmediatas: saber cuál es la composición del producto, controlar las materias primas en la industria y facilitar su elaboración, prolongar su conservación impidiendo el desarrollo de microorganismos, mantener su textura y consistencia, frenar los intentos de fraude y adulteración si el producto no cumple los límites fijados por la normativa vigente, etc.,



como lo menciona Cruz-Sánchez, 2013 que realizó una investigación con respecto a este tema en el que también concluyó que la humedad es un factor muy importante en un chile de buena calidad.

3.2. Capacidad antifúngica del quitosán (OP 1).

Para evaluar la capacidad antifúngica de las dos concentraciones de quitosán (0.5 y 1%) se realizó el conteo en placa de mohos y levaduras y se compararon el chile control (sin recubrimiento) y el chile con recubrimiento.

Los resultados fueron los siguientes:

Las levaduras aparecieron pequeñas, azul-verdosas (figura 23), con bordes definidos (encerradas en círculo verde). Los mohos (círculo anaranjado) resultaron grandes (pigmentación variable), con bordes difusos y foco en el centro. Se reportan como unidades formadoras de colonia por mililitro (UFC/ml).

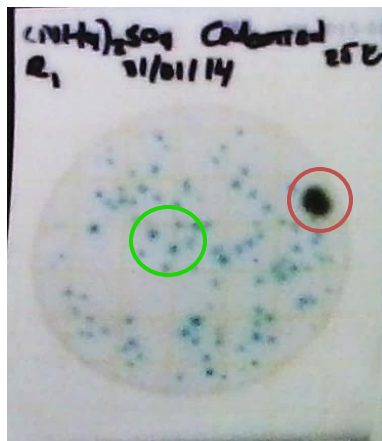


Figura 23. Mohos y levaduras presentes en una placa Petrifilm.

En las figuras 24 y 25 se muestran las gráficas de intervalos del recuento de mohos y levaduras que se encontraron en los chiles pasilla y mulato. En estas gráficas se observa si existe o no diferencia significativa entre los factores control y con recubrimiento al 0.5 y 1% utilizando la prueba de Fisher y 95% de intervalo de confianza para la media.

En la figura 24 se observa que el valor disminuyó significativamente al presentar 2.5UFC/mL de mohos y levaduras para el recubrimiento de 0.5 y 1% respectivamente. La media del grupo control arrojada por el programa estadístico alcanzó un valor de 40



UFC/mL y es significativamente mayor ($p\ 0.004=p<0.05$) a la media de los grupos con recubrimiento cuyo valor fue 2.5 UFC/mL.

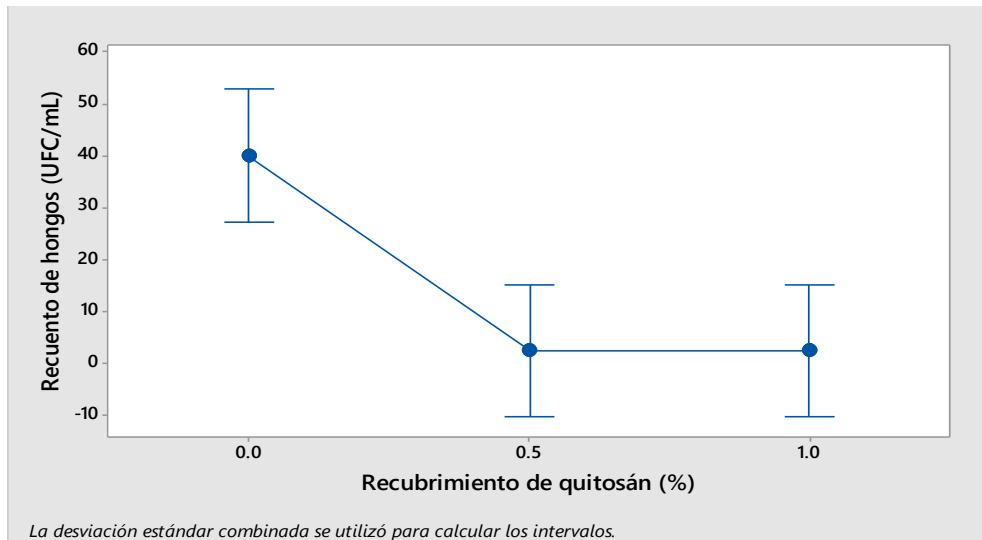


Figura 24. Gráfica de intervalos del recuento de hongos en el chile pasilla control y con recubrimiento de quitosán al 0.5 y 1%.

Ya que la norma indica que los chiles secos deben estar exentos de hongos podría haber la posibilidad de utilizar una concentración de 1.5% para asegurar esta condición aunque la aparición de hongos es mínima y podría deberse a un error en la aplicación del recubrimiento.

En la figura 25 se muestra la gráfica de intervalos para el chile mulato. El grupo control presentó una media de 35 UFC/mL, mientras que la media para los chiles con recubrimiento fue de 0 UFC/mL.

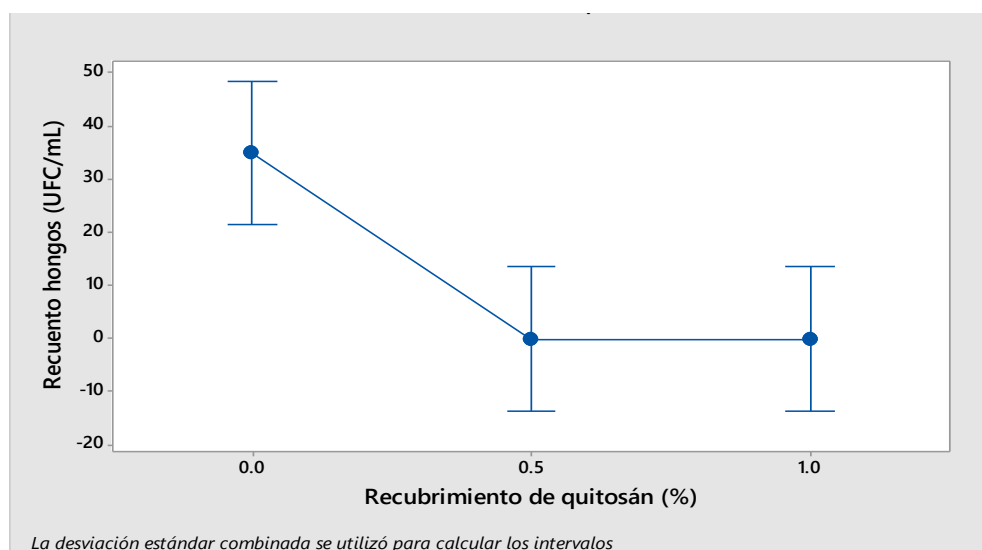


Figura 25. Gráfica de intervalos del recuento de hongos en el chile mulato control y con recubrimiento de quitosán al 0.5 y 1%.



Se realizó comparación de las medias con la prueba de Fisher y se obtuvieron dos niveles A y B, que indica que hubo diferencia significativa entre el grupo control y los grupos con recubrimiento de 0.5 y 1% ($p = 0.004 = p < 0.05$). También se observa que no hay diferencia estadística significativa entre los recubrimientos (0.5 y 1%), es decir, que ambos fueron efectivos y por lo tanto podríamos utilizar cualquiera de los dos con 95% de confianza (figura 24 y 25).

Los resultados microbiológicos realizados a las muestras control de ambas variedades de chile confirmaron la presencia de hongos y levaduras, los recuentos de mohos y levaduras fueron del orden de 20 a 55 UFC/mL. Esto coincidió con lo reportado para diferentes variedades de *Capsicum* (Lugo-Jiménez, Carballo-Bautista, Sauri-Duch, Centurión-Yah, & Tamayo-Canul, 2010), pero fue menor a lo reportado para chile habanero y a lo citado para chile chilaca y jalapeño del orden de 103 UFC/mL. Esta diferencia puede ser debido a que en el proceso de secado se eliminan parte de los microorganismos presentes mientras que en el chile fresco los microorganismos vienen directo de la planta y de otros medios de contaminación.

Es importante comentar que como mencionan Lugo-Jiménez, Carballo-Bautista, Sauri-Duch, Centurión-Yah, & Tamayo-Canul (2010) en su estudio del efecto del sistema de cultivo en la calidad microbiológica del chile habanero, los hongos normalmente no representan un peligro para la salud, por sí mismos, sino a través de las micotoxinas que producen, por eso su cuantificación en alimentos es considerado un indicador del riesgo de desarrollo de hongos toxigénicos principalmente en frutos secos, cereales, otros granos y sus derivados; aunque también se ha reportado su presencia en especias como los chiles. Cerca de dos terceras partes del deterioro de las frutas y vegetales son causados por los hongos. Miembros del género *Penicillium*, *Aspergillus*, *Sclerotinia*, *Botrytis* y *Rhizopus* están comúnmente relacionados en este proceso. Recuentos elevados de hongos en los frutos de chile fresco pueden contribuir a reducir la vida útil del producto por problemas de deterioro postcosecha.

Se escogió el recubrimiento de 1% de quitosán porque en las dos variedades de chile seco se redujo considerablemente o se eliminó por completo la carga fúngica y por otro lado la concentración más elevada aseguraría una mejor protección para los chiles, resultados que coinciden con los reportados por Cruz-Sánchez, (2013), que utilizó esta concentración de quitosán y observó una total inhibición del crecimiento de hongos que atacan a los chiles secos. También se ha reportado que el quitosán actúa como antifúngico por otros



autores como Alvarado-Hernández, Barrera-Necha, Hernández-Lauzardo & Velázquez-del Valle, (2011), que en sus estudios acerca de *Rhizopus stolonifer* en jitomate utilizaron quitosán para erradicar el hongo y se encontró efectivo como tratamiento antifúngico.

3.3. Influencia de la temperatura y humedad relativa (OP 2).

Determinar la influencia de la temperatura y humedad relativa sobre la actividad microbiológica en chiles secos (mulato y pasilla) recubiertos con quitosán a la concentración seleccionada.

A continuación se muestran las tablas 12-14 con las imágenes de las placas más representativas de mohos y levaduras realizados cada semana en chile pasilla control y recubierto a las diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa. En la tabla 15 se presentan las gráficas comparativas entre muestras control y recubiertas con quitosán al 1% que recopilan la información de las placas para observar el avance de los resultados del conteo, y con estos realizar el análisis para determinar las mejores condiciones de almacenamiento.

La temperatura se muestra en °C, la humedad relativa en porcentaje y las unidades de los promedios del conteo se muestran en unidades formadores de colonia por mililitro (UFC/mL).



Tabla 12. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la primera semana de experimentación.

Θ (sem)	Trat.	T°C/%HR	75	80	84
1	Control	10			
		25			
		35			
	Quitosán al 1%	10			
		25			
		35			



Tabla 13. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la segunda semana de experimentación.

Θ (sem)	Trat.	T°C/%HR	75	80	84
2	Control	10			
		25			
		35			
	Quitosán al 1%	10			
		25			
		35			



Tabla 14. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile pasilla control y recubierto de la tercera semana de experimentación.

Θ (sem)	Trat.	T°C/%HR	75	80	84
3	Control	10			
		25			
		35			
	Qitosán al 1%	10			
		25			
		35			



Tabla 15. Conteo promedio del recuento de levaduras en chile pasilla control y recubierto con quitosán al 1% de las tres semanas de experimentación.

Tiempo	Control	Quitosán al 1%
1ª. semana	<p>(a)</p>	<p>(b)</p>
2ª. semana	<p>(c)</p>	<p>(d)</p>
3ª. semana	<p>(e)</p>	<p>(f)</p>

a) Control a 1 semana
 b) Quitosán al 1% a 1 semana
 c) Control a 2 semanas
 d) Quitosán al 1% a 2 semanas
 e) Control a 3 semanas
 f) Quitosán al 1% a 3 semanas



En la tabla 12 se muestran las placas petrifilm a los 3 días de incubación de la primera semana de conteo de mohos y levaduras para chile pasilla control y recubierto. El conteo promedio de levaduras de estas muestras se reportó en la tabla 15 (a y b). En las muestras control a la temperatura de 35°C con la humedad relativa de 80 y 84% el número de levaduras fue de 1000 UFC/mL (incontables). Todas las muestras de los controles estuvieron en un rango de 140 a 1000 UFC/mL de mohos y levaduras, mientras que las muestras con recubrimiento obtuvieron un valor máximo de 125 UFC/ml para 25°C y 84% HR por lo que se aproxima que la reducción fue de 87.5%.

Las placas de la segunda semana de experimentación del chile pasilla control y recubierto se presentan en la tabla 13 y los conteos promedio de levaduras se reportan en la tabla 15 (c y d), donde el máximo conteo para el grupo control fue en las condiciones de 10°C y 75% HR que resultó de 1000 UFC/mL. En general, todos los valores de levaduras en el grupo control fueron mayores que los valores que se encontraron en el grupo recubierto ya que el valor máximo de este fue de 45 UFC/mL para la temperatura de 25°C con 80% de humedad relativa. En el caso de los mohos los valores fueron de 0 UFC/mL tanto para el grupo control como para el grupo recubierto. La reducción se aproxima a 95.5%.

Las placas de la tercera semana de experimentación se observan en la tabla 14. Las gráficas de los conteos se observan en la tabla 15 (e y f) en donde el mayor conteo de mohos y levaduras para el grupo control fue de 1000 UFC/ml en 35°C y 80 %HR y para las muestras con recubrimiento el conteo más alto fue para levaduras a las mismas condiciones, el conteo fue de 390 UFC/mL, lo que indica que la disminución fue de un 61% aproximadamente. Para los mohos los valores fueron de 0 UFC/mL tanto para el grupo control como para los recubiertos en todas las condiciones.

En general con respecto a los mohos, el chile pasilla control a 10°C mostró mínima cantidad (menor a 10 UFC/mL), mientras que el recubrimiento eliminó su presencia y no se desarrollaron a lo largo de las 3 semanas.

Para el análisis de los efectos principales los datos fueron analizados en el programa SPSS. Se realizó un modelo lineal generalizado para obtener las interacciones significativas y las superficies de respuesta.

En el anexo 2 se muestra la tabla 24 con los contrastes de los efectos del modelo para el chile pasilla pero a continuación se describen las interacciones más importantes, es decir las que tuvieron significancia menor o igual a 0.05.



Las interacciones significativas resultantes del contraste de las variables temperatura, humedad relativa y grupos (control y recubierto) sobre el conteo de mohos en chile pasilla fueron las interacciones entre temperatura-humedad relativa con significancia de 0.041, y las que se presentaron entre temperatura-humedad relativa-grupo con significancia de 0.038 (Ver anexo 2 tabla 24-a).

Para las levaduras en chile pasilla se encontró que los factores significativos fueron temperatura con significancia de 0.029, grupos (refiriéndose a grupo control y recubierto) con un valor de 0.006 y la interacción de temperatura-humedad relativa con significación de 0.019 (Ver anexo 2 tabla 24-b).

En la tabla 16 se muestran las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre los efectos principales temperatura y humedad relativa que son los que factores que afectan directamente en el conteo de mohos y levaduras y que se analizan en las gráficas de superficie en cada grupo (control y recubierto).

Tabla 16. Valores de p para las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre temperatura-humedad relativa para mohos y levaduras de chile pasilla.

Interacciones temperatura-humedad relativa	Mohos	Levaduras
Chile pasilla	P= 0.041	P= 0.019

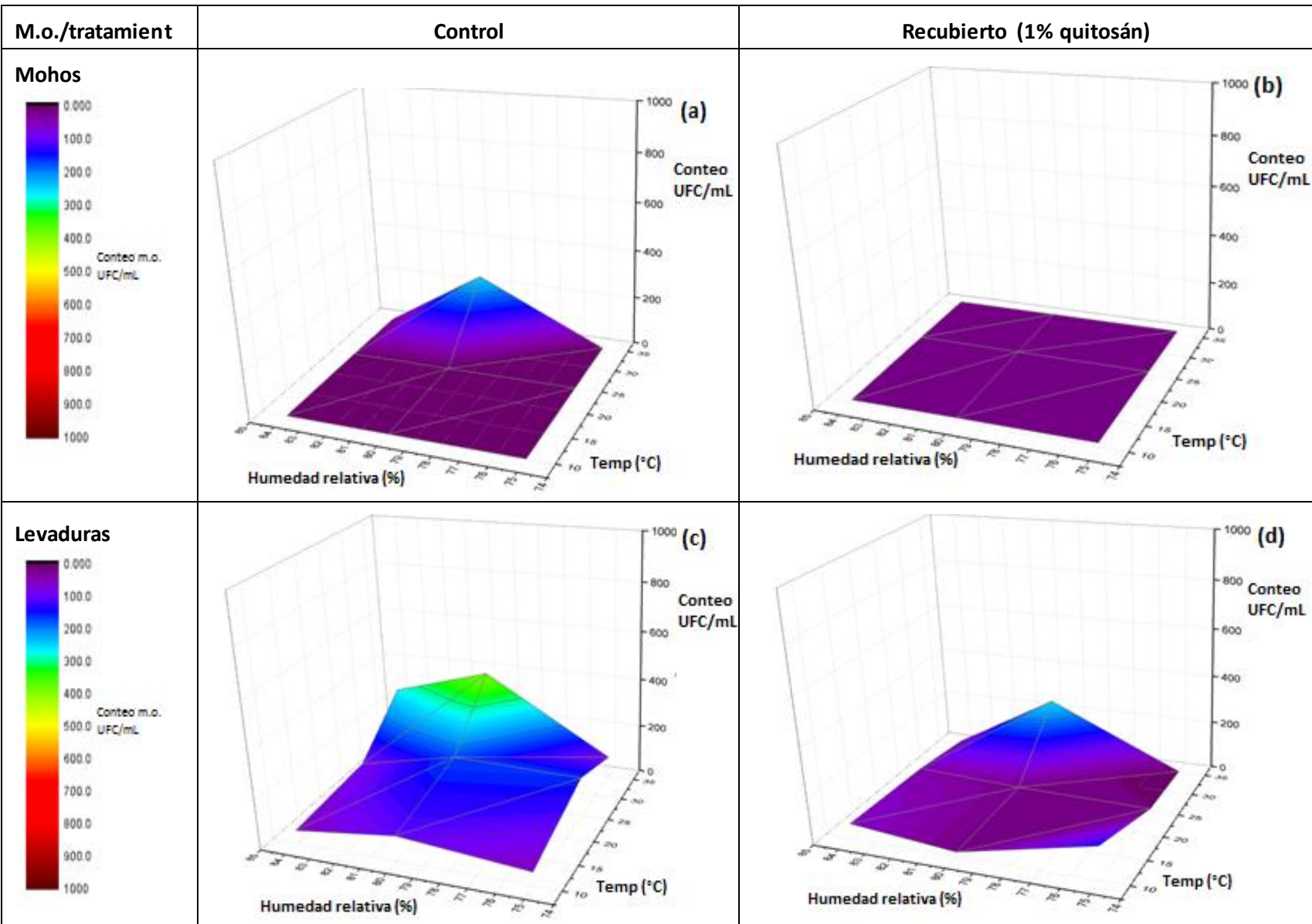
A continuación se presentan los gráficos de superficie del chile pasilla (tabla 17 figuras a,b,c,d) obtenidos de los resultados anteriores en donde se muestra la interacción global de los factores principales que son humedad relativa, temperatura y grupo (que se refiere al grupo control y al grupo con recubrimiento) sobre el conteo de mohos y levaduras (variable dependiente).

La tabla 17 muestra las gráficas del recuento de mohos (a) y el recuento de levaduras (c) en chile pasilla control, y las gráficas del recuento de mohos (b) y del recuento de levaduras (d) en chile pasilla recubierto.



Efecto de la temperatura y la humedad relativa sobre mohos y levaduras en chile pasilla.

Tabla 17. Gráficas de la interacción de los factores humedad relativa (%) y temperatura (°C) en el recuento de mohos y levaduras (UFC/mL) en chile pasilla control y recubierto.





➤ **Interpretación de los gráficos de superficie.**

Para obtener los valores del conteo de mohos o levaduras en las gráficas de superficie (tabla 17, 23) se interseca el valor de la humedad relativa (eje “x”) con el valor de la temperatura (eje “y”) que se quiere y se traza una línea perpendicular (eje “z”) al punto en el plano x-y hasta tocar con un punto en la superficie de la gráfica. Se observa el color donde se encuentra el punto y se lee el valor del variable conteo (eje “z”) en la escala de colores que va de 0 a 1000 UFC/mL.

En el grupo de chile pasilla control se observa que hay presencia de mohos (tabla 17-a). El mayor conteo (250 UFC/ml) se dio para la humedad relativa de 80% con temperatura de 35°C. Para las humedades relativas de 80 y 84% a 35°C hubo presencia de 100 UFC/mL. El conteo de mohos fue de 0 UFC/mL para: la humedad relativa de 75% con las tres temperaturas (10, 25 y 35°C); 80% con 10 y 25°C; y 84% con 10 y 25°C.

En el grupo donde se analiza el recuento de mohos en chile pasilla recubierto (tabla 17-b) se encontró que no hubo presencia de mohos para todos los casos de humedad relativa con temperatura, por lo que el recubrimiento fue efectivo contra los mohos en chile pasilla ya que los elimino al 100% el valor de p fue de 0.041 en el contraste de ambas gráficas.

En el caso del grupo chile pasilla levaduras, en el grupo control (tabla 17-c) el comportamiento para las 3 humedades relativas fue que al ir incrementándose la temperatura aumentó el conteo de levaduras. El rango fue de 0 a 350 UFC/mL. El conteo de 350 UFC/mL fue para 80% HR con 25 y 35°C. Mientras que el grupo recubierto (tabla 17-d) presentó un conteo menor (100 UFC/mL) que el grupo control de levaduras ya que el mayor conteo fue de 250 UFC/ml que se presentó a la humedad de 80% con 35°C. Comparando las dos gráficas se puede observar que disminuyeron aproximadamente en un 30% y su significancia fue de 0.019.

A continuación se observan las tablas 18-20 que muestran las placas de las tres semanas de experimentación del chile mulato y las gráficas de los resultados de los conteos se muestran en la tabla 21.



Tabla 18. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la primera semana de experimentación.


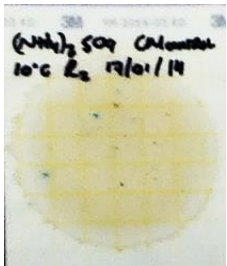
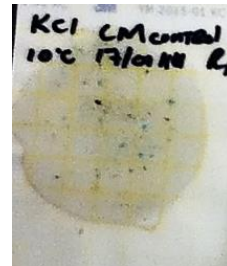
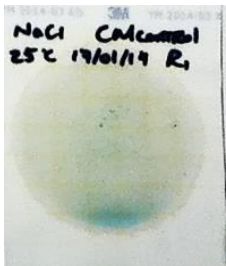
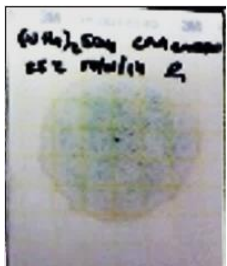



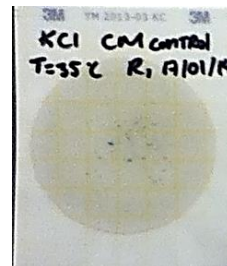
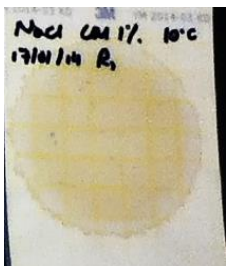
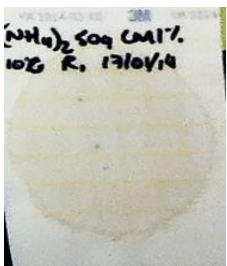
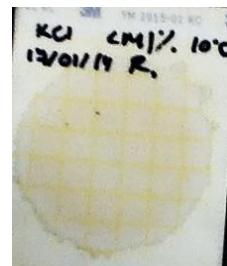
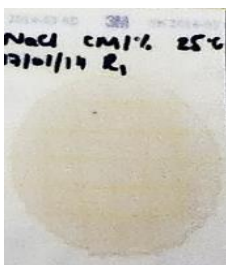

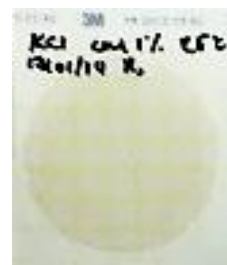



θ (sem)	Trat.	T°C/%HR	75	80	84
1	Control	10			
		25			
		35			
	Quitosán	10			
		25			
		35			



Tabla 19. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la segunda semana de experimentación.

θ (sem)	Trat.	T°C/%HR	75	80	84
2	Control	10			
		25			
		35			
	Quitosán	10			
		25			
		35			



Tabla 20. Imágenes de placas para recuento de mohos y levaduras en chile mulato control y recubierto de la tercera semana de experimentación.

θ (sem)	Trat.	T°C/HR	75	80	84
3	Control	10			
		25			
		35			
	Quitósán	10			
		25			
		35			



Tabla 21. Conteo promedio del recuento de levaduras en chile mulato control y recubierto con quitosán al 1% de las tres semanas de experimentación.

Tiempo	Control	Quitosán al 1%
1 ^a . semana	<p>a) Control a 1 semana</p> <p>(a)</p>	<p>b) Quitosán al 1% a 1 semana</p> <p>(b)</p>
2 ^a . semana	<p>c) Control a 2 semanas</p> <p>(c)</p>	<p>d) Quitosán al 1% a 2 semanas</p> <p>(d)</p>
3 ^a . semana	<p>e) Control a 3 semanas</p> <p>(e)</p>	<p>f) Quitosán al 1% a 3 semanas</p> <p>(f)</p>



Observando las placas y comparándolas con las del chile pasilla, a simple vista se observa que el chile mulato se vio más afectado por la acción de estos microorganismos que el chile pasilla.

En la primera semana el 66% de las placas de chile mulato control en las diferentes condiciones (tabla 18) presentaron un conteo de 1000 UFC/mL levaduras lo que se observa mejor en la tabla 21 (a), las condiciones a las que se presentaron fueron las de: 10 y 25 °C con 75 %HR; 25°C con 80 %HR; 25°C con 84 % HR; 35°C con 80 %HR y 35°C con 84% HR; lo cual comparado con los resultados de chile recubierto donde el mayor conteo fue de 110 UFC/ml a 35°C con 80 %HR (tabla 21-b) se observa que la disminución de levaduras fue de aproximadamente 89%.

El mayor conteo (1000 UFC/mL) de levaduras en la segunda semana de chile mulato control resultó para las condiciones de 10 y 25 °C con 75 %HR, 25°C con 80 %HR y 35 °C con 80 %HR (tabla 21-c); y el chile recubierto a 10°C con 75 %HR presentó 860 UFC/mL, a 25°C con 80 %HR se obtuvo un conteo de 565 UFC/ml y las demás muestras con recubrimiento obtuvieron conteos inferiores a 20 UFC/ml (ver tabla 21-d). Con estos datos se puede decir que la reducción del conteo de levaduras fue aproximadamente de 14%.

Para el chile mulato en la tercera semana se observan las placas en la tabla 20, los mayores conteos del chile control fueron en 25°C con 84 %HR y 35°C con 80 %HR con 1000 UFC/mL de levaduras (tabla 21-e). Del recuento con recubrimiento en todas las condiciones el recuento se redujo al 50% o más excepto en el caso de 35°C con 80 %HR donde el recubierto presentó el mismo conteo que el control (tabla 21-f).

Igualmente para analizar las interacciones significativas del chile mulato se utilizaron superficies de respuesta. En el anexo 2 se muestra la tabla 25 con los contrastes de los efectos del modelo para chile mulato pero a continuación se describen las interacciones más importantes, es decir las que tuvieron significancia menor o igual a 0.05.

Las interacciones significativas en el chile mulato para el caso de los mohos (Ver anexo 2 tabla 25-a) se encontró que como factores individuales los significativos fueron humedad relativa y grupo con valores de significancia de 0.014 y 0.000 respectivamente. Las interacciones significativas fueron humedad relativa-grupo con $p=0.014$, temperatura-humedad relativa con $p=0.000$ y temperatura-humedad relativa-grupo con $p=0.000$.



Los factores individuales significativos para el chile mulato con respecto a la variable independiente levaduras fueron temperatura con significancia de 0.012 y los grupos (control y recubierto) con significancia de 0.000. Las interacciones significativas fueron las de temperatura-grupos y temperatura-humedad relativa con significancia de 0.025 y 0.000 respectivamente (Anexo 2 tabla 25-b).

En la tabla 22 se muestran las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre los efectos principales temperatura y humedad relativa que son los que factores que afectan directamente en el conteo de mohos y levaduras y que se analizan en las gráficas de superficie en cada grupo (control y recubierto) para el chile mulato.

Tabla 22. Valores de p para las interacciones significativas ($p < 0.05$) entre temperatura -humedad relativa para mohos y levaduras de chile mulato.

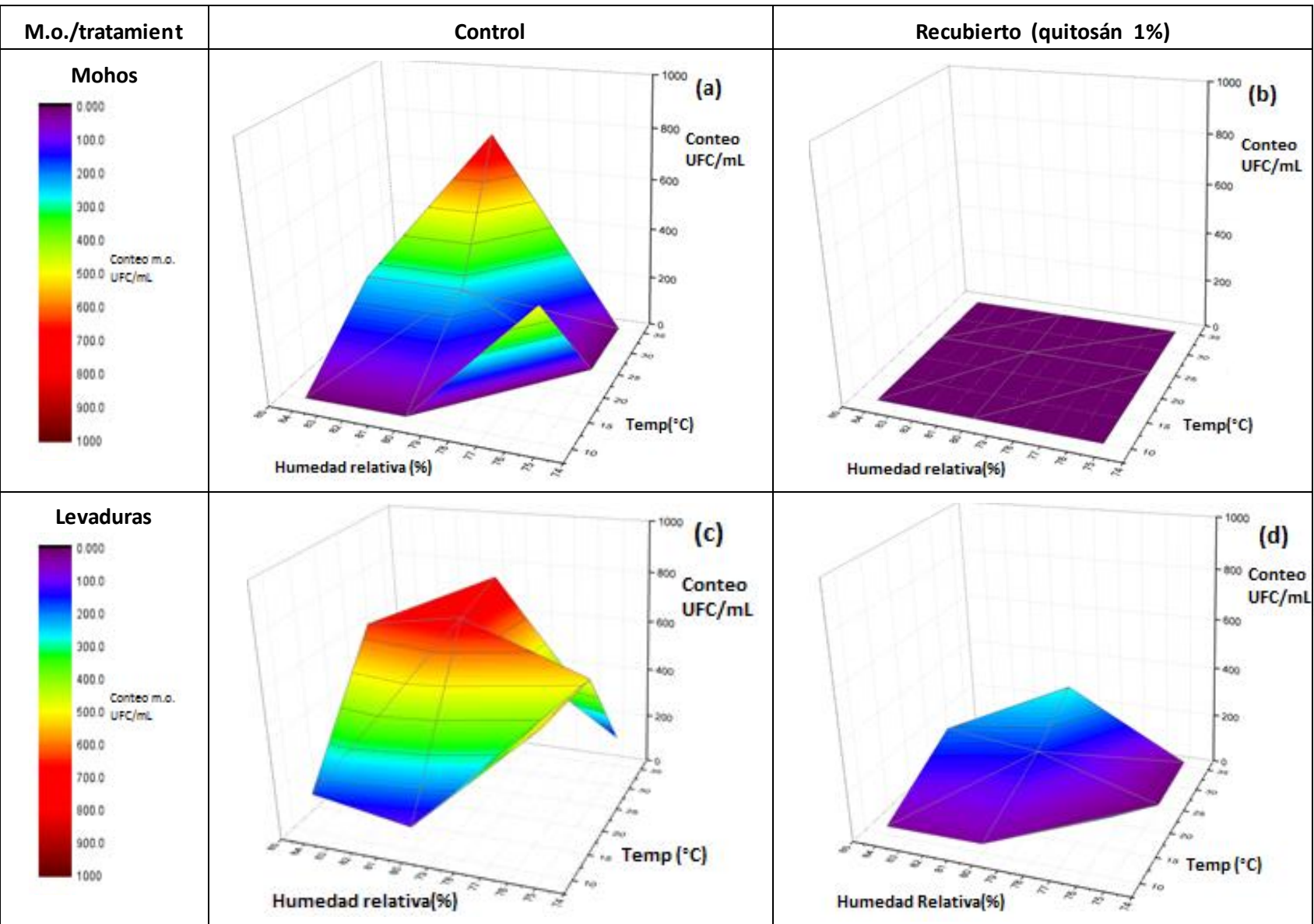
Interacciones temperatura-humedad relativa	Mohos	Levaduras
Chile mulato	P= 0.000	P= 0.000

A continuación se presentan los gráficos de superficie del chile mulato (tabla 23 figuras a,b,c,d) obtenidos de los resultados anteriores en donde se muestra la interacción global de los factores principales que son humedad relativa, temperatura y grupo (que se refiere al grupo control y al grupo con recubrimiento) sobre el conteo de mohos y levaduras (variable dependiente). El recuento de mohos (a) y el recuento de levaduras (c) son del chile mulato control, y las gráficas del recuento de mohos (b) y del recuento de levaduras (d) son del chile mulato recubierto.



Efecto de la temperatura y la humedad relativa sobre mohos y levaduras en chile mulato.

Tabla 23. Gráficas de la interacción de los factores humedad relativa (%) y temperatura (°C) en el recuento de mohos y levaduras (UFC/ml) en chile mulato control y recubierto.





Para la interpretación de los gráficos se sigue el procedimiento para la interpretación de gráficos descrito para la tabla 17 (pp. 84).

Analizando la gráfica del grupo control-mohos para chile mulato (tabla 23-a) se observa que hubo presencia de mohos hasta de 750 UFC/mL para la humedad relativa de 80% con 35°C siendo los demás valores no menores a 50 UFC/mL para las diferentes humedades relativas y temperaturas.

En el grupo con recubrimiento (tabla 23-b) se puede identificar que el chile mulato presentó un conteo de 0 UFC/ml mohos en cualquier caso de humedad relativa y temperatura que comparado con el grupo control se observa que el recubrimiento funcionó con efectividad contra mohos ya que los eliminó al 100% y también se corrobora con el valor de p que fue de 0.000.

Con respecto a las levaduras encontradas en el chile mulato control (tabla 23-c) se observa que atacaron al chile mulato en mayor medida que los mohos ya que hubo más puntos en donde se registró un alto conteo de unidades formadoras de colonia, para 25 y 35°C estuvieron en un rango de 500 a 900 UFC/mL en las tres humedades relativas. En el grupo control los conteos fueron mayores a 200 UFC/mL.

El grupo recubierto (tabla 23-d) mostró una gran disminución de levaduras con respecto al grupo control siendo el mayor conteo de 250 UFC/mL de levaduras en condiciones de 80% HR con 25 y 35°C, mientras que a estas mismas condiciones en el grupo control el valor fue de 850-900 UFC/mL respectivamente, determinando entonces una disminución de 72% aproximadamente. El menor conteo (0 UFC/mL) se presenta para la humedad de 75% con 25 y 35°C. Este fenómeno también ocurre para la humedad de 80% y 84% con 10°C que se corrobora con la gráfica ya que las zonas son de color morado y azul que indican entre 100 y 250 UFC/mL. El valor de p obtenido de la comparación de estos dos grupos de chile mulato levaduras fue de 0.000.

Comparando el grupo control y el grupo recubierto de ambas variedades de chile se observó que el grupo control siempre fue el más afectado por mohos y levaduras, esto pudo deberse a la contaminación inicial de la planta o por diversos factores durante el proceso de secado ya que el secado se realiza de forma tradicional, es decir al sol, y en condiciones de alta humedad y alta temperatura los chiles se ven más afectados, ya que con estos factores se propicia un intercambio de humedad del alimento al ambiente y viceversa creando un ambiente de mayor humedad y por lo tanto generando un ambiente



propicio para la proliferación de mohos y levaduras. Frazier & Westhoff en “La microbiología de los alimentos” (1993) reportan que los hongos, mohos y levaduras no requieren alta actividad de agua (0.6-0.75), al respecto, autores como Moreno-Martínez & Gil-Gutiérrez (1991) mencionan que incluso hay géneros como el *Aspergillus* que se caracterizan por no requerir agua libre para su desarrollo; estos datos son relevantes en especial en lo que se refiere al el chile seco, ya que es un alimento de baja actividad de agua que oscila entre 0.6-0.85 lo que lo torna sensible ante el ataque de estos microorganismos. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Cruz-Sánchez (2013), quien estudio la reducción fúngica en chiles secos aplicando un recubrimiento de quitosán, y concluyó que la carga fúngica inicial también era alta y que con un recubrimiento de quitosán se eliminaba significativamente.

Aunque el valor porcentual de humedad libre de un alimento solo nos da una orientación para juzgar las posibilidades de crecimiento y multiplicación de los hongos, los valores de humedad relativa inferiores al 75% suelen presentar un crecimiento y proliferación fúngica bajos y a medida que la humedad relativa aumenta, el crecimiento y proliferación fúngicas se aceleran, pudiendo ser de forma exagerada para humedades relativas mayores al 80% en ambas variedades de chile. A fin de prevenir la contaminación de los alimentos por micotoxinas es necesario evitar el crecimiento fúngico. Ellos necesitan agua, oxígeno (por lo menos 1-2%), tiempo y temperatura adecuada (variable según la especie de hongo; en general, las temperaturas más altas promueven las especies de *Fusarium*).

En la presente investigación, se observa que el recubrimiento de 1% de quitosán elimina o disminuye notablemente la formación de mohos y levaduras, sin embargo en el caso de las levaduras no se eliminaron por completo en ambas variedades de chile aún con el recubrimiento, así como mencionan López-Mata, y colaboradores (2012) en su investigación respecto al efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas, tanto las levaduras como los mohos presentaron un incremento, aunque no estadísticamente significativo, lo que es similar a los resultados obtenidos.

La interacción entre temperatura y humedad en el tratamiento con recubrimiento en mohos y levaduras redujo significativamente ($P \leq 0.05$) dichas poblaciones con respecto al control (entre 100 y 30%).



La baja efectividad del recubrimiento en algunos casos pudo deberse a que el quitosán por su comportamiento hidrofílico tiende a retener agua en su estructura lo cual conduce al hinchamiento de la misma, generando un funcionamiento ineficiente debido a la permeabilidad al vapor de agua, la cual varía con la concentración; a mayor concentración, mayor grosor y por lo tanto menor permeabilidad (Trejo, Aragón, & Miranda, 2001; Alvarado-Hernández, Barrera-Necha, Hernández-Lauzardo, & Velázquez-del Valle, 2011).

Se analizó la influencia de los factores humedad y temperatura de los grupos control y recubierto sobre las variables de respuesta: conteo de mohos y levaduras; de lo cual se deduce que:

Chile pasilla.

El chile pasilla mostró ser un chile menos sensible comparado con el chile mulato ya que presenta menor cantidad de mohos y levaduras (60% aproximadamente).

La formación de mohos no es crítica a ninguna de las temperaturas ni humedades relativas. Independientemente de la humedad relativa y la temperatura la formación de mohos fue muy baja (máximo 250 UFC/mL en el control y 0 UFC/mL en el recubierto) durante el periodo de almacenamiento.

En general, también independientemente de la humedad relativa y la temperatura la formación de levaduras fue baja (máximo 350 UFC/mL en el control y 250 UFC/mL en el recubierto).

Chile mulato.

A 25°C para cualquier humedad relativa en el chile control ocurre un aumento de la carga fúngica a través del tiempo, ya que la temperatura ideal para el desarrollo de hongos es entre 15 y 30°C con valores óptimos de 20-25°C.

Las peores condiciones para el chile mulato sin recubrimiento son en humedades mayores a 75% y 25°C ya que presentan gran cantidad de mohos y levaduras, siendo en 35°C con 80% de HR la máxima formación de éstos (900 UFC/mL y 750 UFC/mL respectivamente).

En general comparando el recubrimiento de quitosán en el chile mulato y pasilla:

Los datos indicaron que el rendimiento del tratamiento con quitosán al 1% fue mejor que el del control ya que la evaluación microbiológica reveló que el recuento de mohos y



levaduras disminuyó significativamente. Esto coincide con lo dicho por Hong-Tham & Phuoc-Minh, 2014 que en su investigación de los efectos del empaque y la temperatura en la preservación de la calidad de chiles, se analizó el efecto de diferentes concentraciones de quitosán (0%, 0,5%, 1,0% y 2% (p/v)) en algunas características físico-químicas y microbianas durante su almacenamiento y sus resultados indicaron que el rendimiento de quitosano en los tratamientos fue mejor en comparación con el control, ya que las cuentas totales de microorganismos disminuyeron al aumentar la concentración de quitosano.

Con el recubrimiento de quitosán a 25°C tanto en el chile mulato como en el pasilla la formación de mohos y levaduras es baja (máximo 250 UFC/mL).

A menor temperatura independientemente de la humedad ocurre una mayor conservación del producto. Englobando los resultados se puede decir que el conteo más bajo de mohos y levaduras se presentó con el recubrimiento de quitosán a 10°C y 75% HR en ambas variedades de chile, pero por costos las condiciones de temperatura de 25°C y humedad relativa entre 75 y 84% son las mejores condiciones de almacenamiento ya que el conteo de microorganismos fue similar.

Con respecto a ambos tipos de chiles, es importante mencionar que los factores más importantes que afectan la vida de almacenamiento de frutas y hortalizas son la temperatura y la humedad relativa. Si se mantienen las condiciones óptimas de almacenamiento para un producto se logra maximizar su vida útil.

Con respecto a la temperatura, como se puede ver en las tablas 17 y 23 a, b, c, d; la óptima fue la de 10°C seguida por la de 25°C debido a que en éstas la reproducción de hongos y mohos fue la mínima. En este tenor, es importante indicar que dicho factor es el más importante en cuanto a condiciones de almacenamiento esto debido a que a bajas temperaturas también se reducen el crecimiento microbiano y el deterioro del producto sin que alcance el punto de congelación (Ardila-Núñez & Parra-Coronado, 1999). Sin embargo, cabe resaltar que el almacenamiento a 25°C se presenta como una alternativa adecuada en caso de no contar con equipo de refrigeración o para disminuir los costos de almacenamiento y en última instancia el costo de producción.

La normatividad mexicana (NMX-FF-107/1-SCFI-, 2006) indica que la tolerancia de impurezas para chiles secos es nula, es decir que deben estar exentos de hongos. Al respecto los autores de este trabajo consideran que esto no concuerda con los chiles en



su estado natural ya que al estar expuestos al aire, viento, sol, etc., ésta situación se ve exacerbada por la cadena de producción y por los lugares de almacenamiento en donde las condiciones de humedad, temperatura y esterilidad no son controladas. Sin embargo, con este proyecto se consigue la calidad que exige la norma.

Por lo tanto se puede concluir que el quitosán es un elemento que aumentaría en gran medida la calidad de los chiles secos mulato y pasilla para su exportación en las condiciones encontradas como adecuadas, tanto por sus propiedades antifúngicas como por sus propiedades de durabilidad que hacen que el producto tenga un mejor aspecto y mayor vida de anaquel.



Conclusiones



CONCLUSIONES

1. Debido a que el recubrimiento de quitosán al 1% redujo la carga fúngica significativamente ($p < 0.05$) se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa que suponía que si se le aplica un recubrimiento de quitosán al 1% a los chiles secos mulato y pasilla a una temperatura de 25°C y humedad de 80%, entonces no habría aparición de hongos y levaduras.
2. La concentración de quitosán al 1% funcionó como tratamiento antifúngico.
3. Para el chile pasilla las mejores condiciones de almacenamiento en donde se puede garantizar la protección del producto son: con el recubrimiento a temperatura ambiente y humedad relativa entre 75 y 80%. Aun con temperatura de 10°C no hay presencia de hongos pero implicaría un gasto innecesario.
4. Para el chile mulato las mejores condiciones de almacenamiento son con humedad relativa de 75% a temperatura ambiente o aún menores.
5. En general, para los dos chiles a cualquier humedad relativa es más fácil la formación de levaduras que de mohos.



Referencias



REFERENCIAS

1. Alvarado-Hernández, A., Barrera-Necha, L., Hernández-Lauzardo, A., & Velázquez-del Valle, M. (2011). Actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill., agente causal de la pudrición blanda del tomate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, Vol. XIII(2), 127-134.
2. Ardila-Núñez, L., & Parra-Coronado, A. (1999). Evaluación de tres tipos de empaque (bolsas de polietileno) para almacenamiento de guayaba manzana (*Psidium guajava* var., *Klom sali*). *Revista Ingeniería e Investigación*, 43, 40-45.
3. Bosland, P., & Walker, S. (2010). Measuring Chile Pepper Heat. *College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, Guide H-237*.
4. Bravo-Lozano, A., Galindo-González, G., & Amador-Ramírez, M. (2006). Tecnología de producción de chile seco. México: INIFAP.
5. Cabeza-Herrera, E. (2013). Aplicación de la Microbiología Predictiva para la determinación de la vida útil de los alimentos. *Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona*, 1-10.
6. Campos-Díaz, J., Rodríguez-Alvarez, C., Sierra-López, A., & Arias-Rodríguez, Á. (2003). Estudio microbiológico de las comidas servidas en los comedores escolares de la isla de Tenerife. *Revista Española de Salud Pública*, 77(6), 749-760.
7. Carrillo, L. (2003). *Microbiología Agrícola*. Argentina: Universidad de Salta.
8. Castillo, Y., & Andino-Rugama, F. (2010). Microbiología de los alimentos: Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. *Universidad Nacional de Ingeniería*, 1-61.
9. Cruz-Sánchez, D. A. (2013). Tesis de licenciatura para obtener el título de Ingeniera en Alimentos. *Reducción fúngica en chiles secos aplicando un recubrimiento con quitosán, un tratamiento térmico con vapor y la mezcla de ambos*. FESC-UNAM. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.
10. El Gaouth, A., Arul, J., & Asselin, A. (1992). Potential use of chitosan in postharvest preservation of fruits and vegetables. In *Advances in chitin and chitosan*. Elsevier *Applied Science*, 835.



11. España-Luna, M., Lozano-Gutiérrez, J., Calvillo-Oliveros, M., Escareño-Barajas, J., & Díaz-Robles, A. (2013). Uso de Trichoderma en el cultivo del chile. *Unidad Académica de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas*, 1-17.
12. Estrada, M., Rodríguez, S., Caballero, E., Sarmiento, R., & Racedo, N. (2008). Desarrollo de un Sistema de Monitoreo en Tiempo Real para la Humedad Relativa. *Revista Colombiana de Física*, 40(2), 382-384.
13. FAO. (2013). *Food and Agricultural Organization*. Consulta de bases de datos de producción mundial y nacional de chiles, pimientos picantes, pimientos verdes y secos. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>. Fecha de consulta: 09/05/2015.
14. FAO/OMS. (2008). *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del codex sobre frutas y hortalizas frescas. 14ª reunión*. México.
15. Figueroa, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R., & Narváez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva, al uso del propóleo en su formulación. *Revista Colombiana de Ciencias Agroindustriales*, 3(2), 386-400.
16. Flores-Vega, M. (2009). Tesis de licenciatura para obtener el título de Ingeniera en Alimentos. *Identificación de la microflora micótica y cuantificación de aflatoxinas en 4 variedades de chiles secos de segunda calidad*. FESC-UNAM. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.
17. Frazier, W., & Westhoff, D. (1993). *Microbiología de los Alimentos* (4a. ed.). España: Acribia.
18. Gacén, J., & Gacén, I. (1996). Quitina y quitosano. Nuevos materiales textiles. *Boletín Intexter (U.P.C.)*, 10, 67-71.
19. Gerard, J. T., Berdell, R., & Funke, C. L. (2007). Introducción a la microbiología. *Medica Panamericana*.
20. González, G. (2007). El servicio de asistencia técnica a los productores de chile seco en Zacatecas. *Convergencia. Revista de ciencias sociales*, 14(43), 137-165.



21. Gortari, M. C., & Hours, R. A. (2013). Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini-review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(3), 1-18.
22. Hernández, I. (2004). La quitosana: Un producto bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 25(3), 97-110.
23. Hong-Tham, N., & Phuoc-Minh, N. (2014). Effects of combining packaging and temperature preservation on cayenne pepper quality. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 1(3), 22-29.
24. ITESCAM. (2013). *Tratamiento térmico en alimento*. Campeche, México: (Instituto Tecnológico Superior de Calkiní en el Estado de Campeche). Obtenido de <http://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r14174.DOC>
25. Jay, J. M. (2009). *Microbiología moderna de los alimentos* (5a ed.). España: Ed. Acribia S.A.
26. Kitinoja, L., & Kader, A. A. (2004). *Small-Scale Postharvest Handling Practices: A Manual for Horticultural Crops*. Oakland, California: FAO. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources.
27. Kumar-Dutta, P., Dutta, J., & Tripathi, V. (2004). Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 63, 20-31.
28. Lárez-Velásquez, C. (2008). Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. *8(1)*, 4-6. Venezuela.
29. Lesur, L. (2006). *Manual del cultivo del chile*. México: Trillas.
30. Long-Solis, J. (1998). *Capsicum y cultura: la historia del chilli*. México: Fondo de cultura económica.
31. López-Mata, M., Ruiz-Cruz, S., Navarro-Preciado, C., Ornelas-Paz, J., Estrada-Alvarado, M., Gassos-Ortega, L., & Rodrigo-García, J. (2012). Efecto de recubrimientos comestibles de quitosano en la reducción microbiana y conservación de la calidad de fresas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud. Biotecnia*, XIV(1), 33-43.
32. López-Riquelme, G. O. (2003). Chilli: La especie del nuevo mundo. *Boletín de Ciencias*(69), 66-75.



33. Lugo-Jiménez, N., Carballo-Bautista, M., Sauri-Duch, E., Centurión-Yah, A., & Tamayo-Canul, E. (2010). Efecto del sistema de cultivo sobre la calidad microbiológica del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) después de su cosecha. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11(2), 171-179.
34. Macías-Valdez, L., Baltazar-Brenes, E., González-Gaona, E., Serrano-Gómez, C., Galindo-Reyes, M., Maciel-Pérez, L., & Robles-Escobedo, F. (2010). Nueva tecnología de manejo para el control de la marchitez del chile en Aguascalientes. *INIFAP-PRODUCE*(38), 60.
35. Martínez-Camacho, A., Cortez-Rocha, M., Ezquerra-Brauer, J., Graciano-Verdugo, A., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M., & Yépiz-Gómez, M. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Elsevier Carbohydrate Polymers*, 82, 305-315.
36. Miranda-Castro, S. P., Cárdenas-Galo, 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.
37. Mojica-Marín, V., Luna-Olvera, H., Sandoval-Coronado, C., Pereyra-Alfárez, B., Morales-Ramos, L., González-Aguilar, N., & Hernández-Luna, C. (2009). Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. *Revista Scielo*, 78(2), 105-110.
38. Moreno-Martínez, E., & Gil-Gutiérrez, M. (1991). *La biología de Aspergillus flavus y la producción de aflatoxinas*. México, D.F: Coordinación de la Investigación Científica. Programa Universitario de Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México.
39. NMX-FF-025-SCFI-. (2007). *Productos Alimenticios No Industrializados Para Consumo Humano - Chile Fresco (Capsicum Spp) – Especificaciones (Cancela a la NMX-FF-025-1982)*.
40. NMX-FF-107/1-SCFI-. (2006). *Productos Alimenticios – Chiles Secos Enteros (Guajillo, Ancho, Mulato, De Árbol, Puya y Pasilla) – Parte 1 – Especificaciones y Métodos de Prueba*.



41. NMX-Z-12-2-. (1987). *Muestreo para la inspección por atributos–Parte 2: Métodos de muestreo, tablas y gráficas.*
42. Pascual-Anderson, M., & Calderón y Pascual, V. (2000). *Microbiología alimentaria. Metodología analítica para alimentos y bebidas* (2a. ed.). Madrid: Díaz de Santos S.A.
43. Pedraza-Robles, L., & Gómez-Gómez, A. (2008). Análisis exploratorio del mercado y la comercialización de chile piquín (*C. Annuum, var. Aviculare dierb.*) en México. *Tecsisotecatl: Economía y Sociedad de México*, 1(5).
44. Pérez-Castro, A., & Sosa, T. (2009). Tesis de licenciatura para obtener el título de químico industrial. *Aislamiento y caracterización de capsaicina del chile jalapeño (Capsicum annuum) y su aplicación en cultivo in vitro de Vanilla planifolia comparando el efecto con afinina.* Veracruz, México: Universidad Veracruzana.
45. Precisa. (2015). Obtenido de http://www.precisa.com/download/en_XM50_Brochure.pdf
46. Quintero, C. J., Falguera, V., & Muñoz, H. A. (2010). Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Revista Tumbaga*, 5, 93-118.
47. Ramos-García, M., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L., Bosquez-Molina, E., Alia-Tejacal, I., & Estrada-Carrillo, M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(1), 44-57.
48. Rodríguez-Pedroso, A. T., Ramírez-Arrebató, M., Rivero-González, D., Bosquez-Molina, E., Barrera-Necha, L., & Bautista-Baños, S. (2009). Chemical-structural properties and biological activity of chitosan on phytopathogenic microorganisms. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(3), 307-317.
49. SAGARPA. (2012). “Mejoramiento Integral de la productividad en el cultivo de chile en México para aumentar la competitividad, mediante el incremento del rendimiento y calidad. México. Obtenido de http://www.conacyt.gob.mx/FondosyApoyos/Sectoriales/InvestigacionBasicaAplicada/SAGARPA/201202/Convocatoria_2012-02.pdf



50. Secretaría de Economía, S. P. (2013). Datos estadísticos de la producción del chile en territorio nacional. Disponible en: <https://rocdsan.wordpress.com/2013/06/12/datos-estadisticos-de-la-produccion-del-chile-en-territorio-nacional/>. Fecha de consulta: 15/05/2015.
51. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. (2009). Disponible en: http://www.inforural.com.mx/IMG/pdf/Estadistica_del_chile_en_Mexico.pdf. Fecha de consulta: 10/11/2013.
52. SHCP. (2014). Panorama del chile. (*Secretaría de Hacienda de Crédito Público*). Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información. México.
53. SIAP. (2010). Disponible en línea en la página web: <http://w4.siap.sagarpa.gob.mx/appestado/monografias/hortalizas/chiles.html>. Fecha de consulta: 20/09/2013.
54. SIAP. (2010). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. *Un panorama del cultivo del chile*. México. Obtenido de <http://infosiap.siap.gob.mx/>
55. SIAP. (2013). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/produccion-chile-verde/>. Fecha de consulta 08/10/2013.
56. SIAP-SAGARPA. (2014). Secretaría de Hacienda y Crédito Público, Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica, Análisis Sectorial y Tecnologías de la Información, México. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/>. Fecha de consulta: 18/06/2015
57. SNIIM. (2015). *Sistema Nacional de Información e Integración de Mercados*. México. Disponible en: <http://www.economia-sniim.gob.mx/>. Fecha de consulta: 20/05/2015
58. Suseno, N., Savitri, E., Sapei, L., & Padmawijaya, K. (2014). Improving Shelf-life of Cavendish Banana Using Chitosan Edible Coating. (Elsevier, Ed.) *Science Direct*, 9, 113.
59. Tapia-Paredes, C., Diego-Soto, M., Vergara-G., L., Albuquerque-O., C., Maccioni-R., A., Matamata-C., A., & Bucarey-V., S. (2009). Antifungal effect of high molecular weight chitosan on *Candida* spp isolated from clinical samples. *SciELO. Rev. chil. infectol.*, 26(6).



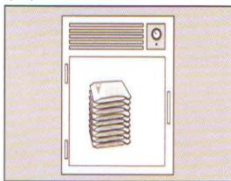
60. Trejo, V., Aragón, N., & Miranda, P. (2001). Estimación de la permeabilidad al vapor de agua en películas a base de quitosán. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 45(1), 1-5.
61. Urrego, J., & Díaz, G. (2006). Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad, en la etiología de cáncer hepático celular. *Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia*, 54(2), 108-116.
62. Valadez, L. A. (1994). *Producción de Hortalizas*. México: Limusa SA de CV.
63. Velásquez-Valle, R., & Amador-Ramírez, M. D. (2007). Análisis Sobre la Investigación Fitopatológica de Chile Seco (*Capsicum annum L.*), Realizada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias en los Estados de Aguascalientes y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 25(1), 80-84.
64. Velásquez-Valle, R., & Medina, M. M. (2006). Hongos asociados con frutos de pimiento y chile para verdear en postcosecha en Aguascalientes y Zacatecas. *Tercera Convención Mundial de Chile 2006*, (págs. 155-159). Chihuahua y Delicias, Chih.
65. Zonneveld, M., Ramirez, M., Williams, D., Petz, M., Meckelmann, S., Avila, T., . . . Jaeger, M. (2012). Underutilized Capsicum pepper diversity in its Andean centre of origin. Advances in high-value differentiation. *International Crop Science Congress, Bento Goncalves, Brazil*.



Anexo 1. Método de preparación de placas Petrifilm para análisis microbiológico de mohos y levaduras.

Las placas *Petrifilm* para Recuento de Mohos y Levaduras (Yeast&Molds YM) son un sistema de medio de cultivo listo para ser empleado, contiene nutrientes de “Sabhi”, dos antibióticos, indicador de fosfatos (BCIP), un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que facilita la enumeración de las colonias. Las placas *Petrifilm MR MY* se utilizan en la enumeración de la población total existente de mohos y levaduras en productos, ambientes, superficies, etc.

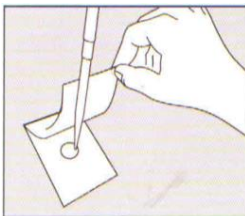
(a)



Almacenamiento: Los paquetes de placas deben ser almacenados en refrigeración a una temperatura menor a 8°C hasta el momento de su uso.

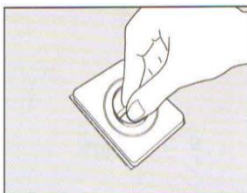
Preparación de la muestra: Preparar una disolución de 1:10 de la muestra y pipetear la muestra en una funda, bolsa o cualquier contenedor estéril usual.

(b)



Para colocar la muestra en la placa se debe poner la placa en una superficie plana y nivelada, levantar la lámina semitransparente superior y extraer un mililitro de la muestra con la pipeta. En posición perpendicular a la placa se deposita la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior asegurándose de no tocar la placa con la punta de la pipeta. Liberar la película superior dejando que caiga sobre la dilución y no deslizarla hacia abajo.

(c)

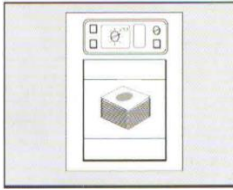


Sosteniendo la barra cruzada del dispersor o esparcidor para hongos y levaduras se coloca sobre la película superior, como atrapando el inóculo. Se presiona suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular.

No girar o deslizar el dispersor. Levantar el dispersor o esparcidor. Se espera por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y se procede a la incubación.



(d)



Las placas se pueden incubar cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura según el método oficial 997.02 del AOAC en alimentos por 5 días entre 21°C y 25°C.

Figura 26. Proceso gráfico para recuento de mohos con placas Petrifilm, (a) almacenamiento de las placas, (b) aplicación de muestra, (c) utilización del dispersor, (d) incubación de placas.

**Nota:* Los hongos grandes o de crecimiento rápido pueden ocultar los resultados al día 5, por lo que debe observarse al día 3 y registrar los resultados de las placas con altos conteos. Si las placas están con demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como “estimado”. Realizar conteo, con un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificada.



Anexo 2. Tablas de contrastes de los efectos del modelo estadístico aplicado a los chiles pasilla y mulato.

En la tabla 24 se observan las interacciones entre los factores principales temperatura, humedad relativa y grupos en la influencia de mohos y levaduras en chile pasilla. Las interacciones que tuvieron significancia (valor menor o igual a 0.05) se muestran en color rojo.

Tabla 24. Contrastes de los efectos del modelo aplicado a chile pasilla para mohos (a) y levaduras (b).

Contraste de los efectos para mohos (a)				Contraste de los efectos para levaduras (b)			
Origen	Tipo III			Origen	Tipo III		
	Chi-cuadrado de la razón de verosimilitudes	gl	Sig.		Chi-cuadrado de Wald	gl	Sig.
(Intersección)	5.914	1	.015	(Intersección)	42.832	1	.000
Temperatura	4.952	2	.084	Humedad	5.164	2	.076
Humedad	5.176	2	.075	Temperatura	7.064	2	.029
Grupo	.609	1	.435	Grupo	7.571	1	.006
Temperatura*Grupo	5.203	2	.074	Temperatura*Grupo	4.252	2	.119
Humedad*Grupo	4.977	2	.083	Humedad*Grupo	.885	2	.642
Temperatura*Humedad	9.956	4	.041	Temperatura*Humedad	11.820	4	.019
Temperatura*Humedad*Grupo	10.149	4	.038	Temperatura*Humedad*Grupo	3.107	4	.540
-Variable dependiente: Conteo de mohos				-Variable dependiente: Conteo de levaduras			

En la tabla 25 se observan las interacciones entre los factores principales temperatura, humedad relativa y grupos en la influencia de mohos y levaduras en chile mulato. Las interacciones que tuvieron significancia se muestran en color rojo.



Tabla 25. Contrastes de los efectos del modelo aplicado a chile mulato para mohos (a) y levaduras (b).

Contraste de los efectos para mohos (a)				Contraste de los efectos para levaduras (b)			
Origen	Tipo III			Origen	Tipo III		
	Chi-cuadrado de la razón de verosimilitudes	gl	Sig.		Chi-cuadrado de la razón de verosimilitudes	gl	Sig.
(Intersección)	29.307	1	.000	(Intersección)	85.415	1	.000
Temperatura	1.240	2	.538	Temperatura	8.883	2	.012
Humedad	8.603	2	.014	Humedad	3.580	2	.167
Grupo	29.307	1	.000	Grupos	36.956	1	.000
Temperatura* Grupo	1.240	2	.538	Humedad* Grupos	.262	2	.877
Humedad* Grupo	8.603	2	.014	Temperatura* Grupos	7.354	2	.025
Temperatura* Humedad	38.340	4	.000	Temperatura* Humedad	27.141	4	.000
Temperatura* Humedad*Grupo	38.340	4	.000	Temperatura* Humedad*Grupos	4.567	4	.335
-Variable dependiente: Conteo de mohos				-Variable dependiente: Conteo de levaduras			