



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Aprovechamiento de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su empleo para el control de patógenos postcosecha en calabacita, jitomate y naranja.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ROSA ITZEL SOTO NUÑEZ

Asesores:

DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ

M. en C. ALMA ADELA LIRA VARGAS

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

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

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

Aprovechamiento de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su empleo para el control de patógenos postcosecha en calabacita, jitomate y naranja.

Que presenta la pasante: **Rosa Itzel Soto Nuñez**

Con número de cuenta: 412068281 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”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Junio de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
VOCAL	M. en C. Araceli Ulloa Saavedra	
SECRETARIO	Dra. Guicela Ramírez Bernal	
1er. SUPLENTE	M. en C. Selene Pascual Bustamante	
2do. SUPLENTE	M. en C. Ana Elvia Sánchez Mendoza	

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

IHM/cga\*



# AGRADECIMIENTOS

## AGRADECIMIENTOS

---

Agradezco a dios por bríndame salud, amor, sabiduría, paz y armonía en mi vida, por permitirme terminar satisfactoriamente uno de mis primeros objetivos de vida por darme la virtud de tener una familia tan hermosa, por tener allá con él a mis dos ángeles que son mi cachito de cielo, no me desamparan y siempre me acompañan mi padre DESIDERIO SOTO y mi prima SANDRA.

A mi madre PAULA NUÑEZ por darme lo más preciado que es la vida, por demostrarme que después de la tempestad viene la calma, que no hay más límites que los que uno mismo se pone y que a pesar de la adversidad se puede salir adelante teniendo objetivos bien plantados.

A mis hermanos que son la base de mi ser y mi existir, mi hermana SILVIA por brindarme sabios consejos y estar ahí cuando la necesito, mi hermano ARCADIO que siempre me motiva y me brinda experiencias de vida, mi hermano LUIS que me demuestra lo fuerte que uno debe ser ante las situaciones que se nos presenten en la vida, mi hermana MAGDA por siempre estar para mí sin condiciones y mi hermana TERE por ser mi confidente. Agradezco sus sabios consejos, sus enseñanzas hasta sus errores porque de todo ello he aprendido a ser una mejor persona día a día ustedes son mi gran motivación.

A JUAN LUIS por apoyarme siempre y demostrarme que siempre estará para mí pase lo que pase, por ser mi incondicional y mi confidente.

A mis amigos DANIA, FRANCISCO, CHRISTIAN, SANDRITA, KAREN, por alegrar mis días en la facultad, por compartir grandes momentos, grandes aventuras, tristezas, alegrías mejor aún por todo lo que nos falta vivir.

A mis asesoras y profesoras Alma Adela, Andrea Trejo y Selene, por compartirme su conocimiento, paciencia y sabiduría por ser persistentes y motivarme a seguir adelante.

Agradezco al proyecto PAPIIT (IY201216) “Desarrollo tecnológico para el aprovechamiento integral de frutas y hortalizas”.



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS .....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
Resumen .....	xi
1. Introducción .....	2
2. Antecedentes .....	5
2.1 Generalidades de la hoja de guayaba .....	5
2.1.1 Origen, Morfología y Taxonomía .....	5
2.1.2 Usos populares de guayaba .....	7
2.1.3 Fitoquímica de hoja de guayaba .....	8
2.2 Extractos vegetales.....	10
2.2.2 Métodos de extracción .....	12
2.3 Recubrimientos comestibles .....	13
2.3.1 Ventajas y desventajas .....	14
2.3.2 Funciones y propiedades .....	15
2.3.3 Componentes de formación.....	17
2.4 Frutos y hortalizas de importancia económica en México .....	20
2.4.1 Problemas postcosecha.....	21
2.4.2 Métodos de conservación .....	24
3. Objetivos .....	26
4. Materiales y métodos.....	28
4.1 Material biológico .....	29
4.2 Obtención del extracto .....	29
4.3 Contenido de quercetina.....	30
4.4 Prueba <i>In vitro</i> .....	31





4.5 Pruebas <i>in vitro</i> con recubrimiento comestible a base de CMC .....	33
4.5.1 Adición al medio.....	33
4.5.2 Película sobre el explante .....	34
4.6 Pruebas <i>in-vivo</i> en Calabacita, Jitomate y Naranja .....	34
4.6.1 Tratamiento de la muestra .....	34
4.6.2 Obtención del inóculo .....	35
4.6.3 Aplicación de recubrimientos comestibles adicionado con extracto de <i>Psidium guajava</i> .....	36
4.7 Técnica analítica .....	36
4.7.1 Parámetros de calidad de los frutos en estudio.....	36
4.7.2 Parámetros fisiológicos de los frutos en estudio .....	38
4.7.3 Efecto antifúngico.....	39
5. Resultados y discusión.....	42
5.1 Cuantificación de quercetina .....	42
5.2 Evaluación de las propiedades antifúngicas del extracto <i>Psidium guajava</i> .....	43
5.3 Evaluación de las propiedades antifúngicas del extracto <i>Psidium guajava</i> con recubrimiento comestible a base de CMC .....	48
5.3.1 Adición al medio.....	48
5.3.2 Película sobre explante.....	51
5.4 Pruebas <i>in vivo</i> en Calabacita, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba .....	53
5.4.1 Parámetros de calidad .....	53
5.4.2 Parámetro fisiológico .....	59
5.4.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad.....	60
5.5 Pruebas <i>in vivo</i> en jitomate, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba .....	64



---

5.5.1 Parámetros de calidad .....	64
5.5.2 Parámetro fisiológico .....	71
5.5.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad.....	72
5.6 Pruebas <i>in vivo</i> en naranja, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba .....	76
5.6.1 Parámetros de calidad .....	76
5.6.2 Parámetro fisiológico .....	81
5.6.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad.....	82
6. Conclusiones .....	88
7. Recomendaciones .....	90
8. Referencias.....	92





## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción morfológica de la guayaba.	6
Tabla 2. Nombres comunes de <i>Psidium guajava</i> .	7
Tabla 3. Productos vegetales utilizados para la obtención de extractos.	10
Tabla 4. Métodos de extracción.	12
Tabla 5. Ventajas y desventajas de RC.	15
Tabla 6. Propiedades de los RC.	16
Tabla 7. Materiales empleados como RC.	17
Tabla 8. Matrices de recubrimientos comestibles a base de CMC.	18
Tabla 9. Aditivos empleados en recubrimientos comestibles.	19
Tabla 10. Hongos causantes de enfermedades postcosecha.	22
Tabla 11. Principales enfermedades presentes en jitomate, naranja y calabacita.	23
Tabla 12. Métodos de conservación de frutos y hortalizas	24
Tabla 13. Lotes de frutos empleados	35
Tabla 14. Volumen y concentración de los inóculos.	36
Tabla 15. Escala de índice de decaimiento.	39
Tabla 16. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo <i>A. alternata</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>P. expansum</i> por la actividad del extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i> a 500, 1000 y 1500 ppm.	47
Tabla 17. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo <i>A. alternata</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>P. expansum</i> por la actividad del extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i> a 500, 1000 ppm y una relación de extracto 25-75 y 50-50 (recubrimiento-PDA).	50
Tabla 18. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo <i>A. alternata</i> , <i>F. oxysporum</i> y <i>P. expansum</i> por la actividad del extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i> a 1000 ppm con película comestible sobre explante.	52
Tabla 19. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en calabacita sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i> e inoculados con <i>A. alternata</i> .	63



Tabla 20. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en jitomate sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *F. oxysporum*. 75

Tabla 21. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en naranja sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *P. expansum*. 85



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución geográfica de <i>Psidium guajava</i> .	5
Figura 2. Estructura química de flavonoides.	9
Figura 3. Quercetina.	9
Figura 4. Exportaciones agroalimentarias mexicanas por grupos arancelarios.	20
Figura 5. Las principales exportaciones mexicanas de los grupos arancelarios legumbre, hortalizas y frutos.	21
Figura 6. Cuadro metodológico	28
Figura 7. Material biológico A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.	29
Figura 8. Diagrama de proceso para la obtención de extractos vegetales.	30
Figura 9. Determinación del contenido de quercetina.	31
Figura 10. Diagrama de la inoculación de los hongos en estudio.	32
Figura 11. Diagrama para la inoculación in vitro de los hongos en estudio.	33
Figura 12. Procedimiento de la preparación del inóculo.	35
Figura 13. Determinación de firmeza A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.	37
Figura 14. Determinación de color A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.	37
Figura 15. Determinación de pérdida de peso A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.	38
Figura 16. Determinación de respiración en naranja.	39
Figura 17. Contenido de quercetina del extracto etanólico de <i>Psidium guajava</i> . Las barras verticales representan $\pm$ desviación estándar. Las letras significan subconjuntos homogéneos para $\alpha = 0.05$ .	43
Figura 18. Resultados de pruebas <i>in vitro</i> contra <i>A. alternata</i> (A), <i>F. oxysporum</i> (B) y <i>P. expansum</i> (C) a tres diferentes concentraciones de extracto <i>Psidium guajava</i> (500, 1000 y 1500 ppm). Las barras verticales representan $\pm$ desviación estándar.	44
Figura 19. Resultados de pruebas <i>in vitro</i> del recubrimiento comestible a base de CMC al 0.5% contra <i>A. alternata</i> (A), <i>F. oxysporum</i> (B) y <i>P. expansum</i> (C) a tres diferentes concentraciones de extracto (500, 1000 y 1500 ppm). Las barras verticales representan $\pm$ desviación estándar.	49



- Figura 20. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de calabacita control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 53
- Figura 21. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en calabacita control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 55
- Figura 22. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de calabacita control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 56
- Figura 23. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de Calabacita. Control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 57
- Figura 24. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de calabacita control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 58
- Figura 25. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 60
- Figura 26. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Incidencia de la enfermedad de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 61
- Figura 27. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Severidad de la enfermedad de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 62
- Figura 28. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 65
- Figura 29. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 66



- Figura 30. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 68
- Figura 31. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 69
- Figura 32. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 70
- Figura 33. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 72
- Figura 34. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en incidencia de la enfermedad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 73
- Figura 35. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en severidad de la enfermedad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 74
- Figura 36. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 76
- Figura 37. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 78
- Figura 38. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 79
- Figura 39. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 80



- Figura 40. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 81
- Figura 41. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 82
- Figura 42. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Incidencia de la enfermedad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 83
- Figura 43. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en severidad de la enfermedad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar. 84



# RESUMEN





## Resumen

El guayabo es un arbusto medicinal cuya actividad antibacteriana y antifúngica de frutos, hojas, corteza y otras de sus partes, se han comprobado farmacológicamente como combatientes de algunas enfermedades, esto se le atribuye a su alto contenido de quercetina. En este trabajo se evaluó el efecto del extracto etanólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) para evaluar el efecto anti fúngico sobre el crecimiento micelial de los hongos *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*, y *Penicillium expansum* por el método de difusión en agar. Las cepas de los hongos en estudio fueron obtenidas del laboratorio de postcosecha y las hojas empleadas fueron obtenidas de Veracruz, México. Los extractos se obtuvieron por el método de extracción asistida por ultrasonido durante un tiempo de 60 minutos utilizando una relación 1:5 de planta y etanol al 70%. Las propiedades anti fúngicas del extracto fueron evaluadas por medio de pruebas *in vitro* empleando diferentes concentraciones (500, 1000 y 1500 ppm). Además se evaluó el efecto antifúngico del envase activo a 1000 ppm. Posteriormente, lotes de calabacita, jitomate y naranja obtenidos del mercado del Carmen, Estado de México fueron seleccionados, lavados, desinfectados y sumergidos en una solución de 0.5% de carboximetilcelulosa (CMC), 0.5% de tween, 1% de glicerol y adicionada con extracto etanólico de *Psidium guajava* a 1000 ppm, a una temperatura de 25°C y un tiempo de inmersión de 4 minutos. Los frutos se almacenaron a una temperatura de 10°C, durante 20 (calabacitas) y 25 (jitomates y naranjas) días. Finalmente se determinaron parámetros de calidad (color, firmeza y pérdida de peso), fisiológicos (tasa de respiración) y microbiológicos (incidencia y severidad de la enfermedad).

El contenido de quercetina en promedio para partícula fina fue de 9.58 mg de quercetina/g de muestra y para partícula gruesa de 9.03 mg de quercetina/g de muestra no se presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto al tiempo de extracción. La concentración de 1000 y 1500 ppm presentaron el 100% de inhibición en los diferentes hongos de estudio, para 500 ppm no se tuvo el mismo efecto en la inhibición de los hongos postcosecha respecto a las otras concentraciones. En la aplicación de la película sobre el explante no se logró inhibir al 100% el crecimiento de los hongos, se tuvo una disminución significativa ( $p \leq 0.05$ ) de *F. oxysporum* y *A. alternata*. Se concluye que la hoja de guayaba a 1000 ppm inhibió al 100% los hongos causantes de enfermedades en calabacita, jitomate y naranja, la

## RESUMEN

---



aplicación en recubrimiento comestible controló la incidencia y la severidad de la enfermedad, en los parámetros de pérdida de peso, firmeza, color y respiración no se pudo observar el efecto inhibitorio al 100%

La aplicación de recubrimiento comestible adicionado con extracto nos sirve como un método de conservación para alargar la vida útil de frutos y hortalizas, podría seguirse estudiando para potencializar y comercializar su uso.



# INTRODUCCIÓN



## 1. Introducción

La guayaba en México se encuentra entre las 20 frutas más importantes que se producen en nuestro país, en los estados de Aguascalientes, Michoacán (quien es el principal productor con el 44% de la producción nacional), Zacatecas, Jalisco, Estado de México entre otros. El valor anual de producción es de 1, 291,957.52 de pesos en todo el país (SIAP, 2014).

Existe un desaprovechamiento en el uso de la hoja de guayaba, la cual tiene compuestos fenólicos abundantes como la quercetina que es un flavonoide que nos ayuda a retirar oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidróxidos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquea el accionar deletéreo (mortífero) de estas sustancias sobre las células y nos ayudan a inhibir el crecimiento de algunos microorganismos (Merck, 2000). Rojas (2004) reporta que las hojas de guayaba son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias patógenas. Estudios anteriores realizados por Lozoya *et al.* (2002) demuestran que sus extractos y aceite esencial poseen actividad antimicrobiana y antiespasmolítica. De esta planta se puede obtener tanto extracto como aceite esencial para emplearlo como un compuesto antifúngico o antimicrobiano y una manera de emplearlo es adicionándolo a recubrimientos comestibles como un método de conservación.

Es por ello que la aplicación de recubrimientos se presenta como un método exitoso para la conservación de frutas, debido a que nos ayudan a extender la vida útil de los productos puesto que la barrera que ellos crean es selectiva a la transmisión de gases, vapor de agua y otros solutos, previniendo así la deshidratación y retardando la maduración. Además los recubrimientos mejoran la calidad y apariencia de los frutos, sirven como vehículo de sustancias interés como vitaminas, antioxidantes así como compuestos con actividad antimicrobiana (Barrera *et al.*, 2012).

Los recubrimientos comestibles surgen como una alternativa para el control de enfermedades, ya que tradicionalmente se han utilizado fungicidas sintéticos los cuales representan un riesgo para el ambiente y la salud llegando a provocar intoxicaciones. El uso continuo de estos productos es cada vez más efectivo, debido a la aparición de cepas



resistentes de hongos; esto ha propiciado la búsqueda de alternativa de conservación, denominadas “biocompatibles” como lo son los recubrimientos (Figuroa *et al.*, 2011).

Nuestro país tiene un lugar importante en el comercio internacional de hortalizas legumbres y frutas: Ocupa el tercer lugar mundial como exportador de legumbres y hortalizas. La calabacita, jitomate y naranja se encuentran dentro de los 20 productos mexicanos de exportación. Existen diferentes problemas en la industria agrícola que nos limita lograr ser el principal exportador de frutos y hortalizas (SIAP, 2014). El principal problema postcosecha de la calabacita es la pudrición negra causada por *A. alternata*, en el jitomate podredumbre blanda causada por *F. oxysporum* así como pudrición por moho gris causada por *Botrytis* y en naranja pudrición verde o azul causada por *P. expansum* (UCDAVIS, 2015).

Por lo anterior mencionado, esta investigación tiene como finalidad evaluar el efecto inhibitorio con tres diferentes concentraciones de extracto de la hoja *Psidium guajava* algunos de los principales hongos causantes de enfermedades postcosecha, los cuales son: *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* para seleccionar la concentración que tenga un mayor porcentaje de inhibición mediante pruebas *in vitro* y aplicarlo a recubrimientos comestibles para alargar la vida útil de calabacita, jitomate y naranja.



# ANTECEDENTES



## 2. Antecedentes

### 2.1 Generalidades de la hoja de guayaba

#### 2.1.1 Origen, Morfología y Taxonomía

*Psidium guajava* es un árbol frutal conocido comúnmente como guayaba, que pertenece a la familia *Myrtaceae*, género *Psidium*, especie *Guajava L.* Es un árbol de hoja perenne o arbusto pequeño de 4 a 10 m de altura, con la corteza lisa, delgada y de color café tiene las hojas duras, más anchas en la punta que la parte central, y por la parte de envés la hoja es vellosa y con sus nervios realzados. Las flores son solitarias, blancas y olorosas, con gran cantidad de estambres. Sus frutos son globosos, con olor fragante y la pulpa de color amarillo o rosa, con numerosas semillas (UDES, 2016).

Es una especie nativa de América Tropical, su origen probablemente está entre México y Perú, que se extiende por toda América del Sur, Europa, África y Asia. Crece en todas las áreas tropicales y subtropicales del mundo (Figura 1), ya que se adapta a diferentes condiciones climáticas, pero predomina en climas secos (SIFUPRO, 2013).

En la Tabla 1 se describen cada una de las partes que componen la hoja de guayaba.



Figura 1. Distribución geográfica de *Psidium guajava*.  
Fuente: Smith *et al.* (2004).





Tabla 1. Descripción morfológica de la guayaba.

Parte de la planta	Descripción
<p><b>Raíz</b></p> 	<p>Sistema radical superficial.</p>
<p><b>Tallo</b></p> 	<p>Al principio es herbáceo, presentando aristas y un color verde, conforme madura se vuelve leñoso es de color café, alcanza alturas entre los 3 y 9 metros, con las prácticas modernas de fruticultura se mantienen la altura entre los 1.5 a 3 metros, con el objeto de facilitar las labores de cultivo. La corteza es delgada y lisa que cuando envejece se desprende en láminas, contiene entre un 13 a 15 % de taninos.</p>
<p><b>Hoja</b></p> 	<p>Copa irregular. Hojas decusadas simples; láminas de 3 a 13.5 cm de largo por 1.5 a 6 cm de ancho, oblanceoladas, oblongas o elípticas, margen entero; verde brillantes a verde parduscas; abundantes puntos glandulosos transparentes en la lámina; hojas fragantes cuando se estrujan.</p>
<p><b>Flores</b></p> 	<p>Son flores hermafroditas reunidas en inflorescencias racimosas la liberación de polen inicia antes de que la flor se abra, lo que provoca una autopolinización de 26%, el resto es por polinización cruzada, principalmente por abejas.</p>
<p><b>Fruto</b></p> 	<p>Es una baya, que según la variedad puede ser redondo o en forma de pera, cáscara de color verde amarillo a amarillo rosado, pulpa de color blanco, amarilla o rosada, pesan entre 50 gramos hasta 1,000 gramos. Por su tasa de respiración se clasifica como un fruto climatérico.</p>

Fuente: Herbario digital (2016) y CONABIO (2015).

De acuerdo a Argueta y Cano (1994) en varias regiones de nuestro país se le conoce a la guayaba de diferente manera. Entre los nombres más comúnmente utilizados se encuentran los siguientes: Guava, guayabilla, guayabilla cimarrona, guayabo, guayabo morado, hojas de guayaba, palo de guayabo blanco.

Y en los diferentes estados de la República Mexicana los habitantes la conocen con distinto nombre, pero conocen sus importantes propiedades que nos ofrecen. A continuación se



muestra la Tabla 2 donde se describen los nombres más comunes de como se le conoce a la guayaba en algunos estados. En náhuatl significa arena agria.

Tabla 2. Nombres comunes de *Psidium guajava*.

Estado	Nombre común
<b>Chiapas</b>	Pata, pocs-cuy, potoj, pox, sumbadam
<b>Guerrero</b>	Xaxokotl (náhuatl), xoxolcatl
<b>Hidalgo</b>	Xalxocotl
<b>Veracruz</b>	Asiwit, cuympatan, patan, pitchcuuy
<b>San Luis Potosí</b>	Bek (tenek)
<b>Puebla</b>	Asiuit o asiwit (totonaco) xocoyot

Fuente: Rojas (2004).

### 2.1.2 Usos populares de guayaba

El fruto de este árbol tiene propiedades digestivas, por esto se recomienda a las personas que padecen de estreñimiento o digestiones lentas lo consuman de manera regular. Ayuda a reducir los niveles de colesterol en la sangre y estimula la realización de los procesos digestivos, es considerado como un depurativo del organismo. La guayaba tiene propiedades sedantes, por lo que puede ser utilizada para reducir los niveles de ansiedad, el nerviosismo y para el tratamiento del insomnio. Una de las mejores formas de utilizar esta propiedad, es mediante la ingesta de un zumo de guayaba. El fruto tiene propiedades expectorantes, por lo que se recomienda su consumo para el tratamiento de enfermedades como la bronquitis, faringitis o los resfriados comunes, además ayuda a reducir la tos. La corteza del guayabero tiene propiedades que ayudarían a tratar la anemia y el cansancio muscular crónico. Una buena forma de utilizar esta propiedad, es mediante la ingesta de una infusión (Olguín, 2016).

Las raíces, corteza, hojas y frutos inmaduros, por su astringencia, son comúnmente empleados para poner fin a la gastroenteritis, la diarrea y la disentería a lo largo de los trópicos. Hojas trituradas se aplican en las heridas, úlceras y articulaciones reumáticas, y las hojas se mastican para aliviar el dolor de muelas. La decocción de hojas se toma como un remedio para la tos, la garganta y las dolencias pecho, gárgaras para aliviar las úlceras orales y encías inflamadas, y también como vermífugo y emenagogo, y para el tratamiento de leucorrea. Ha sido eficaz en detener el vómito y la diarrea en los pacientes de cólera. También se aplica en enfermedades de la piel. Una decocción de los brotes nuevos se toma



como febrífugo. La infusión de hojas se prescribe en la India en las enfermedades cerebrales, nefritis y caquexia. (EcuRed, 2015).

### 2.1.3 Fitoquímica de hoja de guayaba

Las hojas de guayaba son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por bacterias patógenas. Existen algunos estudios farmacológicos y toxicológicos con esta planta, en los cuales se encuentran la actividad antibacteriana de las hojas de los extractos acuosos, salinos e hidroalcohólicos, frente a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhosa*, *Sarcina lutea*, *Neisseria gonorrhoea* y extractos metanólicos frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes* (Rojas, 2004).

Investigaciones previas han demostrado la presencia de ceras, resinas, azúcares, aceites esenciales,  $\beta$ -sitosterol, y una mezcla de cuatro ácidos triterpenoides. En diferentes partes de la planta se han identificado varios terpenoides, flavonoides y taninos así como la presencia de quercetina y dos isómeros 3- $\alpha$ -arabinósidos: avicularina y guaijaverina (Begum *et al.*, 2002).

Los flavonoides (Figura 2) derivan de la ruta de malonato y shikimato, emergiendo para ser importantes compuestos en la defensa y sobrevivencia de las plantas. Flavonoides como naringenina, flavona y flavonol, incluyendo kaemferol, morina y quercetina constituyendo un amplio grupo de metabolitos secundarios han sido reportados con actividades antibacterianas de las hojas de *Psidium guajava*. La guayaba posee una lista grande de flavonoides como: B<sub>1</sub>, psidina A, psidina B, psidina C, psiguavona, guajavina B, eugenigrandina A, guajavina A, guavina A, guavina C, guavina D, quercetina-3-arabonósido, quercetina-4-O- $\beta$ -glucósido. Las hojas contienen un aceite esencial rico en cariofileno, nerodiol, 3-bisabolenol, aromandreno y para-sileno. También se ha detectado  $\beta$ -sitosterol, los triterpenoides derivados del ácido elágico y los flavonoides quercetina y quercetín-3-arabinósido. También se ha encontrado una lista de triterpenoides entre los que se encuentran: ácido guajavanoico, obtusinina, ácido gorenshico, guajavolide, ácidos guavenoico, aoleanólico, guavanoico, entre otros. Algunos terpenoides presentes en la hoja de guayaba son: cariofileno, limoneno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -Sitosterol, entre otros (Rojas, 2004).

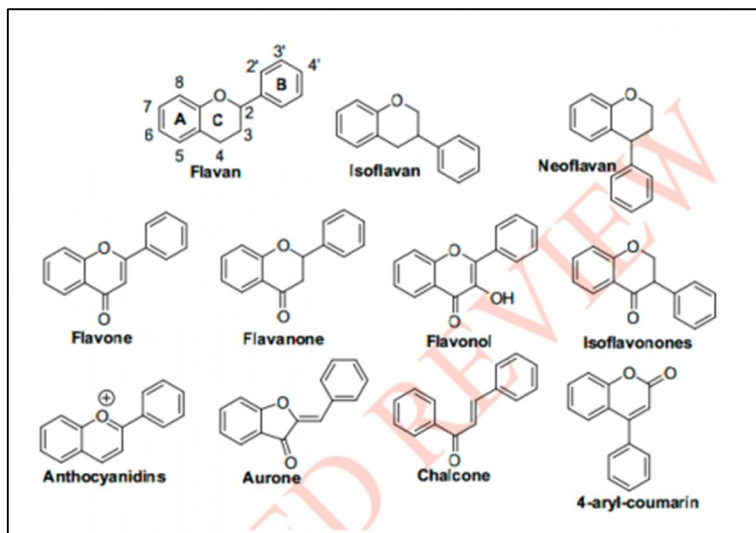


Figura 2. Estructura química de flavonoides.

Fuente: Barbosa (2006).

A continuación se muestra la estructura química de la quercetina (Figura 3) que es un flavonoide que le proporciona las propiedades antimicrobianas a la guayaba, además de varios glicósidos de flavonoides que se encuentran en mayor proporción en las hojas *Psidium guajava*.

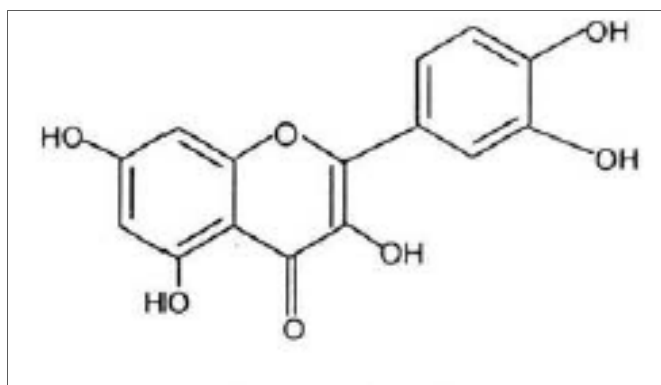


Figura 3. Quercetina.

Fuente: Merck (2000).

La quercetina influye sobre las fibras del músculo liso como agente antagonista de calcio. En nuestros alimentos, esta usualmente glicosilada, unida a glucosa y rutinosa. Entre las principales virtudes de la quercetina destaca su poder removedor sobre los radicales libres, ejerciendo un papel citoprotector en situaciones de peligro de daño celular. Su capacidad antioxidante medida como trolox es de 4.7 mM, lo que equivale a 5 veces mayor al demostrado por las vitaminas E y C. Su hidrosolubilidad es análoga a la de la vitamina E.



En términos bioquímicos, la razón de la constante reacción química de la quercetina con el oxígeno es de  $8.9 \times 10^5$ , siendo la razón de constante fisicoquímica de oxígeno de  $1.5 \times 10^6$ . La quercetina retira oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidróxidos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquea el accionar mortífero (deletéreo) de estas sustancias sobre las células de los microorganismos compuestos que tienen los extractos vegetales (Merck, 2000).

## 2.2 Extractos vegetales

El extracto vegetal se define como un concentrado obtenido a partir de las plantas o parte de ellas (frescas o secas) con solventes apropiados tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes con varios procedimientos (Lizcano-Ramón y Vergara-González, 2008).

Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos (Pérez, 2013).

En México a algunas plantas se les ha atribuido como medicinales ya que gracias a sus compuestos activos han dado solución a diferentes enfermedades que padece el ser humano. A esto también se le agrega que con las diferentes tecnologías se ha ido investigando sobre la extracción de estos compuestos en las plantas ya que poseen un poder antimicrobiano que permite inhibir el crecimiento de algunas bacterias y hongos como se puede observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Productos vegetales utilizados para la obtención de extractos.





Planta	Aplicaciones	Composición química	Principales componentes	Referencia
<b>Orégano (<i>Lippia vulgare</i>)</b> 	Tiene usos medicinales, culinarios y cosméticos. Tiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como <i>salmonella</i> .	Flavonoides, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano.	Limoneno, b – cariofileno, r – cimeno, canfor, linalol, a – pineno y timol.	Arcila-Lozano (2009).



Tabla 4. Productos vegetales utilizados para la obtención de extractos (continuación).

<p>Ruda (<i>Ruta graveolens</i>)</p> 	<p>Es empleada para combatir enfermedades cardiovasculares, cancerígenas, y actividades antiinflamatorias así como microbianas.</p>	<p>Un aceite esencial y un glucósido flavónico. También posee vitamina C.</p>	<p>Metilheptilcetona y metilhonilcetona y rutina.</p>	<p>Lozoya <i>et al.</i> (2002)</p>
<p><b>Hierbabuena</b> (<i>menta piperita</i>)</p> 	<p>En infusión favorece las digestiones lentas, las inflamaciones del hígado y vesícula, los gases intestinales y alivia los mareos, alivia el dolor de estómago.</p>	<p>Aceite esencial, taninos y terpenos.</p>	<p>Carvona, mentona, cineol, piperitona, felandreno y limoleno.</p>	<p>De la torre (2014)</p>
<p><b>Manzanilla</b> (<i>Sistus ladanifer</i>)</p> 	<p>Se ha confirmado experimentalmente que los extractos acuosos de las partes aéreas y la flor y extracto etanólico y el aceite esencial de la flor, ejercen actividad antibiótica. Los microorganismos susceptibles son: <i>Bacillus subtilis</i>, <i>E. coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, entre otros.</p>	<p>Aceite esencial, flavonoides y cumarinas.</p>	<p>Chamazuleno, bisabolol, dicloroeter pohiínico, luteolol, apigenol, quercetol, hernianina y umbeliferona.</p>	<p>Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana (2009)</p>

La obtención de los extractos vegetales y el estudio de sus compuestos activos propician su empleo contra diferentes fitopatógenos. En condiciones *in vitro* los extractos inhiben el crecimiento del patógeno, así como la esporulación y germinación de esporas, de modo que ayudan a controlar las enfermedades de frutos y hortalizas. *In vivo*, el efecto fungicida de los extractos vegetales varía en función de la metodología de preparación (solvente, seco, fresco, tiempo de almacenamiento, etc.), especie botánica, órgano de la planta (raíces, hojas, semillas, etc.), fecha de cosecha, etc. Sin embargo, la combinación de los extractos vegetales con algún otro compuesto natural puede potenciar su actividad fungicida (Hernández *et al.*, 2007).





Diversos productos derivados de las plantas han mostrado un efecto antimicrobiano. Entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lecitinas y polipéptidos. Sus mecanismos de acción son variables; por ejemplo, la toxicidad de los fenoles en microorganismos se atribuye a inhibición enzimática por oxidación de compuestos. El modo de acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido dilucidado por completo, pero se postula que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se ha postulado que se intercalan con el DNA, y de las lecitinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Cowan, 1999).

## 2.2.2 Métodos de extracción

Existen diferentes métodos de extracción empleados para la obtención de extractos vegetales los cuales se describen en la Tabla 4.

Tabla 5. Métodos de extracción.

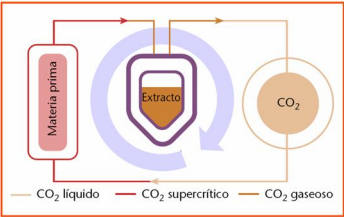




Método de extracción	Descripción
<p><b>Extracción por fluidos supercríticos</b></p> 	<p>Utiliza gases como CO<sub>2</sub> a elevada presión, en estado líquido o supercrítico, en lugar de disolventes clorados, que producen residuos tóxicos. El principal inconveniente es el tiempo de extracción, que es generalmente largo, en algunos casos se puede llegar a tardar 24 horas.</p>
<p><b>Extracción por solución</b></p> 	<p>Se lleva a cabo con disolventes orgánicos que penetran en el material vegetal y disuelven las sustancias, que son evaporadas y concentradas a bajas temperaturas</p>
<p><b>Extracción sólido-líquido</b></p> 	<p>La muestra sólida se pulveriza y después se extraen los analitos mediante un disolvente en el que sea muy soluble, que los diferencie de las sustancias presentes en la matriz, que han de ser muy insolubles en ese disolvente. Normalmente se somete a centrifugación tras la extracción para eliminar los sólidos que hayan podido quedar.</p>





Tabla 6. Métodos de extracción (continuación).

<p><b>Extracción por centrifugación</b></p> 	<p>Al no ser un proceso térmico, sus propiedades son más estables, por los antioxidantes naturales presentes. Aun así la fracción interna de la materia prima provoca un aumento de la temperatura no controlable, que puede implicar una degradación térmica y un oscurecimiento del extracto.</p>
<p><b>Extracción asistida por ultrasonido</b></p> 	<p>La extracción asistida por ultrasonido utiliza sonidos de alta frecuencia con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida solvente. Dicha técnica es la más económica entre las últimas técnicas de extracción desarrolladas.</p>

Fuente: Azuola y Vargas (2007).

Los extractos vegetales tienen distintos compuestos activos que tienen un alto poder antifúngico y antimicrobiano que pueden ser adicionados a los recubrimientos comestibles como un método de conservación.

### 2.3 Recubrimientos comestibles

La película comestible (PC) o recubrimiento comestible (RC) consiste en una capa delgada que se pre-forma o se forma sobre la superficie del alimento a manera de cubierta como protección de los productos vegetales (Del Valle *et al.*, 2005).

En la actualidad, debido al crecimiento de la producción sustentable se busca que los materiales con los que se fabrican los envases tengan el menor impacto posible sobre el medio ambiente. En el área de los alimentos estos polímeros se aplican en la fabricación de empaques biodegradables (mono y multicapa), empaques activos, PC y RC sobre frutas, carnes, pescados y otros alimentos. Entre estas aplicaciones se destaca la tecnología de PC y RC ya que cumple con las exigencias de los consumidores actuales: productos saludables, mínimamente procesados, sin agregado de agentes químicos, y de producción sustentable. Siendo por lo tanto una de las alternativas con más futuro en el campo del envasado y conservación de alimentos. Una funcionalidad importante de los recubrimientos comestibles es su habilidad para incorporar ingredientes activos, ya que pueden servir como soporte de aditivos capaces de conservar y mejorar la calidad del producto. Es posible



utilizarlos, por ejemplo, en frutas frescas cortadas para mejorar su calidad y vida útil con la incorporación de antioxidantes, antimicrobianos, mejoradores de textura. Asimismo se pueden utilizar como alternativa a la aplicación de antimicrobianos por el método de inmersión, técnica que provocaba difusión de los agentes antimicrobianos hacia el interior del producto causando pérdida de efectividad de dichos agentes por no alcanzarse la concentración mínima necesaria para la inhibición del desarrollo de microorganismos (Parzanese, 2010).

El mecanismo por el cual conservan la calidad de los productos es debido a que constituyen una barrera semipermeable a los gases y al vapor de agua que retrasa su deterioro (Krochta y Mulder-Johnston, 1997), controlan la respiración y la senescencia de forma similar a las atmósferas modificadas, mejoran las propiedades sensoriales, ayudan a mantener la integridad estructural del producto que envuelven, a retener compuestos volátiles y también pueden actuar como vehículo de aditivos alimentarios (Tanada y Grosso, 2005). Entre los compuestos hidrocoloides más estudiados se encuentran los almidones de diferentes fuentes como trigo, maíz, yuca y papa, obteniendo con este último, películas con buenas propiedades de flexibilidad y permeabilidad al vapor de agua; en el caso de las proteínas, la de soya ha sido la más utilizada por su excelente capacidad para formar películas y por sus buenas propiedades de barrera frente al oxígeno en humedades relativamente bajas (Parra *et al.*, 2004).

### **2.3.1 Ventajas y desventajas**

Los estudios realizados por Acosta *et al.*, 2013 nos muestran que los recubrimientos comestibles presentan grandes beneficios reflejados en la conservación de los alimentos, así como ventajas a nivel de comercialización e incluso ambiental, es por ello que encontrar nuevas materias primas renovables es un punto de gran interés dentro del enfoque alimentario. En la Tabla 5 se presentan las ventajas y desventajas de emplear recubrimientos comestibles como método de conservación en frutos y hortalizas.



Tabla 7. Ventajas y desventajas de los recubrimientos comestibles.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
<ul style="list-style-type: none"> <li>♣ Pueden ser ingeridos por los consumidores.</li> <li>♣ Disminuyen los desechos de envasado.</li> <li>♣ Regulan el intercambio de gases como O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> y de vapor de agua.</li> <li>♣ Mejoran las propiedades mecánicas y preservan la textura.</li> <li>♣ Prolongan la vida útil de alimentos mínimamente procesados a través del control sobre el desarrollo de microorganismos y de los cambios fisicoquímicos y fisiológicos.</li> <li>♣ Pueden mejorar las características nutricionales y organolépticas.</li> <li>♣ Pueden regular distintas condiciones de interfase o superficiales del alimento, a través del agregado de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos, nutrientes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♣ Desarrollo de sabores y olores desagradables como resultado de la inducción de anaerobiosis.</li> <li>♣ La cubierta se vuelve quebradiza proporcionando un aspecto desagradable a la superficie del producto.</li> <li>♣ Presencia de grietas o manchas que afectan la aceptación por el consumidor.</li> <li>♣ Métodos de aplicación</li> </ul>

Fuente: Parzanese (2010), Bósquez (2003), Márquez *et al.* (2009).

Los recubrimientos comestibles tienen diferentes funciones y propiedades de acuerdo al empleo que se les va a brindar.

### 2.3.2 Funciones y propiedades

Los recubrimientos se han desarrollado con el fin de extender la vida útil de los productos alimenticios, usarse como soporte de agentes antimicrobianos, antioxidantes o nutrientes para hacer más lenta la migración de humedad, lípidos o el transporte de gases solutos. Se consideran una tecnología relativamente nueva que se ha comenzado a emplear en la industria de alimentos en forma de finas capas mediante inmersión, aspersion, pulverizado o envolturas y el método depende de las propiedades reológicas de las películas y la superficie de los frutos. Cabe resaltar que la divergencia en la aplicación de los recubrimientos comestibles es un factor limitante para el desarrollo e implantación de esta tecnología postcosecha. Las propiedades que tienen estos recubrimientos se muestran en la Tabla 6 (Figuerola *et al.*, 2011).



Tabla 8. Propiedades de los RC.

Propiedad	Parámetro	Descripción
Física	Color, luminosidad, transparencia, espesor, textura. Proveer integridad estructural a los alimentos.	<p><b>Color.</b> Proporciona al fruto una mejora en parámetros como croma y grados hue relacionados directamente con el color, proporcionando un atractivo visual más significativo.</p> <p><b>Luminosidad.</b> Incrementa o disminuye (de acuerdo a las características del fruto) la claridad u oscuridad del color en la superficie del fruto.</p> <p><b>Transparencia.</b> El recubrimiento debe permitir una transmisión de luz considerable para no afectar la luminosidad y por consecuencia color del fruto, ocasionando la pérdida de un parámetro fundamental para el consumidor.</p> <p><b>Integridad estructural.</b> Los recubrimientos proporcionan mayor firmeza en la mayoría de los frutos ocasionando una vida de anaquel más larga.</p>
Barrera	Transporte de gases (O <sub>2</sub> y CO <sub>2</sub> ) Transporte al vapor de agua.	<p><b>Transporte de gases.</b> Este parámetro es de los más importantes en recubrimientos, ya que afecta la respiración de los frutos (dependiendo de la naturaleza de los mismos, climatérico o no climatérico) la finalidad es retardar la maduración para provocar una vida de anaquel mayor.</p> <p><b>Transporte al vapor de agua.</b> Debido a que el principal problema en frutos es la presencia de hongos y que a su vez estos necesitan elevadas humedades relativas para crecer. En general se requiere que el RC sea poco permeable al vapor de agua evitando así la producción de microorganismos.</p>
Transporte	Reducción de la migración de grasas. Reducción del transporte de solutos. Reducción de la pérdida de humedad. Retención de componentes volátiles.	Se busca que el fruto no pierda propiedades naturales importantes que puedan afectar su composición nutricional, calidad o incluso sensorial.
Mecánica	Adhesividad, elasticidad, resistencia a la ruptura.	<p><b>Adhesividad.</b> Se debe sujetar a la superficie del fruto, esto se logra con una adecuada formulación y considerando las características propias del fruto.</p> <p><b>Elasticidad.</b> El recubrimiento debe soportar el manejo al que se somete el fruto, básicamente no debe romperse durante la vida útil del fruto.</p>

Fuente: Bósquez (2003).



## 2.3.3 Componentes de formación

Las películas y recubrimientos comestibles se han clasificado en base al material estructural del cual están conformados los cuales se basan en diferentes tipos de materiales para lograr formar una matriz.

### 2.3.3.1 Matriz

Los RC se han clasificado en base al material estructural principalmente son proteínas, lípidos, carbohidratos o compuestos. Una película compuesta consiste en lípidos e hidrocoloides combinados para formar una bicapa o un conglomerado. En estudios recientes las tecnologías de RC y biodegradables contemplan la producción de RC mediante la combinación de diversos polisacáridos, proteínas y lípidos, con la tarea de aprovechar las propiedades de cada compuesto y la sinergia entre los componentes implementados, ya que las propiedades físicas y de barrera dependen de los compuestos que integran la matriz polimérica y de su compatibilidad (Quintero y Muñoz, 2010).

Los recubrimientos comestibles se elaboran a partir de proteínas, polisacáridos y lípidos, ya sea como componentes únicos o combinados, por su naturaleza hidrofóbica los recubrimientos a base de lípidos son muy eficientes para reducir la deshidratación de los productos (Kester y Fennema, 1986). A continuación en la Tabla 7 se muestran algunos materiales como proteínas, polisacáridos y lípidos que han sido objeto de investigación como matrices de películas y recubrimientos comestibles.

Tabla 9. Materiales empleados como RC.

Materia	Características	Ejemplos
<b>Hidrocoloide Proteína</b>	Excelentes propiedades físicas y estructurales, pobre capacidad de barrera frente a la humedad. Flexibles suaves, transparentes, sin sabor y olor.	Gelatina, Caseína, Ovoalbúmina, Gluten
<b>Hidrocoloide Polisacáridos</b>	Excelentes propiedades físicas y estructurales, pobre capacidad de barrera frente a la humedad. Flexibles, suaves, transparentes, sin sabor y olor, claras, buena adhesión.	CMC, Maltodextrina, Goma arábica, Alginato de sodio, Pectinas
<b>Lípidos</b>	Excelentes propiedades de barrera frente a la humedad debido a sus propiedades hidrofóbicas. Pobre resistencia mecánica. Poco flexible, suave, opaca, olor y sabor a cera.	Cera de carnauba, Cera de abeja, Cera de candelilla, Ácidos grasos

Fuente: Quintero y Muñoz (2010) y Pastor (2010).



La CMC tiene uso y aplicaciones en industria de alimentos (formador de geles, espesante, agente suspensor, coloide protector) farmacéuticas (formador de geles), cementeras (estabilizador y agente hidrofílico), textiles, adhesivas, pesticidas (agente suspensor y pegamento), detergentes (inhibidor de redeposición de grasa en telas), papelería (dispersante, recubrimiento que mejora el brillo del papel, mayor suavidad y resistencia a la grasa y como aglutinante en cerámicas. La disponibilidad es amplia y el precio oscila aproximadamente de \$63.16 por 250 g (Cosmopolita, 2012).

En la Tabla 8 se muestran algunos ejemplos de la aplicación de recubrimientos comestibles a base de CMC principalmente para la conservación de frutos y hortalizas.

Tabla 10. Matrices de recubrimientos comestibles a base de CMC.

Producto	Compuesto del recubrimiento	Funcionalidad del recubrimiento	Referencia
Frutos	Goma arábica- CMC y glicerol	Conservar frutas en atmosferas modificadas	Castillo-Merino <i>et al.</i> , 2008
Pimientos verdes ( <i>Capsicum annuum L.</i> )	CMC y ácido esteárico	Efecto sobre la calidad sensorial durante el almacenamiento	Cisneros-Zevallos <i>et al.</i> , 2002
Papaya `maradol`	CMC , glicerol, tween 80 y aceite esencial de orégano	Conservación	Pontigo-Suarez <i>et al.</i> , 2015
Guayaba	CMC-gelatina	Caracterización y aplicación para la conservación	Aguilar-Mendez <i>et al.</i> , 2012
Caseinato de sodio, CMC y quitosan	Olorresinas de áandano rojo común, romero, ajo, ají cebolla de bulbo, olivo y orégano	Calabaza o auyana( <i>Cucurbita moschata Duch</i> )	Ponce <i>et al.</i> , 2008

Los recubrimientos comestibles no solo tienen matriz si no también pueden ser elaboradas con la adición de algunos aditivos como componentes minoritarios.

### 2.3.3.2 Aditivos

Los aditivos en los RC son todos aquellos materiales que se pueden incorporar en la formulación de éstas, la falta de cohesividad e integridad estructural hace que presenten propiedades mecánicas formando recubrimientos quebradizos, razón que lleva a la



utilización de aditivos, como plastificantes, que tienen como objetivo mejorar la flexibilidad de los recubrimientos, haciéndolos menos frágiles; emulsificantes, que favorecen la dispersión del lípido en la matriz Hidrocoloide y forman una capa continua en la superficie del mismo los cuales van a tener una influencia en las propiedades de barrera, mecánicas, de transporte, así como efectos en su funcionalidad protectora y sensorial. (Cisneros y Krochta, 2002). En la Tabla 9 se muestran algunos de los aditivos empleados en distintas formulaciones de algunos recubrimientos comestibles.

Tabla 11. Aditivos empleados en recubrimientos comestibles.

Aditivo	Características	Ejemplos
<b>Plastificantes</b>	Es un alcohol con tres grupos hidroxilos. Principal producto de la degradación digestiva de los lípidos. Se presenta en forma de líquido a una temperatura ambiental de 25°C y es higroscópico e inodoro, posee un coeficiente de viscosidad alto y tiene un sabor dulce como otros polialcoholes. Se emplea en la elaboración de productos de extracto de té, café jengibre y otros vegetales; fabricación de refrescos; aditivo (tipo tensoactivo comestible) para mejorar la calidad del producto	Glicerol Manitol
<b>Emulsificante</b>	Son moléculas superficialmente activas que se absorben en la superficie de las gotas, formando una membrana protectora que retarda la aproximación de las gotas y su agregación, fomenta la formación de la emulsión y estabilización a corto plazo por acción interfacial.	Lecitina de soya, polisorbatos, monoglicéridos, proteínas de huevo y leche
<b>Surfactante</b>	Los ésteres de sorbitan y de polioxoetileno reciben el nombre de polisorbatos y se conocen bajo la marca comercial de Tween; son mezclas de esterres de ácidos grasos con sorbitol y su anhídrido y se obtienen condensando 20 moles de óxido de etileno por mol de sorbitol.	Tween 80 Tween 60
<b>Agentes microbianos</b>	Productos de composición general muy complejos que contienen los principales agentes volátiles que se encuentran en los vegetales de forma natural y que han sido más o menos modificados durante su preparación	Extractos etanólicos Aceites esenciales (canela, clavo, pimienta, orégano, hoja sen, etc.)
<b>Antioxidantes</b>	Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células	Aceites esenciales (naranja, limón, uva, cebolla)

Fuente: Habig y Krochta (1994); Ruíz (2004); González (2010).





Con lo anterior mencionado se demuestra que los recubrimientos comestibles tienen un amplio uso en frutos y hortalizas como un método de conservación.

## 2.4 Frutos y hortalizas de importancia económica en México

De acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2014), en los últimos cinco años México ha exportado un promedio de 10.4 miles de millones de dólares en productos agroalimentarios. De ellos, alrededor de dos terceras partes corresponden a hortalizas, legumbres y frutos comestibles. Como se puede observar (Figura 4) el 39.3% de legumbres y hortalizas son exportadas a diferentes partes del mundo entre los países de destino se encuentran Estados Unidos y Canadá.

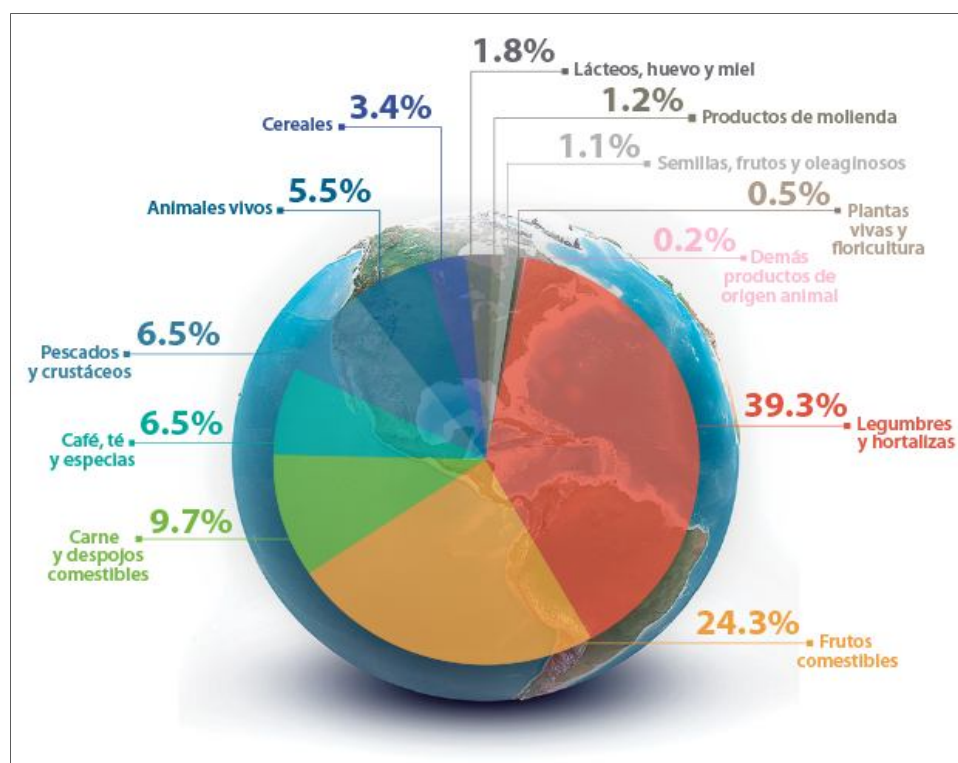


Figura 4. Exportaciones agroalimentarias mexicanas por grupos arancelarios.  
Fuente: SIAP (2014).

Nuestro país tiene un lugar importante en el comercio internacional de hortalizas legumbres y frutas: Ocupa el tercer lugar mundial como exportador de legumbres y hortalizas, después de China y España, y aporta una de cada diez toneladas comercializadas en el mundo. Es el octavo exportador de frutos comestibles. Veinte productos mexicanos de exportación se



encuentran en uno de los tres primeros lugares mundiales, y representan 80% de las ventas que hacemos al exterior (Figura 5).

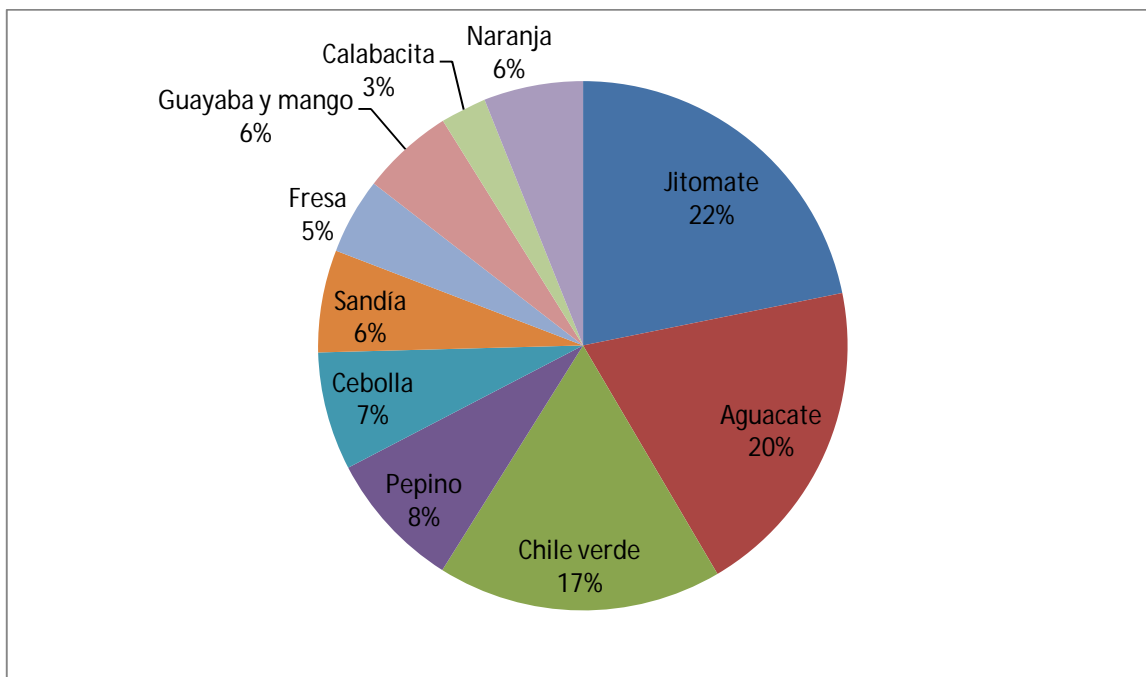


Figura 5. Las principales exportaciones mexicanas de los grupos arancelarios legumbre, hortalizas y frutos.

Fuente: SIAP (2014).

México es líder en producción de cítricos, al ubicarse como el quinto productor a nivel mundial (4.6% del total) detrás de China (21%), Brasil (18%), Estados Unidos (8%) y la India (6%). La citricultura en México es una actividad de gran importancia económica y social (SAGARPA, 2012).

Existen diferentes problemas en la industria agrícola que nos limita lograr ser el principal exportador de frutos y hortalizas los cuales tienen solución por medio de aplicaciones tecnológicas.

### 2.4.1 Problemas postcosecha

Las pérdidas postcosecha ocurren en cualquier etapa del proceso de mercadeo, se pueden iniciar durante la cosecha, después durante el acopio, distribución y finalmente cuando el consumidor compra y utiliza el producto (Castellano, 2005). Las frutas y hortalizas frescas reciben el nombre de productos perecibles porque tienen una tendencia inherente a deteriorarse por razones fisiológicas, biológicas y microbiológicas: por la invasión de

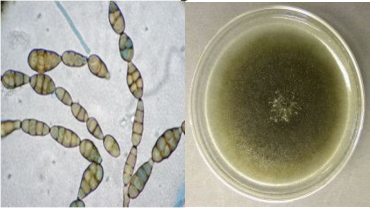

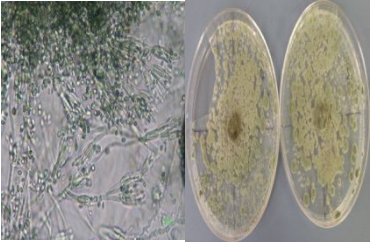


plagas, infecciones y enfermedades, Químicas y bioquímicas: por la contaminación con pesticidas y productos químicos, toxinas y sabores desagradables producidos por enfermedades (FAO, 2014).

## 2.4.1.1 Enfermedades postcosecha

En la Tabla 10 se muestran las principales enfermedades causadas por hongos postcosecha

Tabla 12. Hongos causantes de enfermedades postcosecha.




Enfermedad	Agente causal	Síntoma
<b>Pudrición negra</b> 	<i>A. alternata</i> Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo.	Colonias de crecimiento rápido, vellosas al principio de color gris, después el centro se oscurece (tonos negros más o menos intensos) pero los bordes siguen siendo grisáceos. Reverso de color negro.
<b>Podredumbre blanda</b> 	<i>F. oxysporum</i> Se presenta como saprófito en el suelo, o como patógeno especializado según la planta hospedante.	Micelio blanquesino o rosado
<b>Pudrición causada por moho verde o azul</b> 	<i>P. expansum</i> Hongo filamentoso que presenta conidióforos tabicados de pared lisa ramificado al final, con métulas y fiálides en forma de botella, donde nacen conidios lisos, elipsoidales azules o verde-azulados en cadenas, sin ramificar, con un penacho o pincel característico.	Colonias de crecimiento rápido, vellosas, aterciopeladas, verdosas con una corona radial ancha y blanca. Puede haber gotas de exudado sobre la superficie de la colonia. Reverso habitualmente amarillento o cremoso. Esporulación abundante.

Fuente: Micol (2002).



Las principales enfermedades en jitomate, naranja y calabacita se muestran en la Tabla 11.

Tabla 13. Principales enfermedades presentes en jitomate, naranja y calabacita.

Enfermedad	Agente	Enfermedad	Control
<b>Jitomate</b>			
	<i>Alternaria</i>	Pudrición negra	La atmósfera controlada puede ser efectiva para retrasar el crecimiento fungal en la cicatriz del pedúnculo y en la superficie del fruto
	<i>Botrytis</i>	Pudrición por moho gris	
	<i>Geotrichum</i>	Pudrición ácida	
	<i>Rhizopus</i>	Pudrición algodonosa	
	<i>Erwina spp</i>	Pudrición blanda	
<b>Naranja</b>			
	<i>Botrytis</i>	Pudrición moho gris	Se pueden controlar sin dañar a los frutos, mediante inmersiones de los chiles en agua caliente (55°C) durante 4 minutos.
	<i>Alternaria</i>	Pudrición negra	
	<i>Erwina spp</i>	Pudrición bacteriana blanda	Agua de lavado limpia y desinfectada.
<b>Calabacita</b>			
	<i>Alternaria alternata</i>	Pudrición negra	Pueden mantener una mejor calidad durante períodos de almacenamiento de 10 a 14 días y a temperaturas ligeramente mayores (7.2°C); 95% HR
	<i>Colletotrichum spp</i>	Antracnosis	
	<i>Erwina</i>	Pudrición bacteriana	
	<i>Cladosporium</i>	Roña	
	<i>Pythium</i>	Exudado algodonoso	
	<i>Didymella</i>	Pudrición negra	
	<i>Rhizopus</i>	Pudrición blanda	

Fuente: UC-DAVIS (2014).



## 2.4.2 Métodos de conservación

Conservar los alimentos consiste en bloquear la acción de los agentes (microorganismos o enzimas) que puedan alterar sus características originarias (propiedades físicas, químicas, organolépticas, fisicoquímicas, entre otras). Estos agentes pueden ser ajenos a los alimentos (microorganismos del entorno como bacterias, mohos y levaduras) o estar en su interior, como las enzimas naturales presentes en ellos. Los métodos de conservación nos permiten alargar la vida útil de los frutos y hortalizas sin deteriorar las cualidades físicas y organolépticas minimizando el uso de aditivos. Los principales métodos de conservación (Tabla 12) son: aplicación de frío, aplicación de calor, atmosferas controladas, atmosferas modificadas y recubrimientos comestibles (Sugasti, 2012).

Tabla 14. Métodos de conservación de frutos y hortalizas

Método de conservación	Características	Referencia
<b>Aplicación de frío</b>	Consiste en la conservación de los productos a bajas temperaturas. De esta forma se consigue que el valor nutricional y las características organolépticas casi no se diferencien de las de los productos al inicio de su almacenaje. Es por esta razón que los productos frescos refrigerados son considerados por los consumidores como alimentos saludables.	Umaña, 2014
<b>Aplicación de calor</b>	El objetivo principal del tratamiento térmico es eliminar e inhibir, de forma parcial o total, las enzimas y microorganismos que pueden alterar el alimento. En este tratamiento juega un papel importante el binomio tiempo y temperatura.	Chavarrías, 2013
<b>Atmosferas controladas</b>	Es una técnica de conservación que reduce los niveles de oxígeno y aumenta los niveles de CO <sub>2</sub> . En condiciones de Atmósfera Controlada, se mantienen la calidad sin necesidad de utilizar productos químicos.	Cartagena y Ospinas (2008)
<b>Atmosferas modificadas</b>	Consiste en empacar los productos alimenticios en materiales con barrera a la difusión de los gases, en los cuales el ambiente gaseoso ha sido modificado para disminuir el grado de respiración, reducir el crecimiento microbiano y retrasar el deterioro enzimático con el propósito de alargar la vida útil del producto.	
<b>Recubrimientos comestibles</b>	Actúan como una barrera contra la humedad. Presentan permeabilidad a gases, disminuye la respiración y evita pérdida de compuestos volátiles y retarda la oxidación enzimática	Guerrero-Beltrán y Vázquez-Briones (2013).





# OBJETIVOS



## 3. Objetivos

### Objetivo general

Proponer una aplicación tecnológica para aprovechar la hoja de guayaba (*Psidium guajava*), mediante la obtención de extractos etanólicos por el método de sonicación y la evaluación de sus propiedades antifúngicas para emplear su uso en recubrimientos comestibles que permita controlar enfermedades postcosecha y alargar la vida útil de calabacita, jitomate y naranja.

### Objetivo Particular 1.

Evaluar diferentes tiempos (30, 60 y 90 min) para la extracción de quercetina en hoja de guayaba por el método de sonicación que permita establecer las condiciones para obtener los mayores rendimientos.

### Objetivo Particular 2.

Comparar el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Psidium guajava* a 500, 1000 y 1500 ppm mediante pruebas *in vitro* para seleccionar la concentración que presente mayor efecto inhibitorio en el crecimiento micelial de *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum*.

### Objetivo Particular 3.

Evaluar el efecto antifúngico del recubrimiento comestible adicionado con extracto de *Psidium guajava* mediante pruebas *in vitro* para elegir el que presente mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento de *A. alternata*, *F. oxysporum*, *P. expansum*.

### Objetivo Particular 4.

Determinar el efecto del recubrimiento comestible de CMC al 0.5% adicionados con extracto de *Psidium guajava* en los parámetros físicos (color, firmeza, pérdida de peso), microbiológicos (incidencia y severidad de enfermedades) y fisiológicos (tasa de respiración) para alargar la vida útil de calabacita, jitomate y naranja.





# MATERIALES Y MÉTODOS



## 4. Materiales y métodos

Proponer una aplicación tecnológica para aprovechar la hoja de guayaba (*Psidium guajava*), mediante la obtención de extractos etanólicos por el método de sonicación y la evaluación de sus propiedades antifúngicas para emplear su uso en recubrimientos comestibles que permita controlar enfermedades postcosecha y alargar la vida útil de calabacita, jitomate y naranja.

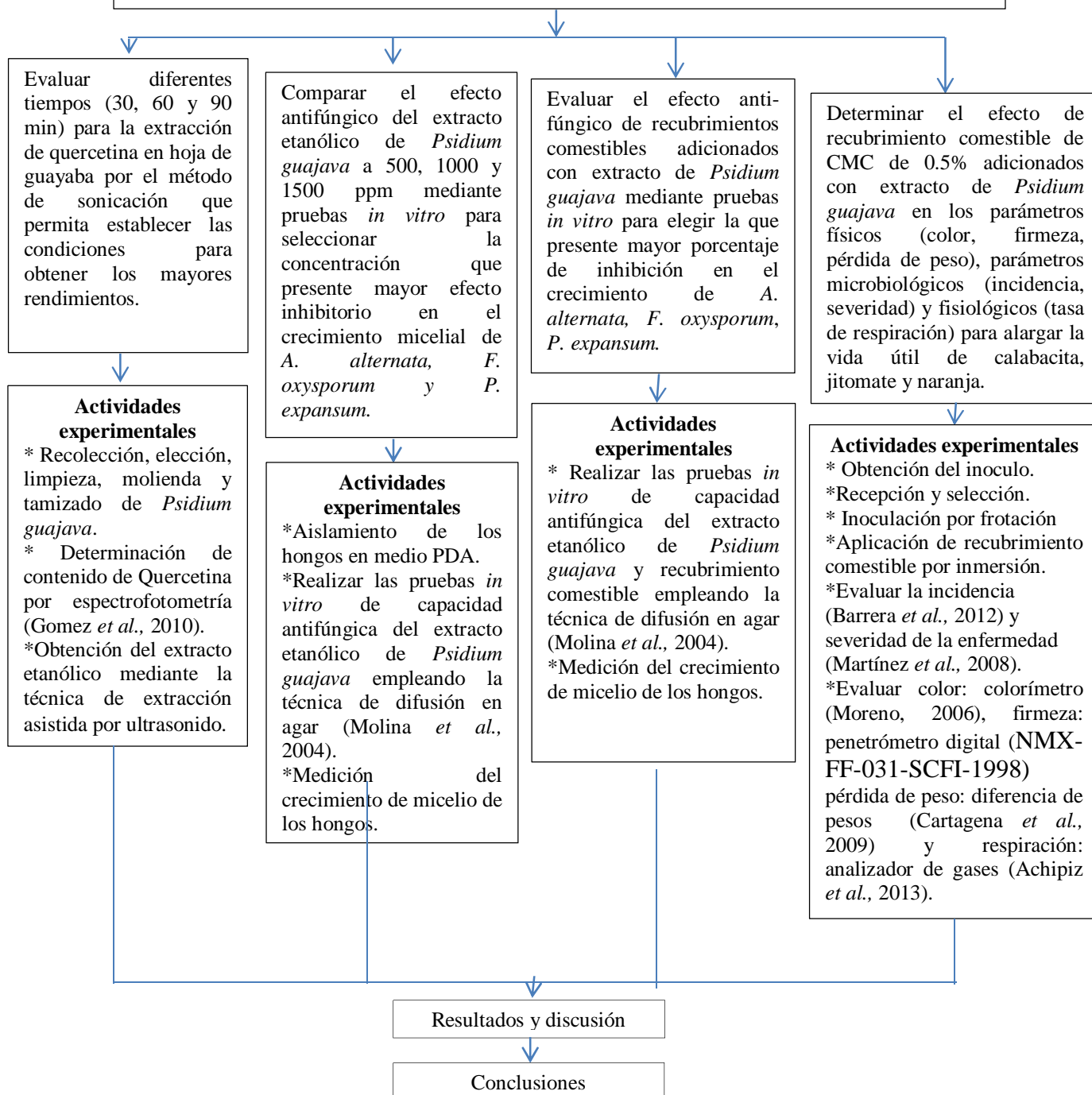


Figura 6. Cuadro metodológico



## 4.1 Material biológico

El material vegetal empleado para la obtención del extracto etanólico fue la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) proveniente de huertos localizados en el estado de Veracruz.

Para la elaboración de las películas comestibles se empleó carboximetilcelulosa (CMC) obtenida del fabricante Cosmopolita S.A de C.V. el plastificante utilizado fue glicerol anhidro (J. T. Baker) y el surfactante Tween 80 (Hycel de México S.A. de C.V.) y extracto etanólico de *Psidium guajava* obtenido por el método de extracción asistida por ultrasonido.

Los jitomates, las naranjas y las calabacitas fueron adquiridos en el mercado del Carmen ubicado en Cuautitlán Izcalli, Estado de México para después ser trasladados al Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales del Centro de Asimilación Tecnológica de la UNAM para su posterior estudio (Figura 7).



Figura 7. Material biológico A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.

## 4.2 Obtención del extracto

La obtención de los extractos etanólicos de *Psidium guajava* se llevó a cabo con la previa reducción de tamaño de las plantas fue con la ayuda de una licuadora y la partícula obtenida fue la que se empleó para el extracto denominada “partícula gruesa” (tamaño mayor a 0.84 mm), así también para obtener “partícula fina” se utilizó el tamiz (ISICAS) del número 20 con orificios de 0.84 mm de diámetro, esto con el fin de observar si el tamaño de partícula tiene influencia en el contenido de flavonoides.

Se realizó una mezcla de 5g de hoja molida con 25mL de disolvente (etanol) al 70% en un matraz Erlenmeyer, y se sometió a una extracción asistida por ultrasonido durante 30, 60 y



90 min, pasado el tiempo establecido se filtró el extracto contenido del matraz Erlenmeyer y se determinó el contenido de quercetina (Gómez *et al.*, 2010) en partícula fina y gruesa para ver qué tamaño de partícula tenía mayor contenido de este compuesto. Esto con la finalidad de determinar el volumen de extracto necesario para calcular las partes por millón (ppm) necesarias para agregarlas como inhibidores de hongos en el cultivo mediante pruebas *in-vitro* (Figura 8).

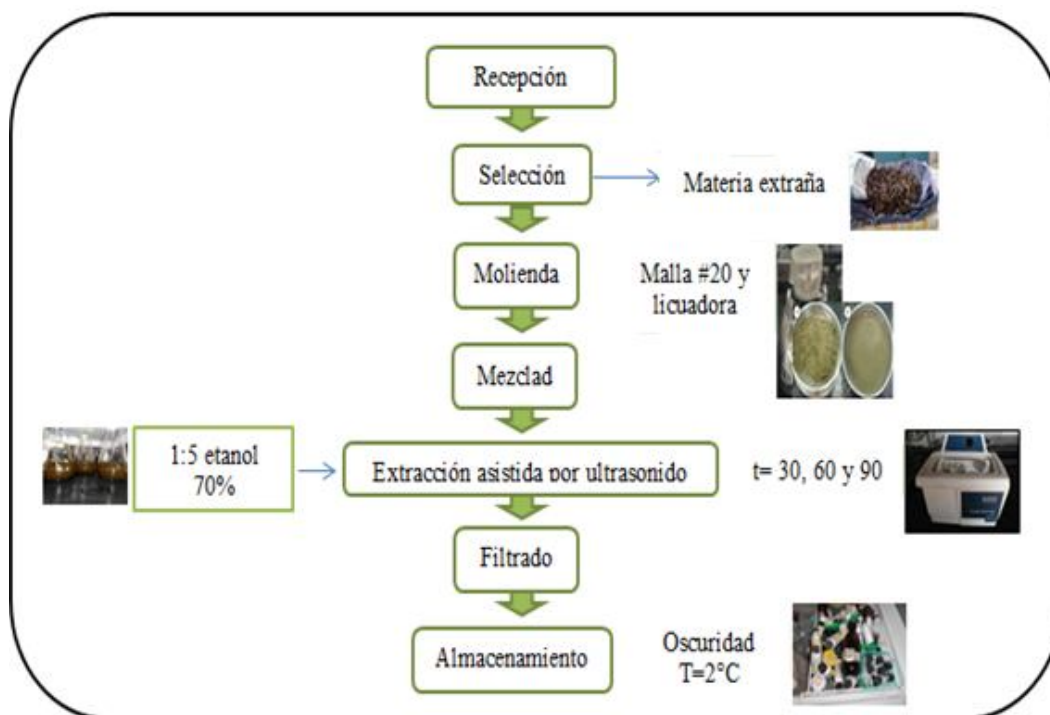


Figura 8. Diagrama de proceso para la obtención de extractos vegetales.

### 4.3 Contenido de quercetina

Al extracto etanólico obtenido se le realizó la evaluación del contenido de quercetina por medio del método de espectrofotometría de luz visible. Para la obtención de la muestra se tomó 1 mL de extracto obtenido de extracción asistida por ultrasonido en los diferentes tiempos de extracción, en la identificación de quercetina se coloca la muestra en un tubo eppendorf de 2 mL de volumen, se agrega 1 viruta de magnesio y 1 gota de ácido clorhídrico concentrado se agita con la ayuda de un vortex durante 1 minuto para permitir que se lleve a cabo la reacción exotérmica, observando la coloración característica (azul magenta, violeta o rojo) en presencia de flavonoides o incolora en ausencia de estos,



después se realiza una extracción clorofórmica agregando 0.25 mL de agua y 0.75 mL de cloroformo se tapa y se agita vigorosamente en el vortex nuevamente durante 30 segundos permitiendo la salida del gas después se centrifugó la muestra a una velocidad de 12,000 rpm por un tiempo de 5 minutos para lograr la obtención de una fase clorofórmica.

Para la obtención de la concentración de quercetina en la hoja de guayaba se realizó una curva patrón de quercetina en concentraciones de 0 a 1mg/mL dicho reactivo se preparó disolviendo 0.010 g en 1mL de etanol 99% y aforado a 100 mL con agua destilada. Por último la curva se preparó adicionando distintos volúmenes (0, 40, 80, 120, 160 y 200  $\mu$ L) de quercetina y agua destilada, además de 67  $\mu$ L de acetato de potasio 1M, 67  $\mu$ L de nitrato de aluminio 10% y 1000  $\mu$ L de alcohol etílico absoluto. Posteriormente se realiza la lectura en el espectrofotómetro a 450nm (Gómez, et al., 2010). Una vez obtenida la curva de calibración se sustituyeron los volúmenes de quercetina y agua destilada por 200  $\mu$ L de la fase clorofórmica (Figura 9). Los resultados se expresaron en mg de quercetina/ mL de extracto (con un F.D.=25) para finalmente realizar el cálculo de ciertas partes por millón (ppm), considerando que 1ppm=  $\mu$ g/mL.



Figura 9. Determinación del contenido de quercetina.

#### 4.4 Prueba *In vitro*

Para poder realizar las pruebas *in vitro* fue necesario realizar una siembra de micelio de los hongos *A. alternata*, *F. oxysporum*, y *P. expansum*.

En la Figura 10 se muestra como se llevó a cabo el crecimiento de estos hongos en el medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) previamente esterilizado, una vez solidificado el agar, se tomaron muestras de micelio de otro cultivo de hongos ya crecido (mínimo 10 días) y se incrustaron en el agar y se dejaron crecer a una temperatura de 25°C durante 10 días (Pascual, 2000).



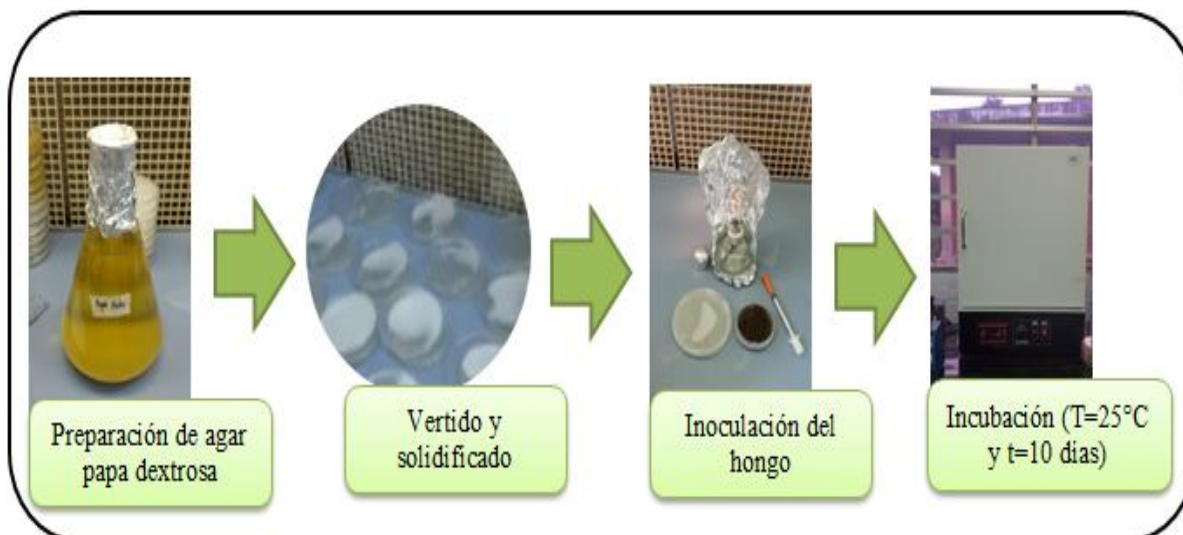


Figura 10. Diagrama de la inoculación de los hongos en estudio.

Las evaluaciones se realizaron en cajas Petri estériles, mezclando aproximadamente 20 mL de agar PDA, previamente esterilizado con la cantidad necesaria de extracto para obtener 3 concentraciones (500, 1000 y 1500 ppm) se evaluó el crecimiento micelial de *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* en milímetros midiendo el halo de crecimiento. El agar adicionado con el extracto se dejó solidificar para posteriormente con la ayuda de un sacabocados de 1 cm de diámetro obtener un explante del cultivo de *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* con 10 días de crecimiento a 25°C en PDA. El explante se colocó al centro del agar, se dejaron crecer los hongos a una T=25°C y cada dos días se midió el crecimiento micelial de los hongos en el medio adicionado con el extracto de *Psidium guajava* y se llevó a cabo un registro fotográfico durante 10 días (Molina *et al.*, 2004), en la Figura 11 se representa el diagrama de la inoculación de los hongos en estudio.

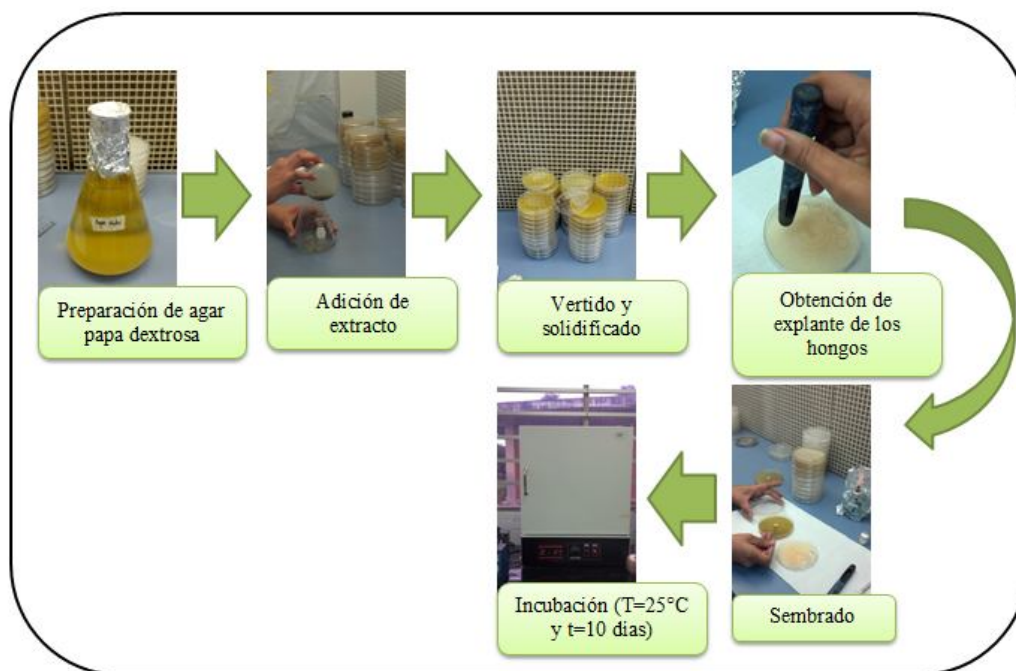


Figura 11. Diagrama para la inoculación in vitro de los hongos en estudio.

Para realizar una comparación objetiva se emplearon controles positivos (adicionando el mismo volumen pero solo de agua) y negativos (adicionando etanol al 70%). Se observó que el efecto inhibitorio se le atribuye al extracto etanólico de la hoja de guayaba, por lo tanto no se volvió a evaluar el control negativo.

#### 4.5 Pruebas *in vitro* con recubrimiento comestible a base de CMC

##### 4.5.1 Adición al medio

La metodología realizada para el crecimiento de los hongos *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* y las pruebas *in vitro* del recubrimiento comestible fueron similares a lo descrito en el apartado 4.4 con algunas modificaciones: Se realizó la adición de Agar Papa Dextrosa y el recubrimiento (agua 98%, CMC 0.5%, glicerol 1% y tween 0.5%) en concentraciones 25-50% y 50-50% (Recubrimiento - PDA).

El recubrimiento y el agar se esterilizaron por separado, en un matraz Erlenmeyer se realizó una mezcla de agar y recubrimiento esta se agito durante 1 minuto para garantizar una homogenización ya que apareció una fase continua se agregó la cantidad necesaria de extracto etanólico para llegar a la concentración necesaria de acuerdo al contenido de quercetina requerido para generar las ppm correspondientes (obtener 500, 1000 y 1500





ppm). Finalmente la mezcla de agar y recubrimiento adicionado con extracto se dejó solidificar para posteriormente colocar un explante de los cultivos de *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* con 10 días de crecimiento. Los hongos se dejaron crecer a una  $T= 25^{\circ}\text{C}$  y cada 2 días se midió el crecimiento micelial de los hongos en el medio adicionado con el extracto de *Psidium guajava* y se llevó un registro fotográfico (Molina *et al.*, 2004). El control positivo consistió en la mezcla de agar y recubrimiento a las concentraciones de 25-50% y 50-50% (Recubrimiento - PDA).

### **4.5.2 Película sobre el explante**

La preparación de la matriz de carboximetilcelulosa se llevó a cabo empleando agua estéril teniendo agitación continua se le agregó la goma CMC, una vez hidratado el polisacárido fueron adicionados los aditivos (Glicerol 1% y Tween 80 al 0.5%). La dispersión se dejó enfriar a temperatura ambiente, y se adicionó la cantidad necesaria de extracto etanólico *Psidium guajava* para agregar 1000 ppm. Posteriormente se tomaron 30 mL de la formulación y esta fue vaciada en platos de plástico con un diámetro de 15 cm y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 96 horas, sobre una base nivelada hasta su completo secado, después se adicionaron en cajas Petri sobre el explante de los hongos *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum*. Los hongos se dejaron crecer a una  $T=25^{\circ}\text{C}$  y cada 2 días se midió el crecimiento micelial de los hongos en el medio adicionado con el extracto de *Psidium guajava* y se llevó un registro fotográfico (Molina *et al.*, 2004).

## **4.6 Pruebas *in-vivo* en Calabacita, Jitomate y Naranja**

### **4.6.1 Tratamiento de la muestra**

Se realizó una inspección visual para eliminar aquellos frutos que presentaran daños físicos. Se midieron y pesaron los frutos en estudio. En la Tabla 13 se muestra los lotes en los que fueron divididos los frutos



Tabla 15. Lotes de frutos empleados

Lotes	Fruto	N° de frutos
<b>Respiración y pérdida de peso</b>	Calabacita	18
	Jitomate	
	Naranja	
<b>Firmeza y Color</b>	Calabacita	54
	Jitomate	
	Naranja	
<b>Incidencia y Severidad</b>	Calabacita	20
	Jitomate	25
	Naranja	

Estos lotes fueron sometidos a una desinfección por inmersión con una solución de cloro al 2% durante un tiempo de 1 minuto, después cada lote fue enjuagado por inmersión en agua estéril durante 1 minuto. Transcurrido el tiempo de enjuagado se dejaron secar con toallas estériles.

#### 4.6.2 Obtención del inóculo

Para la obtención del inóculo se ocuparon 10 cajas Petri de cada uno de los hongos *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* con 8 días de crecimiento.

Se preparó una solución de tween 80 al 0.5% adicionándose 5 mL aproximadamente de dicha solución (estéril) a cada caja Petri, para facilitar la obtención de las esporas del hongo mediante un raspado con bisturí. Posteriormente el volumen de cada caja se filtró con ayuda de gasas estériles obteniendo así el inóculo posteriormente se procedió al conteo de esporas mediante una cámara (NeuBauer) y se llevó al microscopio en el cual se realizaron ajustes (luz y resolución) para lograr ver la cuadrícula (Figura 12).



Figura 12. Procedimiento de la preparación del inóculo.



### 4.6.3 Aplicación de recubrimientos comestibles adicionado con extracto de *Psidium guajava*.

Cada fruto se inoculó por el método de frotación con una gasa estéril, se dejó secar el inóculo y se incubó durante 24 horas en cámara húmeda a 25°C. En la Tabla 14 se especifica el volumen y concentración del inóculo aplicado en los frutos en estudio.

Tabla 16. Volumen y concentración de los inóculos.

Fruto	Hongo	Concentración (esporas/mL)	Volumen (mL)
<b>Calabacita</b>	<i>A. alternata</i>	15x10 <sup>5</sup>	1
<b>Jitomate</b>	<i>F. oxysporum</i>	10x10 <sup>5</sup>	1
<b>Naranja</b>	<i>P. expansum</i>	46x10 <sup>5</sup>	1

Posteriormente se aplicó el recubrimiento comestible adicionado con extracto de *Psidium guajava* por inmersión durante 4 minutos, se dejaron secar durante 4 h y finalmente se almacenaron en refrigeración a temperatura de 10°C durante 20 días (calabacita) y 25 días (jitomate y naranja) y se procedió a evaluar parámetros de calidad e índice de severidad y daño para la calabacita cada 4 días y para jitomate y naranja cada 5 días.

## 4.7 Técnica analítica

### 4.7.1 Parámetros de calidad de los frutos en estudio

#### 4.7.1.1 Determinación de firmeza

La determinación de firmeza se evaluó con penetrómetro digital (PCE-FM200, SLJ-B) con una geometría de cilindro de 8 mm para todos los frutos empleados, las mediciones fueron tomadas en el área superior e inferior considerando 6 repeticiones por cada tratamiento. Los resultados se expresan en Kg/cm<sup>2</sup> (NMX-FF-031-SCFI-1997).

Las mediciones fueron realizadas en los frutos en estudio en la zona ecuatorial (Figura 13), se consideraron 6 repeticiones para cada tratamiento.



Figura 13. Determinación de firmeza A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.

#### 4.7.1.2 Determinación de color

En la determinación de color se empleó un colorímetro (Minolta, CR-600) con un sistema Hunter Lab que representa la luminosidad desde la reflexión nula ( $L=0$ ) hasta la reflexión perfecta ( $L=100$ ). Los valores  $L$ ,  $a$  y  $b$  se utilizaron para calcular el tono ( $^{\circ}\text{Hue}$ ) donde  $^{\circ}\text{Hue}$ :  $0=\text{rojo-púrpura}$ ,  $90=\text{amarillo}$ ,  $180=\text{azul-verde}$  y  $270=\text{azul}$ ,  $^{\circ}\text{Hue}$  se calculó a partir de la ecuación  $h^{\circ}=\arctan(b/a)$ . el croma indica la intensidad del color o saturación del color y se calculó por la ecuación  $C=(a^2+b^2)^{1/2}$  (Mc Guire, 1992).

Las mediciones fueron realizadas en los frutos en estudio en la zona ecuatorial (Figura 15), se consideraron 14 repeticiones para cada tratamiento.

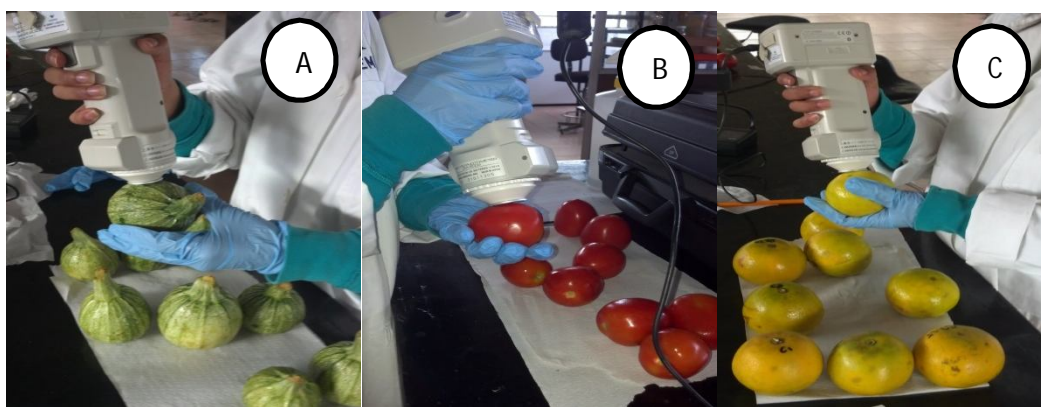


Figura 14. Determinación de color A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.



### 4.7.1.3 Determinación de pérdida de peso

Se utilizó una balanza digital (ohaus, Scout Pro). Se obtuvo la pérdida de peso mediante la diferencia entre el peso inicial del producto a su llegada del centro de distribución y el peso obtenido durante cada uno de los días almacenado, los resultados se expresaron en % de pérdida de peso (Cartagena *et al.*, 2009).

La determinación se realizó durante 20 días para calabacita, 25 días para jitomate y naranja (cada 2 días) con 6 muestras para cada tratamiento (Figura 15).

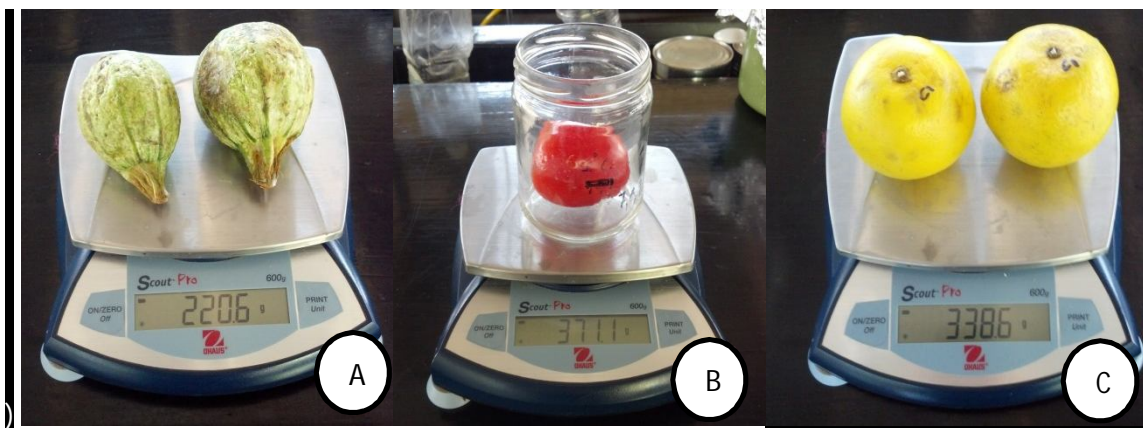


Figura 15. Determinación de pérdida de peso A) calabacita, B) jitomate y C) naranja.

### 4.7.2 Parámetros fisiológicos de los frutos en estudio

#### 4.7.2.1 Determinación de Respiración

Para realizar esta determinación, se utilizaron recipientes cerrados con capacidad para cada uno de los frutos en estudio; se colocaron 6 muestras para el jitomate y 12 muestras para el caso de calabaza y naranja por lo tanto se emplearon 6 recipientes para cada fruto en estudio, estos se sellaron herméticamente y se mantuvieron durante 1 h en refrigeración (10°C). Transcurrido el tiempo se cuantifico la producción de CO<sub>2</sub> en % conectando la salida del recipiente sellado a un analizador de gases (Nitec, ) que cuenta con una aguja que se introduce en los recipientes para realizar la lectura, esta se deja dentro del recipiente durante 1 minuto. Los resultados se expresaron en mg de CO<sub>2</sub>/Kgh (Figura 16) (Restrepo y Aristizábal, 2010).





Figura 16. Determinación de respiración en naranja.

### 4.7.3 Efecto antifúngico

#### 4.7.3.1 Determinación de incidencia de la enfermedad

Dos lotes de 20 frutos (calabacita) y dos lotes de 25 frutos (jitomate y naranja) fueron inoculados y tratados con el recubrimiento y recubrimiento con extracto de *Psidium guajava*. Se evaluó la incidencia por lo propuesto por Martínez *et al.* (2008) durante todos los días de almacenamiento (cada dos días) correspondiente para cada fruto mediante el nivel de daño por ataque fúngico en los frutos. Así la incidencia se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Incidencia} = \frac{\text{No. total de frutos con la enfermedad}}{\text{No. total de frutos del lote}} * 100$$

#### 4.7.3.2 Determinación de severidad de la enfermedad

Se generó una escala cualitativa (Tabla 15) para poder determinar los porcentajes de daño causado por los hongos en estudio (Barrera *et al.*, 2012).

Tabla 17. Escala de índice de decaimiento.

Nivel de daño	Significado
1	No hay daño en el fruto
2	Daño del 25% de la superficie del fruto
3	Daños del 25-50% de la superficie del fruto
4	Daños del 50-75% de la superficie del fruto
5	Daños del 75-100% de la superficie del fruto



El análisis visual se realizó cada 2 días en los lotes de Calabacita, Jitomate y Naranja evaluando el nivel de daño de los hongos inoculados en los frutos. La severidad fue calculada por la siguiente ecuación:

$$\% \textit{ severidad de la enfermedad} = \frac{(1(n) + 2(n) + 3(n) + 4(n) + 5(n))}{5(N)} * 100$$





# RESULTADOS Y DISCUSIÓN



## 5. Resultados y discusión

### 5.1 Cuantificación de quercetina

Los polifenoles son metabolitos secundarios obtenidos del metabolismo de las plantas. Los principales grupos son: ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides. Tienen mecanismos de defensa frente a la radiación ultravioleta o agresión de agentes patógenos. Se han identificado más de 8,000 estructuras químicas en varias especies vegetales y son objeto de creciente interés científico debido a sus posibles efectos beneficiosos sobre la salud humana (Pandey y Rizvi, 2009).

Los flavonoides son compuestos bioactivos presentes en alimentos, también denominados fitonutrientes (Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009). La quercetina es un flavonoide con gran efecto antioxidante natural presente en gran variedad de alimentos y plantas que se ha asociado con la prevención de determinadas enfermedades, sus propiedades beneficiosas se relacionan estrechamente con su estructura química, que le confiere propiedades antioxidantes, actúa como protector frente a las especies reactivas de oxígeno (Vivente-Vicente *et al.*, 2013).

El contenido de extracto en la hoja de guayaba fue de 8.97, 9.91 y 9.87 mg de quercetina/g de muestra seca en partícula fina y 7.29, 10.13 y 9.69 mg de quercetina/ g de muestra seca para 30, 60 y 90 minutos. Como se puede observar en la Figura 17 el contenido de quercetina fue 43.17% mayor durante un tiempo de extracción de 60 minutos respecto a 30 minutos del tiempo de extracción sin presentar diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), esto se debe a que durante la identificación de flavonoides por la reacción de Shinoda la coloración de la muestra en este tiempo es más intenso respecto a las otras lo cual es característico de esta reacción ya que si se tornara incolora no existiría presencia de flavonoides y por lo tanto al tener una menor coloración menor contenido de quercetina (Gómez *et al.*, 2010).

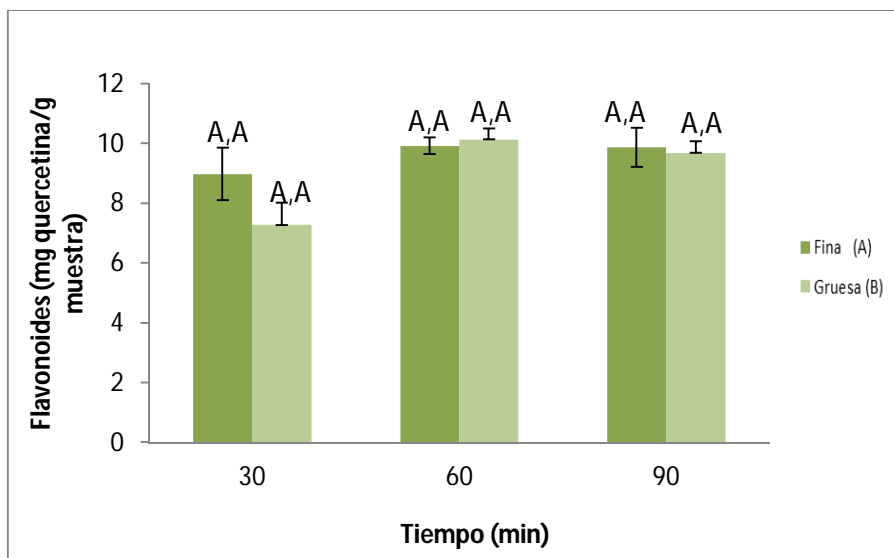


Figura 17. Contenido de quercetina del extracto etanolico de *Psidium guajava*. Las barras verticales representan  $\pm$ desviación estándar. Las letras significan subconjuntos homogéneos para  $\alpha = 0.05$ .

No existió diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el contenido de quercetina entre los tiempos de extracción y tamaño de partícula para el contenido de quercetina. Para la experimentación se empleó un tiempo de extracción de 60 minutos en partícula fina porque nos interesa que el contenido de quercetina sea alto para tener mayor concentración de este flavonoide y lograr inhibir en su totalidad los hongos en estudio.

En estudios realizados por Vargas-Álvarez *et al.*, (2005) el contenido de quercetina fue mayor respecto a los resultados mostrados en esta investigación debido a que ellos evaluaron por cromatografía líquida de alta resolución el contenido de algunos flavonoides en hojas de guayabo con respecto a la defoliación, sequía y poda. La defoliación en los árboles provocó el incremento de quercetina de 945 a 1707 mg/kg, la poda incrementó la quercetina de 850 a 1042 mg/kg.

### 5.2 Evaluación de las propiedades antifúngicas del extracto *Psidium guajava*

Ante la necesidad que presenta la sociedad de reemplazar los productos químicos por productos orgánicos o naturales en la agricultura surge la necesidad de emplear extractos vegetales. Los cuales son el resultado de concentrar los principios activos de las plantas, estos deben ser tóxicos para las plagas, que por ser biodegradables causan mínimo daño al ecosistema. También pueden ser empleados para el control de enfermedades postcosecha



causadas por algunos microorganismos patógenos (Caldas, 2012). Los patógenos evaluados en el presente estudio fueron *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum*.

La técnica microbiológica de adición de extracto al medio de cultivo consiste en simular las características nutrimentales a evaluarse, esto con la finalidad de observar el comportamiento y tasa de crecimiento del microorganismo con los parámetros ya establecidos y condiciones óptimas para su desarrollo (Ramos-García *et al.*, 2010).

En la Figura 18 se observa el porcentaje de inhibición de *Psidium guajava* en las tres concentraciones de estudio. En la prueba con *A. alternata* y *F. oxysporum* la adición de extracto etanólico a 1000 y 1500 ppm presentaron el máximo porcentaje de inhibición (100%) durante los 10 días de incubación del hongo. Para la concentración de 500 ppm se tuvo un 80% de inhibición, presentando el 100% de inhibición hasta el día 4 ya que a partir del día 6 se tuvo un 7.6% de crecimiento micelial alcanzando un crecimiento de 20% al día 10 (aproximadamente para los dos hongos). Las concentración de 500 ppm mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto al control a partir del día 6 (Figura 18A y 18B).

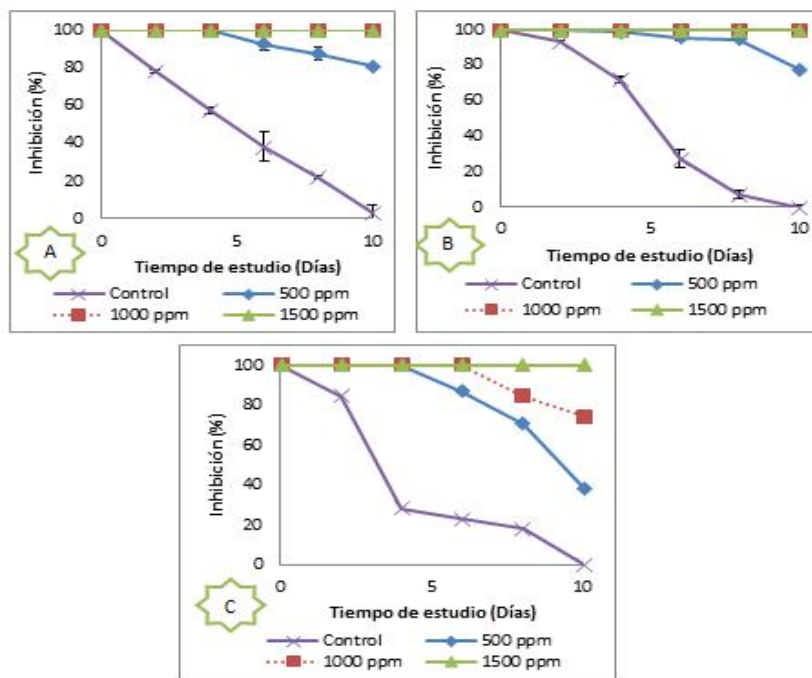


Figura 18. Resultados de pruebas *in vitro* contra *A. alternata* (A), *F. oxysporum* (B) y *P. expansum* (C) a tres diferentes concentraciones de extracto *Psidium guajava* (500, 1000 y 1500 ppm). Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.



En el estudio realizado con *P. expansum* la adición de extracto etanólico a 1500 ppm tuvo el 100% de inhibición al día 10, para la concentración de 500 ppm el crecimiento micelial comenzó al día 6 con un 12.8% de crecimiento y para 1000 ppm se alcanzó un 74.3% de inhibición en el máximo tiempo de incubación (día 10), hasta el día 4 las tres concentraciones presentaron un 100% de inhibición, al día 10 las concentraciones estudiadas respecto al control presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) (Figura 18C). La concentración de 1000 ppm es 84.8% mayor respecto a 500 ppm.

En condiciones *in vitro* los extractos inhiben el crecimiento del patógeno, así como la esporulación y germinación de esporas de modo que ayudan a controlar las enfermedades en frutos y hortalizas (Hernández *et al.*, 2007).

No existen suficientes antecedentes del uso de *Psidium guajava* para la inhibición de hongos postcosecha solo para la inhibición de bacterias patógenas (*E. coli*, *salmonella*, *enterococcus faecalis*, *staphylococcus aureus*), pero existen diferentes estudios donde se comprobó el efecto de distintos extractos sobre *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum*, entre otras. Un estudio realizado por Baños *et al.* (2004) demostró que la guayaba destacó durante los primeros días de incubación con *C. gloeosporioides*, pero en el último muestreo disminuyó su efecto, además presentó contaminación fúngica y bacteriana, por lo que ya no se consideró en los ensayos sucesivos. Áviles-Marín *et al.* (2004) mostraron que los extractos fenólicos de frutos de chiltepín (100mg de muestra con 5 mL de metanol al 80%) presentaron 50% menor inhibición en el crecimiento micelial de *A. alternata* comparado con el uso de extracto de guayaba. López-Benítez *et al.* (2005) evaluaron el efecto inhibitorio de varios extractos acuosos de ajo, gobernadora, hojaseñ, clavo, canela, mango y un agente químico (Tiabendazol) sobre el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F. o. l.), *Rhizoctonia solani* y *Verticillium dahliae*. El efecto inhibitorio promedio en los períodos de incubación (72 y 144 hrs) del hongo en concentraciones de 5 y 10%, mostró que el tiabendazol inhibió el 100% del desarrollo del micelio. Estos resultados son similares a lo obtenido en esta investigación debido a que se alcanza un 100% de inhibición de micelio al igual que el tiabendazol (Figura 18).



En la experimentación realizada por Bautista-Baños *et al.* (2004), la germinación de conidios de *Penicillium expansum* Link. se inhibió totalmente con derivados semipuros o crudos de chile (*Capsicum frutescens* L.). Comparado con los resultados obtenidos en el presente estudio lo reportado por estos autores difiere ya que solo se alcanzó un 100% de inhibición a la concentración más alta de extracto que fue de 1500 ppm en las concentraciones bajas empleadas que fueron de 500 ppm solo se alcanzó un 38.4% de inhibición al día y para 1000 ppm el porcentaje de inhibición fue de 74.3% al día 10.

En la tabla 16 se muestra el seguimiento fotográfico del efecto de extracto de guayabo (*Psidium guajava*) en diferentes concentraciones, donde se observa que al ir aumentando la concentración de extracto al medio el color de las cajas se iba intensificando. El crecimiento para *A. alternata*, fue rápido, se generaron vellosidades de color gris claro, con el paso de los días el centro se oscureció y permanecieron vellosidades en el centro de color grisáceas claras. Para *F. oxysporum*, el micelio de este hongo fue rosado característica principal del mismo y para *P. expansum* tuvo una esporulación abundante, sus esporas alcanzan cualquier medio para poder nutrirse y comienzan a crecer rápidamente, sus colonias de crecimiento son verdosas y en algunas ocasiones amarillentas.





Tabla 18. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* por la actividad del extracto etanólico de *Psidium guajava* a 500, 1000 y 1500 ppm.

		Tiempo de incubación (días)					
Tratamiento		0	2	4	6	8	10
<i>A. alternata</i>	Control						
	500 ppm						
	1000 ppm						
	1500 ppm						
<i>F. oxysporum</i>	Control						
	500 ppm						
	1000 ppm						
	1500 ppm						
<i>P. expansum</i>	Control						
	500 ppm						
	1000 ppm						
	1500 ppm						





### 5.3 Evaluación de las propiedades antifúngicas del extracto *Psidium guajava* con recubrimiento comestible a base de CMC

#### 5.3.1 Adición al medio

El efecto inhibitorio de los extractos etanólicos sobre el crecimiento del hongo se basa en el daño que ocasionan los compuestos bioactivos de las plantas debido a la generación excesiva de especies reactivas al oxígeno o radicales libres que pueden conducir paralelamente al daño celular del microorganismo por alteraciones en la función del aparato genético, lo que resulta en el envejecimiento y prematura muerte celular (Liu *et al.*, 2013).

Al adicionar al medio el recubrimiento comestible a base de CMC estamos simulando los nutrientes necesarios para que el hongo logre desarrollarse.

En el estudio realizado para *A. alternata* a 500 ppm en una relación de 25% de recubrimiento a base de CMC 0.5% se alcanza un porcentaje de inhibición del 93.86% al día 10 del periodo de incubación del hongo y para 500 ppm en una relación 50% de recubrimiento comestible se alcanza un 77.77% de inhibición como se muestra en la Figura 19. Para *F. oxysporum* en concentración de 500 ppm y una relación del 25% el porcentaje de inhibición fue de 79.04% y para una relación del 50% fue de 81.25% al décimo día del periodo de incubación. Respecto a *P. expansum* el porcentaje de inhibición a una concentración de 500 ppm con una relación de recubrimiento de 25% fue de 79% y para una relación de 50% la inhibición en el hongo fue de 60%. Para la concentración de 1000 ppm se alcanzó el máximo porcentaje de inhibición 100%.

Estos resultados difieren de los reportados por Sánchez-Soto (2013), en donde se evaluó el efecto antifúngico de recubrimientos comestibles (0.5% CMC) adicionados con extractos etanólicos de Sangre de drago, Hoja sen y Orégano en una concentración de 3000 ppm sobre el crecimiento micelial de *B. cinerea*, obteniéndose porcentajes de inhibición al día 6 de 69.3, 65.4 y 0% respectivamente. En el estudio realizado a concentraciones más bajas se obtienen resultados satisfactorios ya que se alcanza un 100% de inhibición de los hongos en estudio a una concentración de 1000 ppm concluyendo que el empleo de extracto etanólico a base de hoja de guayaba tienen una alta actividad fungistática ante *A. alternata*, *F.*



*oxysporum* y *P. expansum* la cual se vio incrementada conforme aumentaba la concentración.

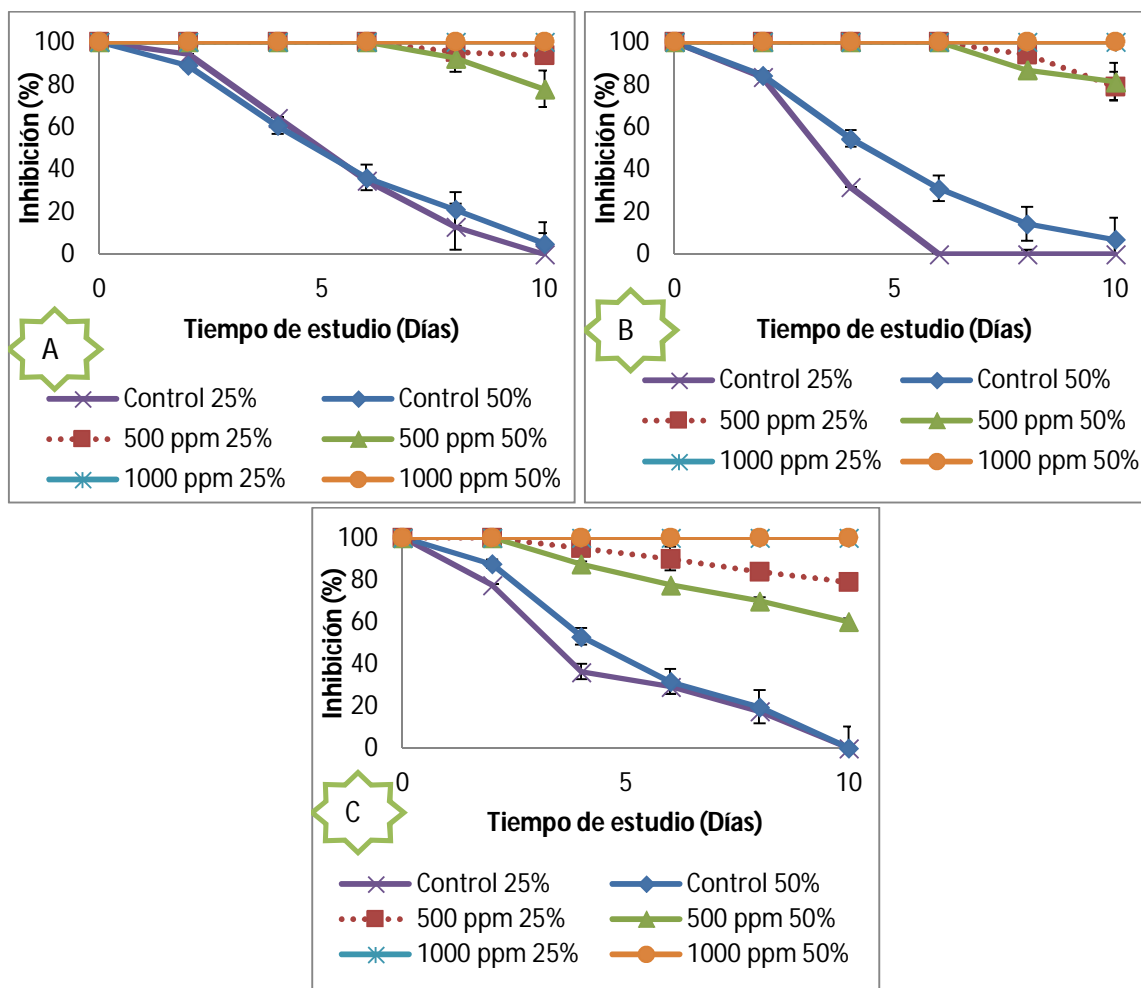


Figura 19. Resultados de pruebas *in vitro* del recubrimiento comestible a base de CMC al 0.5% contra *A. alternata* (A), *F. oxysporum* (B) y *P. expansum* (C) a tres diferentes concentraciones de extracto (500, 1000 y 1500 ppm). Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

La adición del extracto etanólico en la matriz de 0.5% de CMC presentó resultados que concordaron con aquellos obtenidos en las pruebas *in vitro* del extracto etanólico, ya que a 1000 ppm se obtuvo el 100% de inhibición micelial para los 3 hongos en estudio como se muestra en la Tabla 17.

De acuerdo con el análisis estadístico del recubrimiento comestible a base de CMC 0.5% se presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.5$ ) en el porcentaje de inhibición de crecimiento



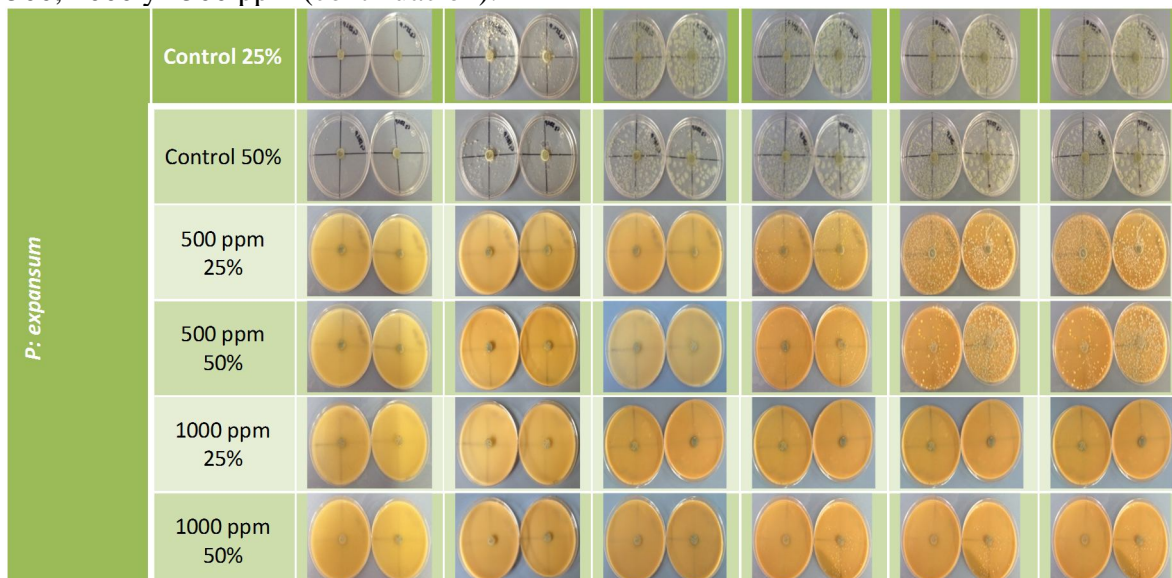
micelial a partir del día 8 para *A. alternata* y *F. oxysporum* a una concentración de 500 ppm mientras que para *P. expansum* se presentó el mismo comportamiento a partir del día 4.

Tabla 19. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* por la actividad del extracto etanólico de *Psidium guajava* a 500, 1000 ppm y una relación de extracto 25-75 y 50-50 (recubrimiento-PDA).

		Tiempo de incubación (días)						
Hongo	Tratamiento	0	2	4	6	8	10	
<i>A. alternata</i>	Control 25%							
	Control 50%							
	500 ppm 25%							
	500 ppm 50%							
	1000 ppm 25%							
	1000 ppm 50%							
<i>F. oxysporum</i>	Control 25%							
	Control 50%							
	500 ppm 25%							
	500 ppm 50%							
	1000 ppm 25%							
	1000 ppm 50%							



Tabla 17. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* por la actividad del extracto etanólico de *Psidium guajava* a 500, 1000 y 1500 ppm (continuación).



### 5.3.2 Película sobre explante

Las pruebas *in vitro* consisten en la simulación de las características del alimento a evaluarse, principalmente con respecto a los nutrientes y acidez. Todo con la finalidad de observar el comportamiento y tasa de crecimiento del microorganismo con los parámetros ya establecidos y condiciones óptimas para su desarrollo (Molina *et al.*, 2001).

La película comestible sobre el explante es la simulación de lo que está ocurriendo en el fruto al aplicar el recubrimiento comestible con el extracto, para lograr percibir si realmente se está combatiendo a los hongos en estudio.

Como se puede observar en la Tabla 18 para el caso de los 3 hongos en estudio no existe una inhibición al 100% pero se logra una disminución del crecimiento micelial de los hongos. El desarrollo de los hongos en estudio comienza a partir del día 2, esto debido a que el recubrimiento comestible se esparció por la caja Petri convirtiéndose en un transportador de los hongos facilitando su crecimiento.





Tabla 20. Seguimiento fotográfico de la inhibición del crecimiento del hongo *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum* por la actividad del extracto etanólico de *Psidium guajava* a 1000 ppm con película comestible sobre explante.

		Tiempo de incubación (días)					
Tratamiento		0	2	4	6	8	10
<i>A. alternata</i>	Control						
	Recubrimiento						
	1000 ppm						
<i>F. oxysporum</i>	Control						
	Recubrimiento						
	1000 ppm						
<i>P. expansum</i>	Control						
	Recubrimiento						
	1000 ppm						



## 5.4 Pruebas *in vivo* en Calabacita, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba

### 5.4.1 Parámetros de calidad

#### 5.4.1.1 Firmeza

La firmeza es un atributo de la textura de las frutas y vegetales que está relacionada con el punto de cosecha, la calidad para su comercialización y el procesamiento. Se define la firmeza de un material como la fuerza necesaria para romper los tejidos carnosos, y está vinculada con los diferentes estados durante el proceso de maduración; por lo tanto la firmeza de la fruta es considerada como un buen indicativo de la madurez (Zapata *et al.*, 2010).

Las calabacitas con y sin recubrimiento presentaron una disminución en la firmeza (Figura 20) con respecto al tiempo de almacenamiento siendo de 29% la pérdida para calabacitas recubiertas y de 36% para el control del inicio del estudio hasta los 20 días de evaluación retuvieron 32.96 y 27.86 respectivamente. No se presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) de los frutos recubiertos respecto a los no recubiertos

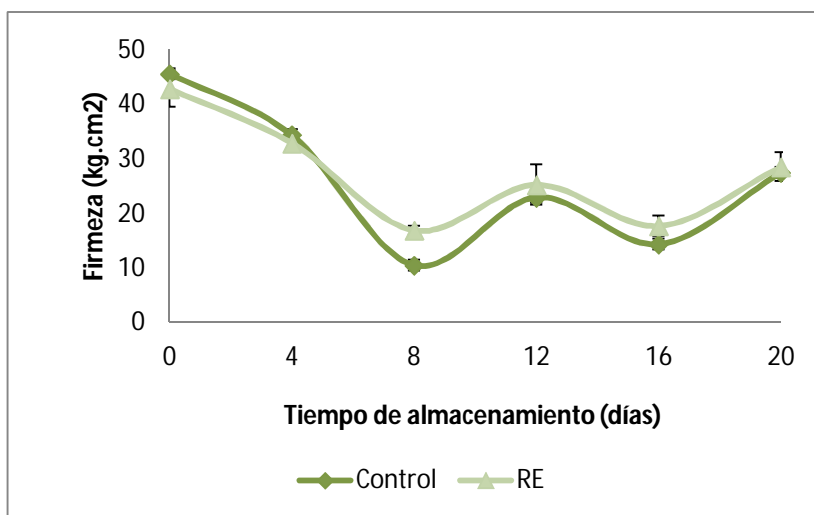


Figura 20. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de calabacita control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

La firmeza de la calabacita fue disminuyendo hasta el día ocho esto se le atribuye a los cambios fisicoquímicos y estructurales (Zapata *et al.*, 2010), pero para el día 12 está



aumento debido a la pérdida de peso que va teniendo el fruto al pasar los días la piel de este va ganando elasticidad al ir disminuyendo su peso al día 16, además de que el rompimiento de los polisacáridos durante la maduración causa el debilitamiento de las paredes celulares provocando el ablandamiento de la fruta.

Los resultados obtenidos no presentan el mismo efecto que el trabajo realizado por Pontigo-Suárez *et al* (2015) quienes formularon un recubrimiento a base de CMC para el manejo postcosecha de papaya 'Maradol' y observaron el mismo comportamiento. Debido a que en esta investigación se tuvo un comportamiento similar de los frutos recubiertos a los no recubiertos, ya que no aumento ni disminuyo la firmeza de los productos en estudio.

### 5.4.1.2 Pérdida de peso

Al mismo tiempo que ocurre la respiración, el producto cosechado continúa perdiendo agua hacia la atmósfera por un proceso conocido como transpiración que es una pérdida de agua del producto cosechado que causa disminución significativa del peso y a medida que avanza, disminuye la apariencia y elasticidad del producto perdiendo su turgencia, es decir, se vuelve blando y marchito (FAO, 2015).

La Figura 21 muestra la pérdida de peso de calabacita expresado en porcentaje de pérdida de peso, en función a los días de almacenamiento. Es evidente que todos los frutos presentaron una pérdida de peso progresiva con el tiempo de estudio, en el lote con recubrimiento (RE) fue en promedio 6.18% mayor respecto a los controles, esto debido a que la respiración y transpiración son mecanismos fisiológicos ligados, este efecto se alcanza a percibir tanto para las frutas recubiertas como para las no recubiertas. La pérdida de peso expresada en las calabacitas evaluadas no mostró diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) a lo largo del almacenamiento. Con esto podemos decir que no hubo un cambio representativo que afecte al fruto en estudio con el recubrimiento a base de CMC.



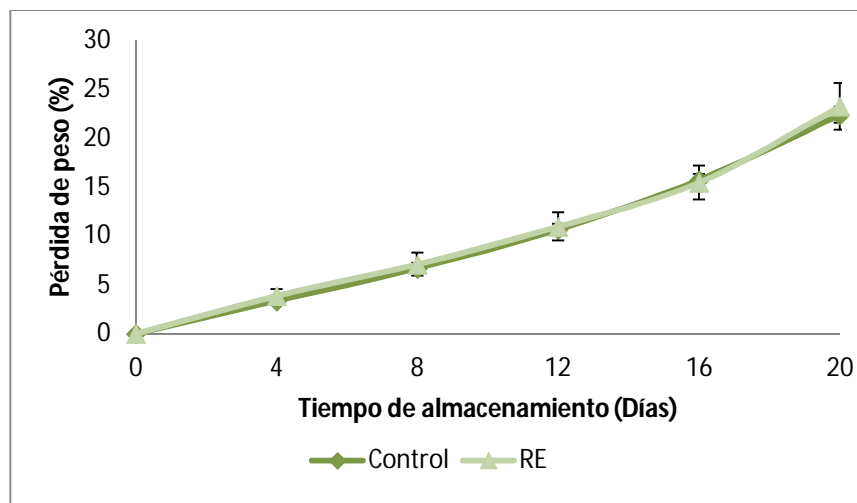


Figura 21. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en calabacita control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

En un estudio realizado por Muy *et al.* (2004) evaluando la aplicación de cera en el estatus hídrico y la calidad postcosecha de frutos de mango. La aplicación de cera disminuyó la pérdida de peso solamente en los frutos almacenados en altos valores de déficit de presión (1.52 kPa), ya que la pérdida de peso de los frutos almacenados a valores más bajos de déficit de presión fue similar a los frutos sin encerar comparado con los resultados en el presente estudio no concuerdan ya que al aplicar el recubrimiento comestible no disminuyó la pérdida de peso en las calabacitas la mantuvo igual que para los frutos control.

Uno de los propósitos de la aplicación de cubiertas sobre la superficie de frutos, es retardar la migración de humedad y la pérdida de compuestos volátiles para extender la calidad comercial de los frutos como se demuestra en el trabajo de Aguilar-Mendez *et al.*, (2012); sin embargo, en los resultados obtenidos no se consiguió ese objetivo probablemente las condiciones de almacenamiento no fueron las adecuadas debido a la fricción entre los frutos con las paredes de los contenedores y esto pudo haber ocasionado un estrés que aceleró el proceso de transpiración, además de la excesiva manipulación a la cual estuvieron expuesta los frutos.

### 5.4.1.3 Color

El color es el cambio más obvio que se presenta en muchos frutos y es, a menudo, el principal criterio utilizado por los consumidores para determinar si un fruto está maduro o



no. Los cambios de color durante la maduración de la mayoría de los frutos, son producto, principalmente, de la degradación de la clorofila y la síntesis de pigmentos tales como carotenoides y antocianinas (Figueroa *et al.*, 2011)

- **Luminosidad**

La luminosidad en las frutas es un parámetro que es considerado de calidad ya que un producto luminoso es más atractivo para el consumidor debido a que se asocia con la frescura del producto. Al inicio del periodo de almacenamiento, los valores obtenidos fueron de 51.1 y 51.7% para las calabacitas sin y con recubrimiento, respectivamente en la Figura 22 se puede observar que entre el tratamiento control y el recubierto no tuvo diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) respecto a la luminosidad, lo cual quiere decir que el fruto no se vio afectado por el recubrimiento durante los 20 días de almacenamiento.

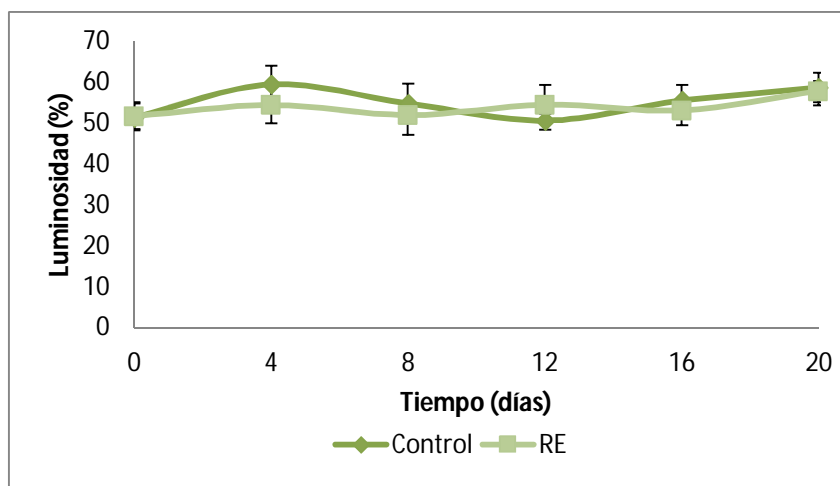


Figura 22. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de calabacita control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

En un estudio realizado por Del Valle *et al.* (2005) se observó que al aplicar un recubrimiento a base de mucílago de cactus y glicerol en fresa almacenada 10 días a 5°C y 75% H. R.; se observó una disminución del color atribuyéndose al incremento de la respiración y a los procesos enzimáticos que dan como resultado una pérdida de calidad y en algunas pigmentaciones oscuras, por lo tanto el recubrimiento no modificó el color original de los productos en estudio al igual que en el presente estudio.



El efecto mostrado por el polisacárido concuerda con lo obtenido por Ghanbarzadeth y Almasi (2011) quienes reportaron que al incrementar el contenido de carboximetilcelulosa (CMC) en películas a base de almidones modificados y CMC los valores de L incrementaron significativamente mejorando sus propiedades ópticas.

- **Croma**

En la saturación del color las calabacitas con y sin recubrimiento presentaron disminución en el porcentaje de croma (Figura 23) con respecto al tiempo de almacenamiento siendo de 4.6% la pérdida para calabacitas recubiertas y de 9.2% para las control del inicio del estudio hasta los 20 días de evaluación. Los frutos recubiertos presentaron diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) con respecto a los no recubiertos al día 4 de estudio. Al inicio tuvo 27.2% y 26.35% de croma en las calabacitas control y con tratamiento respectivamente y a pesar de una fluctuación a través del tiempo al final tuvo un porcentaje de 24.7 y 25.16 para las calabacitas control y sin recubrimiento respectivamente.

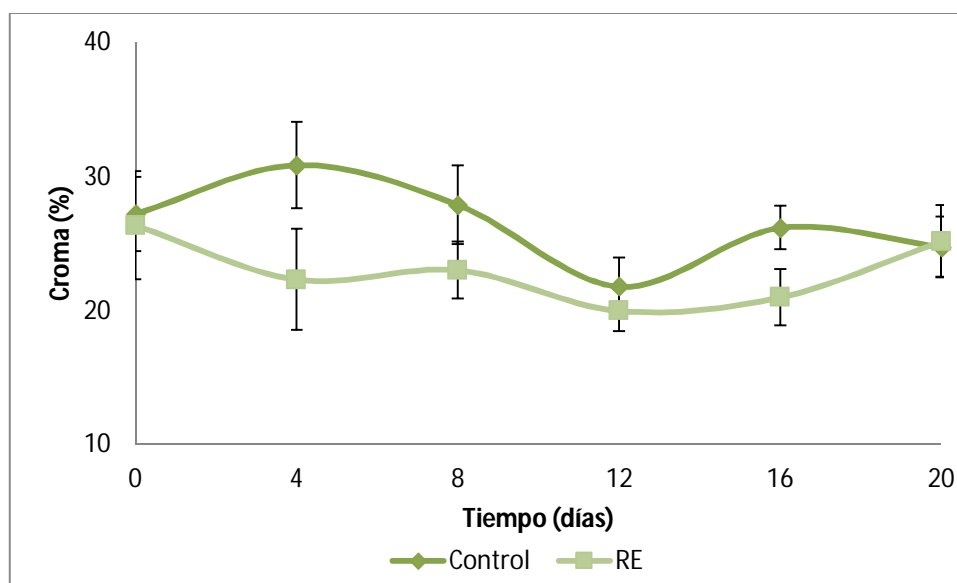


Figura 23. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de Calabacita. Control y RE= Calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

El porcentaje de croma disminuyó 19.89% (27.20 a 21.79) para las calabacitas control y 24.2% (26.35 a 19.75) para las recubiertas hasta el día 12. Durante el proceso de maduración los pigmentos que dan color se degradan, es así como la clorofila (verde)



desaparece y se hace visible a los carotenos (amarillos) o antocianinas (rojo) causando modificaciones en el color (Mandujano, 2006).

- **Tono**

Un tono uniforme e intenso en la coloración de los frutos es un indicador importante de la madurez en frutos en donde no hay cambios substanciales luego de ser cosechados, además de que también la pérdida de tono en un fruto además de otros factores pueden ser indicadores de reacciones enzimáticas durante la senescencia o incluso de ciertos microorganismos en el fruto (González, 2010).

La tonalidad de las calabacitas recubiertas aumento 2.95% (74.75 s 77.03) del día 0 al día 20 de almacenamiento (Figura 24), el análisis estadístico no mostró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) respecto a la tonalidad de las calabacitas con tratamiento y control. En el desarrollo de la experimentación se observó cambios en la tonalidad de las calabacitas, en los controles y los recubiertos dichos cambios fueron relacionados con la maduración y por la presencia del hongo (pérdida de tono en las calabacitas).

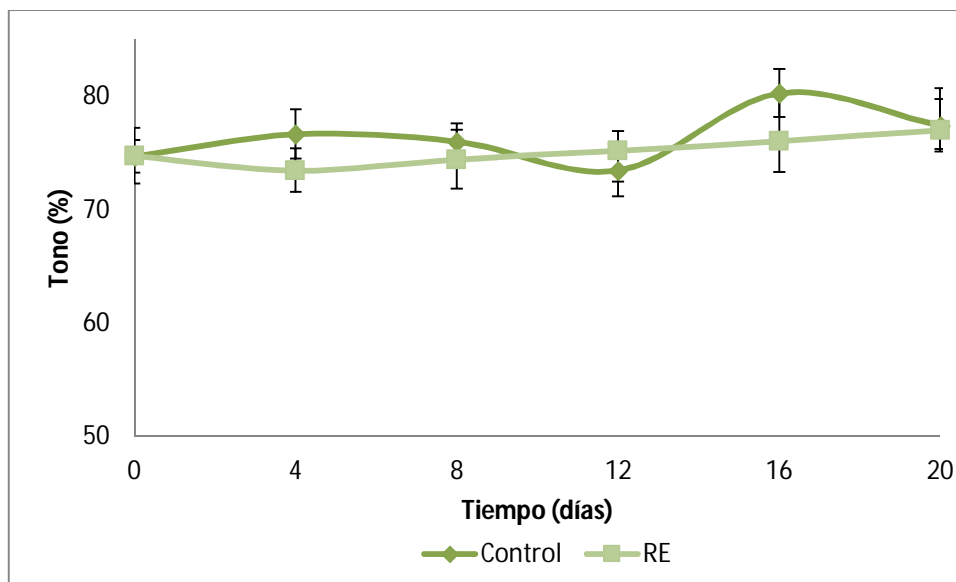


Figura 24. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de calabacita control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Estos resultados concuerdan con los de Díaz *et al.* (2010), quienes realizaron el desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano para aplicarlo a



fresas y extender su vida útil, obtuvieron como resultado que la evolución del color durante el almacenamiento incremento todas las coordenadas registrándose muestras más rojas, menos luminosas y con mayor cromas y tono del día 0 al 20 de almacenamiento, al igual que las calabacitas recubiertas con CMC ya que mantuvo los atributos físicos de color.

### **5.4.2 Parámetro fisiológico**

#### **5.4.2.1 Respiración**

La respiración en frutas y hortalizas, es un proceso metabólico que toma los azúcares, el almidón y los ácidos orgánicos entre otros compuestos, como materia prima, los somete a una degradación oxidativa, transformándolos en compuestos más simples como el dióxido de carbono, el agua y en energía liberada, con destino a otras síntesis y al mantenimiento de su vida. El controlar la respiración de estos tejidos vegetales mejorará el almacenamiento y alargará la vida de anaquel, aunque se requiere de un nivel de respiración para prevenir que el tejido vegetal muera (Torres, 2009).

La calabacita se considera un fruto de tipo climatérico ya que durante la maduración este genera CO<sub>2</sub> y produce etileno, lo que conduce tanto a cambios tanto físicos como químicos. En la Figura 25 se observa el máximo climaterio de la calabacita para el control al día 18 y respecto al recubrimiento al día 12 obteniendo una tasa de respiración de 110.25 y 83.73 mgCO<sub>2</sub>/kg h respectivamente, es decir se obtuvo una respiración mayor 40.63% (197.6 a 332.84) para las calabacitas control respecto a las que tenían tratamiento en el día 18 de estudio.

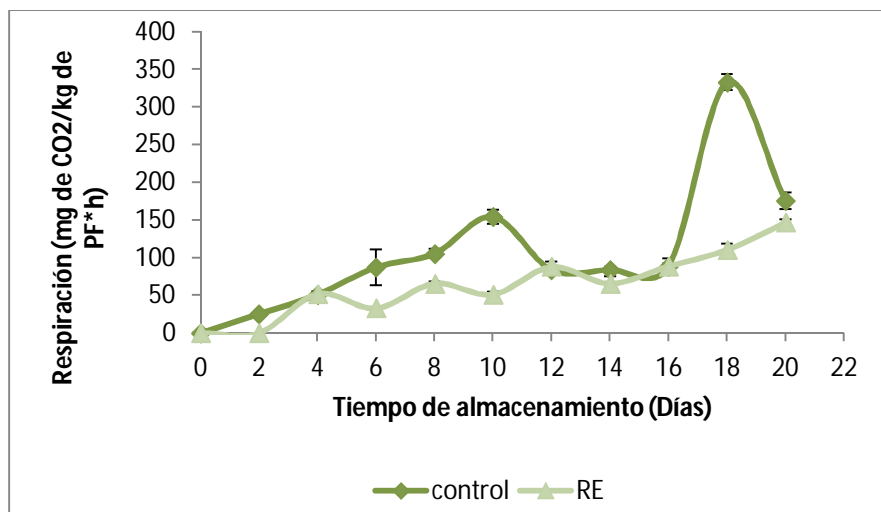


Figura 25. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados obtenidos concuerdan con Andrade *et al.* (2013), quienes evaluaron un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol, a base de almidón y cera de laurel, donde se observó que el índice de respiración entre frutos recubiertos y los testigo presentaron reducción del 32.5% factor beneficio que indica la efectividad del recubrimiento para generar una barrera semipermeable al dióxido de carbono y al oxígeno, capaz de hacer que los tomates con tratamiento disminuyan la intensidad respiratoria, conservando su calidad fisicoquímica y sensorial por un tiempo mayor que los testigos.

A su vez estos resultados coinciden con los descritos por Maftoonazad y Ramaswamy (2007) quienes evaluaron el efecto de un recubrimiento a base de pectina en aguacates y observaron las muestras sin recubrir registraron un aumento en la respiración con respecto a las muestras recubiertas las cuales presentaron menores valores de respiración (mg CO<sub>2</sub>/Kg h).

## 5.4.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad

### 5.4.3.1 Incidencia de la enfermedad

La presencia de *Alternaria alternata* es una de las limitaciones de la vida útil de los frutos, la incidencia de la enfermedad se mantuvo en constante aumento como se muestra en la Figura 26. Las calabacitas control mostraron 50% de incidencia de la enfermedad desde el





día 12, mientras que las recubiertas presentaron un 40% de enfermedad. Estadísticamente se presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de incidencia de la enfermedad de calabacitas con y sin tratamiento al día 12.

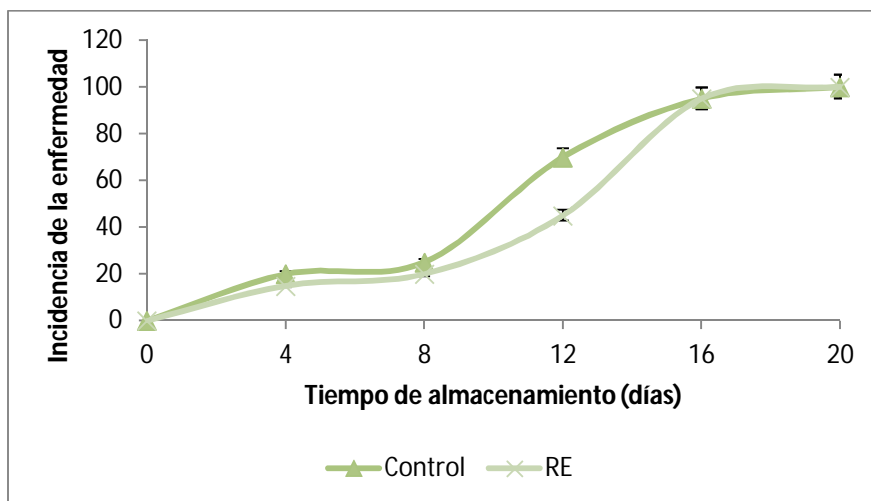


Figura 26. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Incidencia de la enfermedad de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados obtenidos en la incidencia son contrarios a lo reportado por Asgar *et al.* (2013) en Chile (*Capsicum annuum* L) inoculando con *Colletotrichum capsici* y recubierto con extracto de propóleo verde de Brasil y aceite de canela, donde los mayores valores de incidencia se obtuvieron en los chiles control. Las calabacitas con y sin recubrimiento presentaron un 100% de incidencia de la enfermedad ya que todos los frutos presentaron infección pero no en el mismo grado, lo cual quiere decir que la aplicación del recubrimiento no fue efectiva para inhibir la enfermedad causada por *A. alternata*.

### 5.4.3.2 Severidad de la enfermedad

La severidad de la enfermedad personifica los cambios adversos de calidad que se produce en los productos hortofrutícolas. En la Figura 27 se observa que la severidad de la enfermedad fue notable a partir del día 4 en las calabacitas con y sin tratamiento, mostrando una tendencia ascendente hasta el final del almacenamiento.

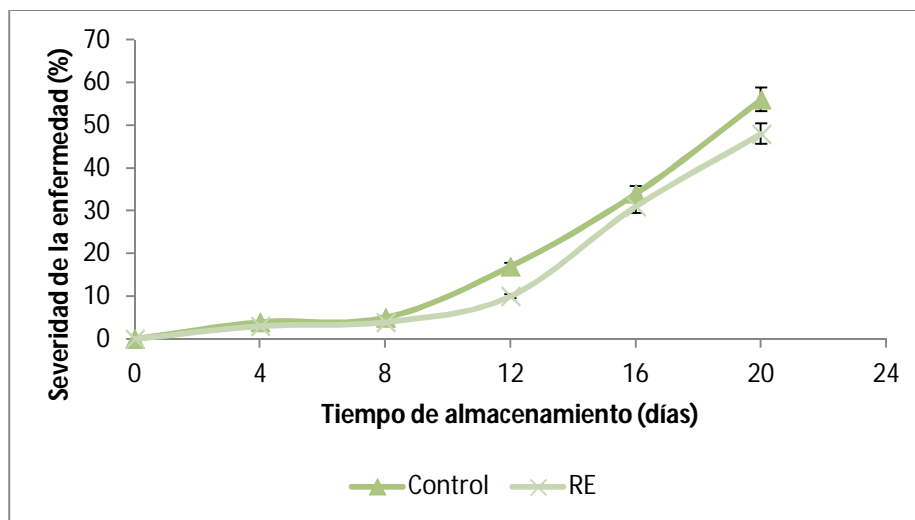


Figura 27. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Severidad de la enfermedad de calabacitas control y RE= calabacitas con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Un porcentaje de 56% de severidad se registró en los frutos infectados sin recubrimiento, mientras que las calabacitas con tratamiento y adicionadas con extracto mostraron un valor de 48%, es decir se obtuvo una reducción de 14.28% en el porcentaje de severidad de la enfermedad. Estadísticamente presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) a partir del día 12, en el porcentaje de severidad de los dos lotes en estudio (con y sin tratamiento) esto debido a que el índice de daño de los frutos fue más severo para los control que para los que tenían tratamiento mostrando el poder antifúngico de la hoja de guayaba sobre la aplicación de recubrimiento en las calabacitas.

Los resultados de severidad concuerdan con lo reportado por Maqbool y Chinnan (2010) quienes evaluaron un recubrimiento a base de goma arábica y quitosano en plátano inoculado con *Colletotrichum musae*, reportando que la severidad aumentaron con el paso del tiempo y registraron que los primeros síntomas de antracnosis se presentan en los frutos control.

La aplicación del recubrimiento adicionado con extracto de hoja de guayaba permitió disminuir el desarrollo de la enfermedad causada por *A. alternata* en la calabacita.

En la Tabla 19 se muestra el seguimiento fotográfico de las pruebas *in vivo* de las calabacitas en las cuales se observan los síntomas causados por el ataque del hongo



inoculado *A. alternata* y la aplicación del recubrimiento comestible con extracto de hoja de guayaba. Se observa que las calabacitas con y sin recubrimiento mostraron crecimiento de la enfermedad a partir del día 4.

Tabla 21. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en calabacita sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *A. alternata*.









Día	Tratamiento	
	Sin recubrimiento	Con recubrimiento
0		
4		
8		
12		



Tabla 19. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en calabacita sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *A. alternata*. (continuación).



### 5.5 Pruebas *in vivo* en jitomate, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba

#### 5.5.1 Parámetros de calidad

##### 5.5.1.1 Firmeza

La pérdida de textura es el cambio más notable que ocurre en frutas y vegetales durante su almacenamiento, y está relacionado con los cambios metabólicos y con la pérdida de humedad (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

Los jitomates sin recubrimiento presentaron una disminución en la firmeza (Figura 28) con respecto al tiempo de almacenamiento siendo de 43% la pérdida para el jitomate control y para los jitomates con tratamiento presentaron un aumento de firmeza del 4.41% del inicio del estudio hasta los 20 días de evaluación. Los frutos recubiertos no presentaron diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ) respecto al control al día 20 de almacenamiento.

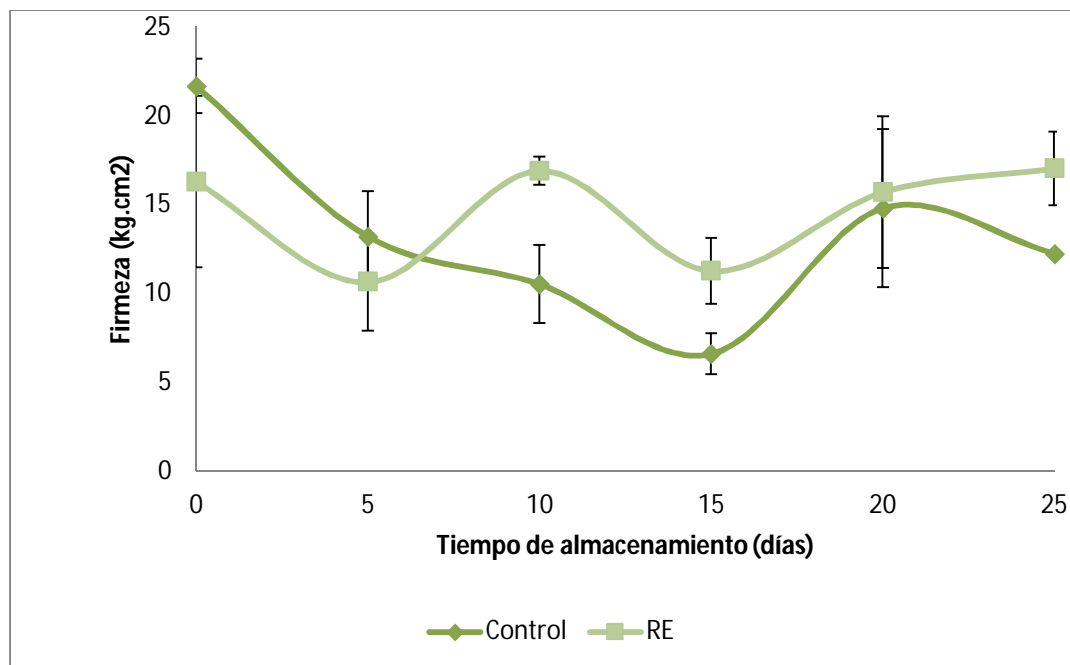


Figura 28. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

La firmeza de los jitomates control fue disminuyendo conforme paso el tiempo de almacenamiento, para el caso de los jitomates con recubrimiento la firmeza aumento debido a que la fuerza necesaria para romper la pared celular de este fue mayor requiriendo 17 Kg/cm<sup>2</sup> al día 25 de estudio.

En la investigación realizada por Aguilar-Méndez et al. (2012) reportaron que el efecto del recubrimiento a base de gelatina-CMC en la firmeza de los frutos disminuyó a lo largo del periodo de almacenamiento. Sin embargo los frutos control presentaron valores menores de firmeza al finalizar el experimento como se demuestra en la presente investigación; por su parte Dávila-Aviña et al. (2012) observaron que la aplicación de recubrimientos a base de cera de carnauba y aceite mineral redujeron significativamente las pérdidas de agua y de firmeza en tomate.

De acuerdo a los resultados obtenidos los frutos recubiertos respecto al control tuvieron un comportamiento similar en los últimos días de evaluación, por lo que se deduce que la aplicación del recubrimiento adicionado con extracto no afecto el parámetro de firmeza en comparación con los frutos control.





## 5.5.1.2 Pérdida de peso

La pérdida de peso en las frutas y verduras frescas se debe principalmente a la pérdida de agua causada por los procesos de transpiración y respiración y es una de las principales causas de deterioro de la calidad de los cultivos hortofrutícolas frescos después de la cosecha (Peerzada *et al.*, 2015).

En la Figura 29 se observa que hasta el día 6, los jitomates recubiertos y sin recubrir presentaron un porcentaje de pérdida similar (1.35 y 1.14%, respectivamente). Sin embargo, al final del periodo de almacenamiento, la pérdida fisiológica de peso de los frutos aumentó con el tiempo de ensayo como consecuencia de la transpiración, los jitomates tratados con recubrimiento tuvieron 17% menor pérdida de peso respecto al control a los 26 días de tratamiento. Estadísticamente, no se observó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el porcentaje de pérdida de peso entre los jitomates con y sin recubrimiento lo cual nos quiere decir que no causa efecto en la pérdida de peso la aplicación de recubrimiento.

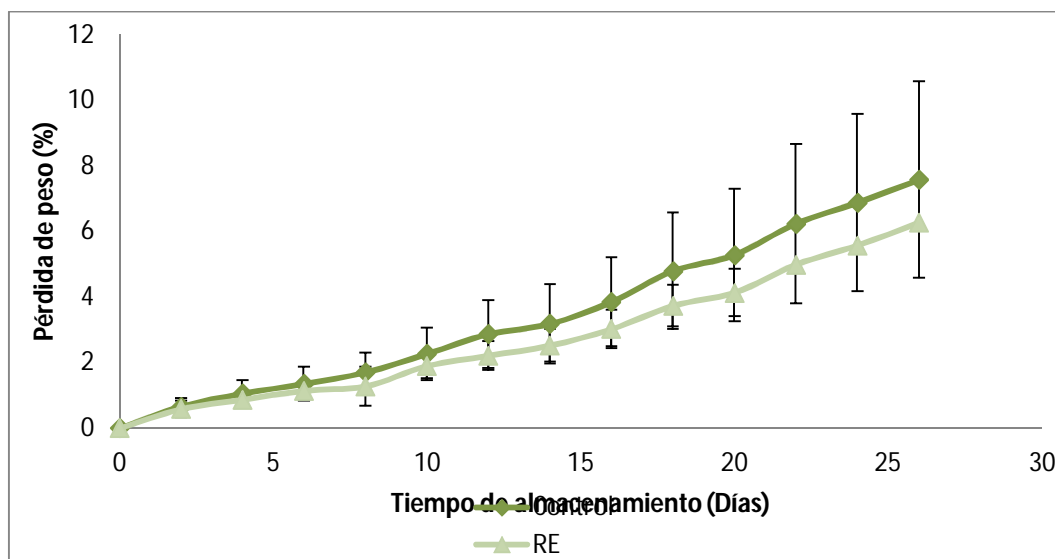


Figura 29. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Andrade *et al.*, (2013) examinaron el desarrollo de un recubrimiento comestible compuesto para la conservación del tomate de árbol, los resultados obtenidos revelaron que el revestimiento redujo en un 30% la pérdida de peso, este estudio demuestra que los





recubrimientos a base de cera de laurel son eficientes en la reducción de este parámetro durante el almacenamiento, a diferencia del presente estudio, en el cual se empleó un recubrimiento a base de polisacárido el cual tiene excelentes propiedades físicas y estructurales pero poca capacidad de barrera frente a la humedad y las ceras tienen excelentes propiedades de barrera frente a la humedad debido a sus propiedades hidrofóbicas.

### 5.5.1.3 Color

La maduración de los frutos puede ser definida como la secuencia de cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos que conducen a la formación de un fruto para el consumo humano. Dentro de los cambios fisiológicos se encuentra el cambio de color donde los cloroplastos de las células desenmascaran otros pigmentos existentes, como los carotenoides. Además, la maduración implica la síntesis de novo de pigmentos como las antocianinas. Esto provoca un cambio en el color del fruto, que deja de ser verde (Asenjo-Vera *et al.*, 2012).

- **Luminosidad**

La luminosidad en los frutos se considera un parámetro importante, ya que para el consumidor se refleja en la calidad del producto. En la Figura 30 se pueden observar los cambios ocasionados en la luminosidad de jitomates por la aplicación del recubrimiento. Los jitomates con tratamiento presentaron un aumento de luminosidad del 8.39% (35.89 a 39.18) del primer al último día de ensayo, de igual manera el control presento un aumento de 3.51% (34.63 a 35.89) a los 25 días de almacenamiento.

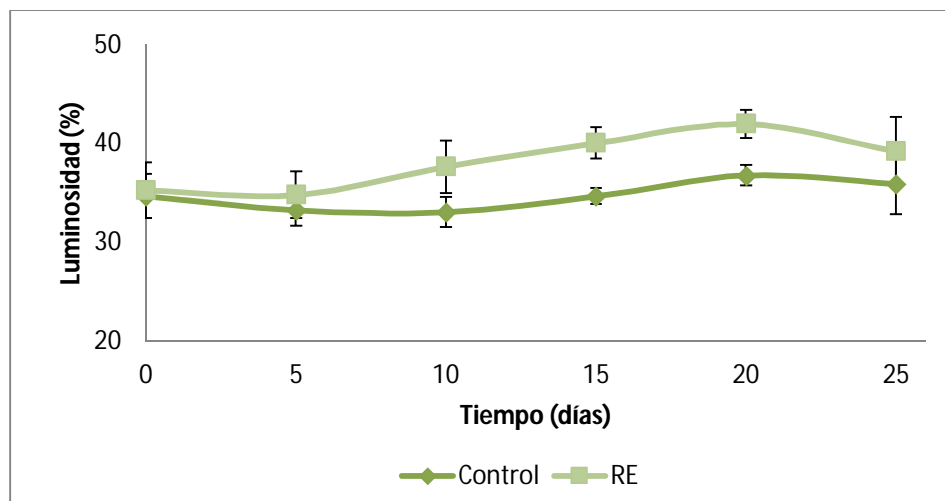


Figura 30. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

En los jitomates con tratamiento se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la luminosidad respecto a los controles a partir del día 10 de tratamiento.

Los valores reportados difieren con el estudio realizado por Romero-Bastida *et al.* (2011) debido a que las formulaciones de cera de candelilla con diferentes porciones de lípidos e hidroxipropilmetilcelulosa, mostraron más brillo y por lo tanto menor luminosidad al disminuir la proporción de cera de candelilla.

Por otra parte concuerdan con los obtenido por Davila-Aviña *et al.* (2012) quienes evaluaron los cambios de luminosidad ocasionados por el efecto de la aplicación de recubrimiento a base de cera de carnauba y aceite mineral en tomates y registraron valores de L más altos con el recubrimiento de aceite mineral seguido de la cera de carnauba en comparación con los frutos testigos.

En el presente estudio los valores de L fueron aumentando conforme pasaron los días de estudio lo cual nos dice que al aplicar recubrimiento comestible mantiene las características visuales respecto a los frutos control.



- **Croma**

En la figura 31 se observa una tendencia descendente del croma para los frutos control y con recubrimiento. Los jitomates que fueron tratados con recubrimiento, mostraron una disminución del 24.69% en relación del día 0 al 20, mientras que los frutos sin recubrimiento presentaron un decremento del 26.7% a los 20 días de estudio. Al día 25 hubo un aumento de croma para los jitomates tratados del 19.46% y para los control de 12.62% del día 20 al 25 de tratamiento.

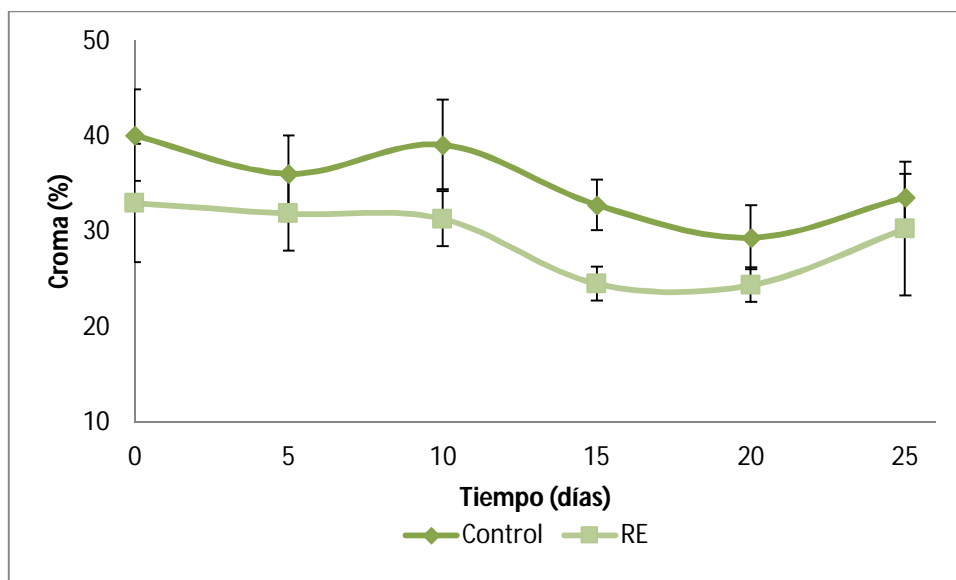


Figura 31. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Esta disminución en los valores de croma no coincide con lo reportado por Dávila-Aviña *et al.* (2012) quienes evaluaron los cambios en color ocasionado por el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de cera de carnauba y aceite mineral en tomates, reportando que los valores de croma aumentaron durante el periodo de almacenamiento, alcanzando los valores de croma más altos al final del experimento en los tomates control y los recubiertos con cera mientras que los valores de croma más bajos se registraron en los tomates con aceite mineral. En la aplicación de recubrimiento adicionado con extracto de guayaba los valores más altos de croma fueron al inicio de la experimentación de 40.07% para el control y 32.98% para el recubierto, el croma disminuyó 16.11% (40.07 a 33.61) en los jitomates control y para los recubiertos 8.17% (32.98 a 30.29).



- **Tono**

Un tono uniforme e intenso en la coloración de los frutos es un indicador importante de la madurez en frutos en donde no hay cambios substanciales luego de ser cosechados, además de que también la pérdida de tono en un fruto además de otros factores pueden ser indicadores de reacciones enzimáticas durante la senescencia o incluso reacciones de ciertos microorganismos en el fruto (González, 2010).

El tono ( $^{\circ}$ Hue) presento una tendencia descendente conforme transcurrieron los días de almacenamiento (Figura 32). El valor del tono de los jitomates con recubrimiento fue de 35.53, 36.24 y 36.27, en los días 0, 5 y 10 respectivamente, mientras que los jitomates control mostraron ángulos de tono de 40.95, 39.67 y 40.96. Del día 10 al 20 se mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el parámetro de tono para los frutos control respecto a los recubiertos.

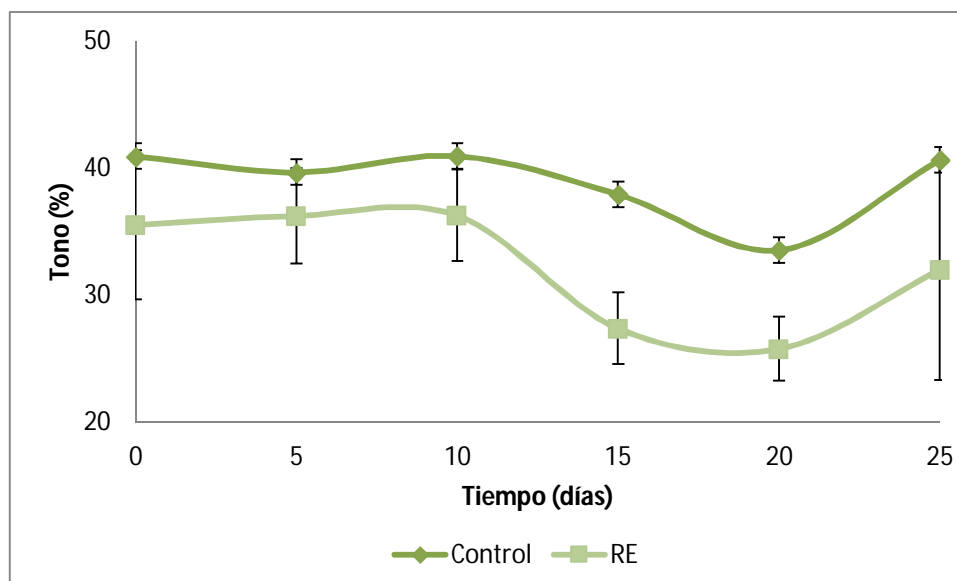


Figura 32. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Estudios realizados por Dávila-Aviña *et al.* (2011) también presentaron valores con descenso de tono en jitomates recubiertos con cera de carnauba, ya que el color verde de los jitomates inmaduros se debe a la clorofila. Del día 10 al 20 de almacenamiento se muestra un decremento significativo ( $p \leq 0.05$ ) de tono en los jitomates control se disminuye un



18.11% de tono y para los recubiertos un 29.01%. Con el inicio de la maduración la clorofila empieza a degradarse y se sintetizan los pigmentos amarillos, fundamentalmente xantofilas, y  $\beta$ -caroteno, que se hacen más aparentes con la progresiva destrucción de la clorofila. Posteriormente, aunque continúa la síntesis de dichos compuestos, el jitomate adquiere una coloración roja debido a la rápida acumulación de licopeno. El  $\beta$ -caroteno contribuye de forma importante al color del fruto en las primeras etapas de la maduración alcanzando su valor máximo poco antes del desarrollo del color (Nuez, 2011).

### 5.5.2 Parámetro fisiológico

#### 5.5.2.1 Respiración

Las células vegetales continúan siendo metabólicamente activas después de la cosecha, y siguen obteniendo la energía necesaria del proceso de respiración aerobia con la degradación de los productos más complejos normalmente en las células, como el almidón los azúcares y los ácidos orgánicos o moléculas más simples. La tasa de deterioro (percebilidad) de productos cosechados es proporcional a la tasa respiratoria (Figuroa *et al.*, 2011).

El jitomate se considera como un fruto de tipo climatérico, ya que durante la maduración este genera  $\text{CO}_2$ , y produce etileno, lo que conduce tanto a cambios físicos como químicos en la Figura 33 se observa que el punto climatérico para los jitomates recubiertos fue al día 18 de almacenamiento alcanzando una tasa de respiración de  $29.85 \text{ CO}_2/\text{kg h}$  y para los control fue al día 22 del periodo de ensayo obteniendo un  $16.87 \text{ CO}_2/\text{kg h}$ . Para el día 18 de almacenamiento los jitomates control presentaron 50.75% menor tasa respiratoria respecto a los recubiertos presentado diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en este parámetro.

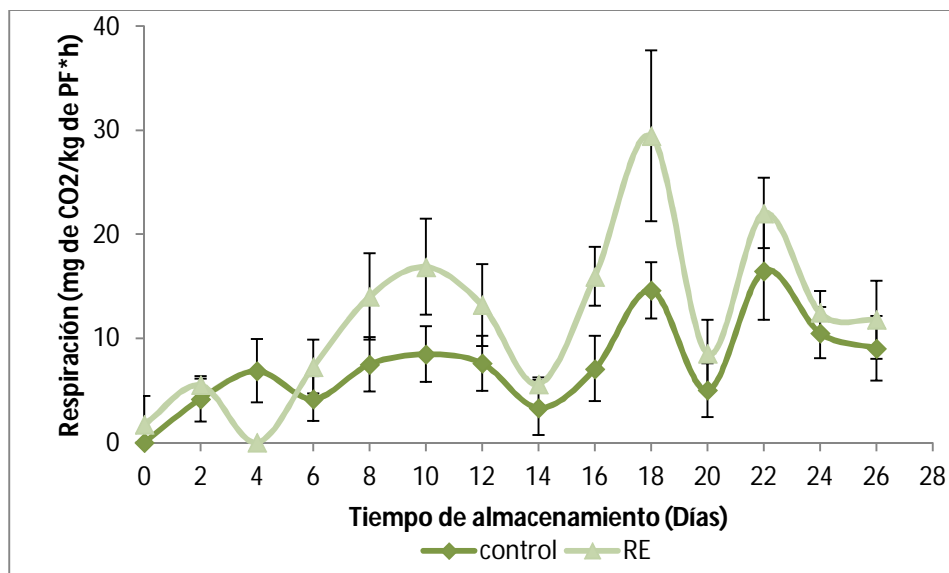


Figura 33. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

La respiración, como proceso fisiológico fundamental en la degradación y síntesis de metabolitos en el fruto, requiere como sustrato principal el oxígeno, que se ve disminuido por la barrera física que ejercen los recubrimientos comestibles. Por tanto, cabe esperar que su aplicación reduzca la tasa respiratoria de los frutos prolongando su vida útil. En el estudio realizado por Márquez *et al.* (2009) demostraron que con los días de almacenamiento los frutos recubiertos sufrieron disminución en la tasa de respiración en relación a los frutos control, en el presente estudio sucedió lo contrario ya que los frutos recubiertos presentaron tasa de respiración más alta respecto a los controles. La efectividad del recubrimiento depende de la barrera de oxígeno que los mismos ejerzan sobre el fruto.

## 5.5.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad

### 5.5.3.1 Incidencia de la enfermedad

Con la incidencia de la enfermedad se evaluaron los síntomas por el deterioro causado por el hongo en el fruto, la presencia de *Fusarium oxysporum* es una de las limitaciones de vida útil. En la Figura 34 se observa que la aplicación del recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* inoculados con *Fusarium oxysporum* mostró un efecto positivo en cuanto a la presencia de síntomas de la enfermedad con respecto al lote control. Los jitomates con tratamiento tuvieron un valor 15.78% menor





porcentaje de incidencia de la enfermedad que los jitomates control, a los 25 días de almacenamiento. Estadísticamente existió diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de incidencia de la enfermedad a partir del décimo día de almacenamiento.

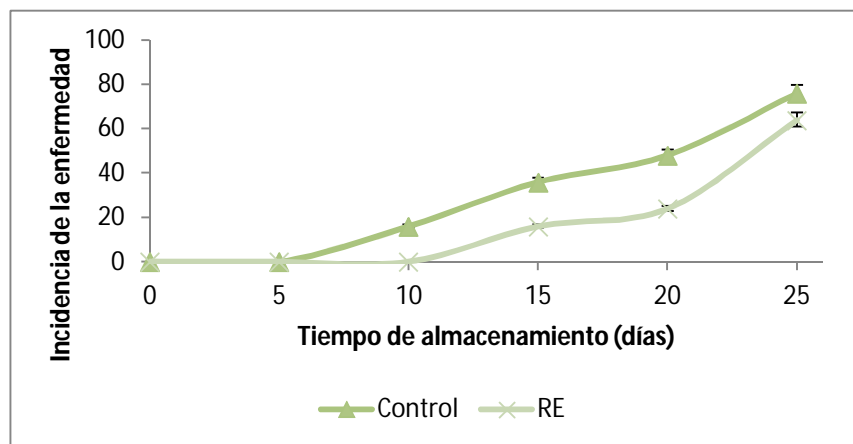


Figura 34. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en incidencia de la enfermedad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados coinciden con los presentados por Barrera *et al.* (2012) quienes emplearon un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo postcosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. `Hawaiana`) el estudio mostró que las papayas control tendieron más a deteriorarse con respecto a las papayas recubiertas como se puede observar de igual manera para los jitomates recubiertos las lesiones en la piel de fruto fue 20% (75 a 60) menor respecto a los jitomates control.

Este efecto se atribuye al desarrollo de los hongos, el cual depende de diversos factores, siendo el principal la temperatura, seguido de la humedad relativa, la presencia de nutrientes disponibles y otras condiciones ambientales, ya que la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio es estrictamente dependiente de la temperatura se considera el factor limitante para el desarrollo de la enfermedad (Valero y Serrano, 2010).

### 5.5.3.2 Severidad de la enfermedad

La severidad de la enfermedad se evaluó mediante la observación de cada uno de los frutos con el fin de identificar los diferentes niveles en cuanto a síntomas de enfermedad que presentaban cada uno de los jitomates. En la Figura 35 se observa que los jitomates



infectados con recubrimiento mostraron 42.55% menor porcentaje de severidad de la enfermedad con respecto a los jitomates control al día 25 de almacenamiento. Estadísticamente se presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) al día 10 en el porcentaje de severidad de los dos lotes en estudio (con y sin recubrimiento)

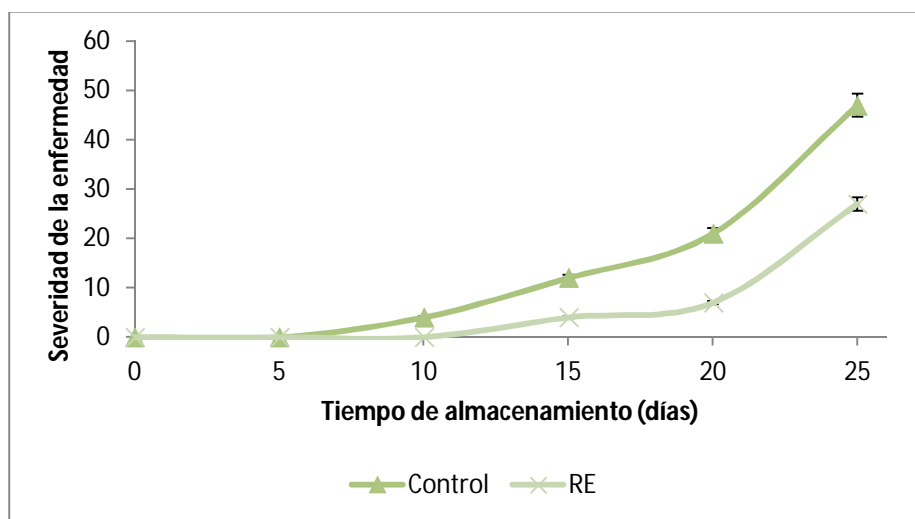


Figura 35. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en severidad de la enfermedad de jitomate control y RE= jitomate con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.





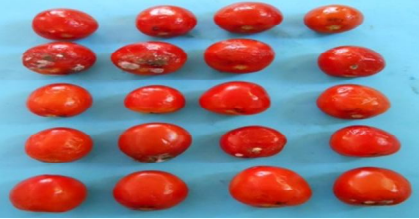







Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Martínez-Martínez (2011) donde un recubrimiento de almidón de maíz adicionado con aceite esencial de canela redujo en un 74.33% la severidad de la enfermedad en papaya inoculada con *C. gloeosporioides*.

En la Tabla 20 se muestra el seguimiento fotográfico de las pruebas *in vivo* de la aplicación de recubrimiento comestible adicionado o no con extracto etanólico de hoja de guayaba en jitomates inoculados con *Fusarium oxysporum*. Se puede observar que los síntomas causados por el hongo se presentaron a partir del día 10 en ambos lotes.

Los síntomas de la enfermedad comienzan en el pedículo del jitomate y comienzan a expandirse hacia la epidermis rompiendo los tejidos celulares causando la pudrición del fruto a los 25 días de almacenamiento como se puede observar la aplicación del recubrimiento comestible disminuye los síntomas de la enfermedad alargando la vida de anaquel del jitomate en refrigeración. La menor severidad de la enfermedad se observó en los jitomates con recubrimientos a base de CMC adicionados con extracto etanólico de hoja de guayaba, comprobando el poder antifúngico contra *F. oxysporum*.



Tabla 22. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en jitomate sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *F. oxysporum*.

Día	Tratamiento	
	Sin recubrimiento	Con recubrimiento
0		
5		
10		
15		
20		
25		



## 5.6 Pruebas *in vivo* en naranja, con la aplicación de recubrimiento a base de CMC adicionado con extracto etanólico de hoja de guayaba

### 5.6.1 Parámetros de calidad

#### 5.6.1.1 Firmeza

La firmeza se relaciona con el nivel de madurez y puede estar influenciada por la variedad del producto, la región y las condiciones de cultivo. La determinación de la firmeza de una fruta por medio del penetrómetro se basa en la presión necesaria para insertar un puntal de tamaño específico en la pulpa de la fruta a una profundidad dada (Angón-Galván *et al.*, 2008).

Las naranjas con y sin recubrimiento registraron una disminución de la firmeza (Figura 36) con respecto al tiempo de almacenamiento, ya que se presentó una pérdida de firmeza de 36.34 y 44.14%, respectivamente. Al inicio de la evaluación (día 0) se registró una firmeza de 65.94 kg/cm<sup>2</sup> en las naranjas control y de 60.31% para las recubiertas. Al día 25, los frutos con tratamiento fueron 12.25% (55.85 a 63.65 Kg/cm<sup>2</sup>) menos firmes que los frutos control. Sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la firmeza de las naranjas con y sin tratamiento.

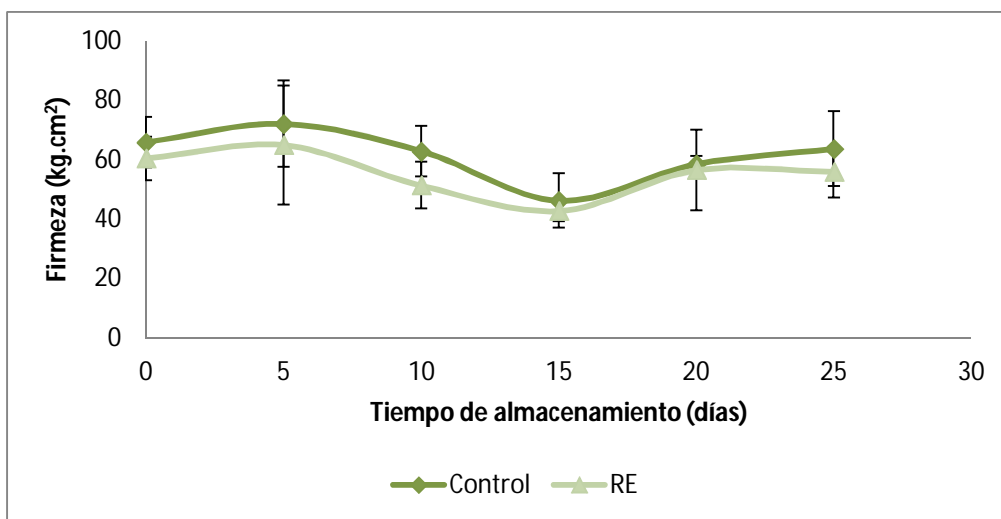


Figura 36. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la firmeza de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.



En cítricos el ablandamiento está relacionado con la degradación de la pared celular conforme transcurre la maduración del fruto. Olmo *et al.* (2000) observaron que la firmeza de naranja `Valencia` disminuyó de 42 a 38 kg cm<sup>-2</sup> durante el almacenamiento por 4 semanas a 8°C siendo esta disminución más evidente después de transferir los frutos por 12 días a 20°C. En el presente estudio se tienen valores de firmeza más altos que en el referenciado pero concuerdan en que al ir aumentando el tiempo de almacenamiento la firmeza del fruto va disminuyendo.

Por lo que se concluye que el recubrimiento comestible a base de CMC no tuvo un efecto favorable en la firmeza de la naranja, pero tampoco dañaron las características físicas ya que se obtuvo un comportamiento similar a las naranjas control.

### 5.6.1.2 Pérdida de peso

La transpiración, deshidratación o pérdida de agua de los frutos en postcosecha constituye el principal problema que demerita la calidad de consumo. Se ha observado que cuando los frutos pierden 6 a 7% de su peso, la firmeza y la apariencia disminuye y por consecuencia la calidad y vida de anaquel (Coop-Gamas *et al.*, 2011).

En la Figura 37 se observa una tendencia ascendente en el porcentaje de pérdida de peso de las naranjas en estudio. Las naranjas con recubrimiento presentaron 6.77% de pérdida de peso al final del almacenamiento, mientras que para las naranjas control fue de 6.26%. El análisis estadístico no mostro diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el porcentaje de pérdida de peso de los frutos en estudio, durante el periodo de almacenamiento. Las naranjas control presentaron 7.44% menor pérdida de peso respecto a las recubiertas. La eficacia del recubrimiento en reducir la pérdida de peso va a depender el tipo de fruto, grosor y permeabilidad de la cubierta utilizada, así como de la temperatura de almacenamiento (Fortiz *et al.*, 2011).

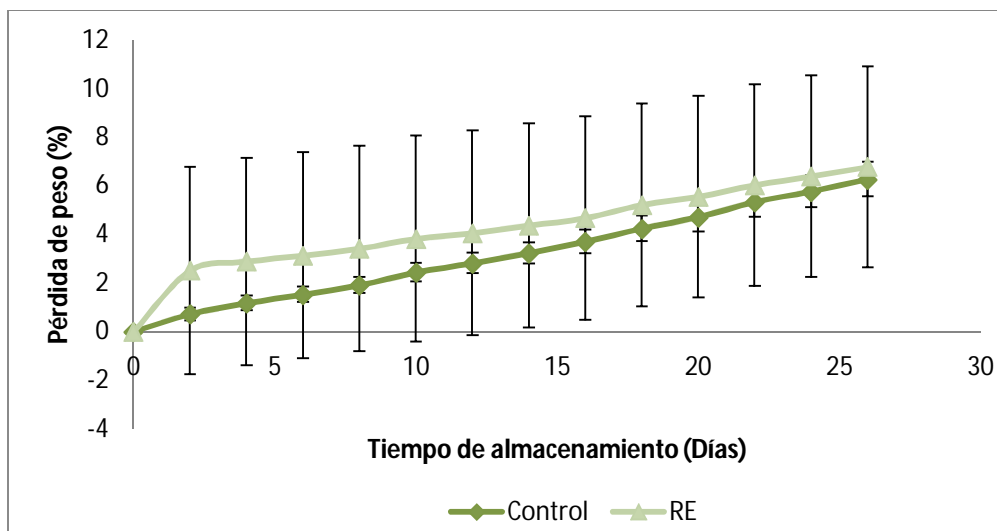


Figura 37. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la pérdida de peso en naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados obtenidos coinciden con el estudio realizado por Fortiz *et al.* (2011) en el cual evaluaron el efecto de recubrimiento con quitosano y cera comercial en la calidad de naranja valencia durante el almacenamiento donde la pérdida de peso aumento significativamente ( $p \leq 0.05$ ) durante el periodo de almacenamiento a 20°C. Al termino del almacenamiento, el promedio de pérdida de peso fue de 5.12 y 6.78% para los frutos con cera comercial y con quitosano.

Se puede concluir que el recubrimiento nos ayuda a disminuir significativamente ( $p \leq 0.05$ ) pérdida de peso y firmeza de los frutos recubiertos.

### 5.6.1.3 Color

El color en la naranja es un criterio muy importante ya que en algunas ocasiones se utiliza como índice de calidad, el color se ve influenciado por la variedad, el tiempo de recolección y el área de producción donde prevalecen condiciones de temperatura y humedad relativa altas durante el período de desarrollo pueden tener una coloración verde que exceda un quinto de la superficie total del fruto (FAO, 2008)

- **Luminosidad**

En la Figura 38 se observa que la luminosidad de las naranjas control muestra una tendencia ascendente y para las recubiertas el % de luminosidad desciende conforme pasa





el tiempo de almacenamiento. Las naranjas sin recubrimiento presentaron un aumento de luminosidad del 0.71% (66.72 a 67.2) del primer al último día de ensayo, mientras que las naranjas presentaron una disminución de luminosidad del 13.51% a los 25 días de almacenamiento, lo que indica que el recubrimiento retrasa la degradación de carotenoides pigmentos que nos dan el color amarillo o naranja.

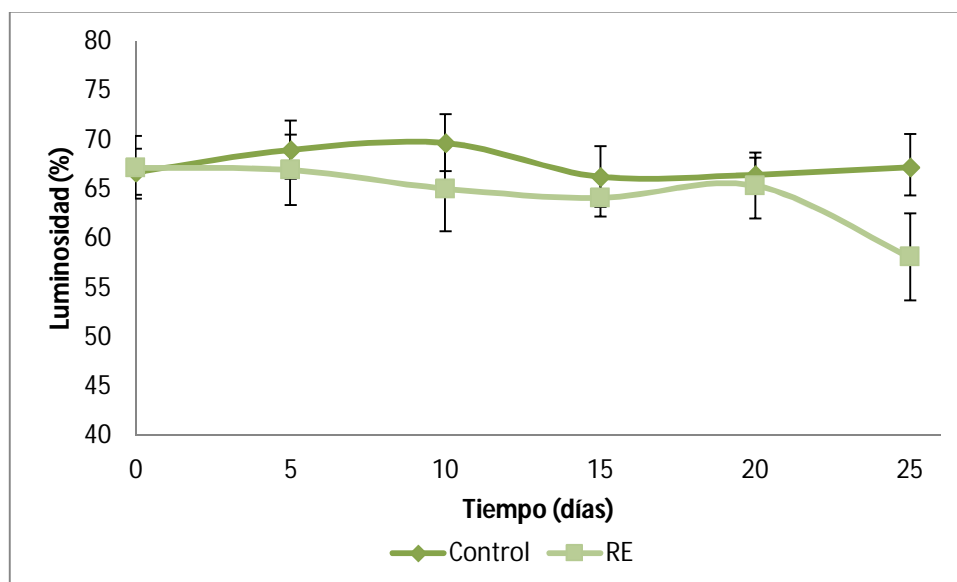


Figura 38. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la luminosidad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Desde el inicio del almacenamiento hasta el día 20 no hubo diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en los valores de luminosidad se encontraron en un intervalo de 64.12 a 69% para ambos lotes de naranja. En el último día de almacenamiento (día 25) se observó que las naranjas recubiertas tuvieron 13.54% menor luminosidad con respecto a los frutos control, mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en este parámetro.

- **Croma**

En la Figura 39 se muestra el comportamiento de croma en naranjas con recubrimiento, respecto a naranjas control. El croma presentó una tendencia descendente para los frutos con tratamiento mostrando un decremento de 45.52% (32.61 a 59.86) del primer al último día de almacenamiento. Para los frutos control el comportamiento de croma fue en promedio 65.75% durante los 25 días de ensayo.

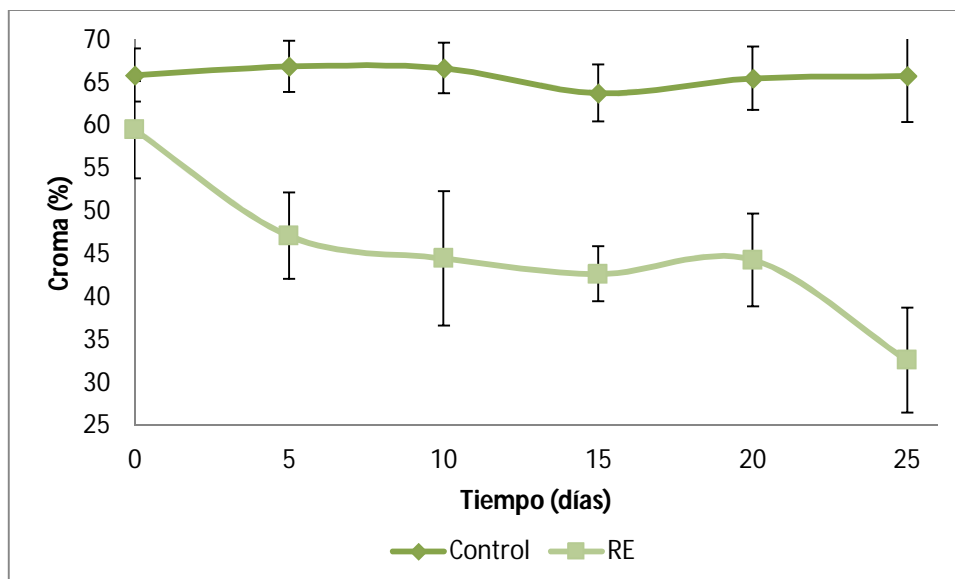


Figura 39. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el croma de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

En el inicio del almacenamiento el análisis estadístico no presentó diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el croma de ambos lotes, a partir del día 5 de estudio los resultados mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.005$ ) siendo 29.53% menor el croma de los frutos recubiertos respecto al control. Por lo tanto el recubrimiento no logró mantener la cromaticidad del color de la epidermis de las naranjas, ya que los valores de croma para los frutos recubiertos fueron disminuyendo respecto al control que se mantuvo estable durante los 25 días de almacenamiento.

En el estudio realizado por Fortiz *et al.* 2011 nos dice que en el momento de la cosecha el valor de croma de los frutos fue de  $64.5 \pm 4.4$  en las naranjas con cera comercial y de  $66.4 \pm 4.2$  en los tratados con quitosano. Durante el almacenamiento refrigerado + 6 días a  $20^\circ\text{C}$  los valores de croma de los frutos mostraron un comportamiento variable, no mostrando una tendencia definida. Lo cual concuerda con los resultados obtenidos durante la experimentación.

- **Tono**

Las naranjas con recubrimiento presentaron ángulos de tono 7.95% mayor en naranjas recubiertas con intervalos de 80.46 a 85.18% respecto a las naranjas control 80.04 a 76.59%



durante los 25 días de almacenamiento (Figura 40). El análisis estadístico mostro diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) respecto al tono en el día 20 de los frutos en estudio.

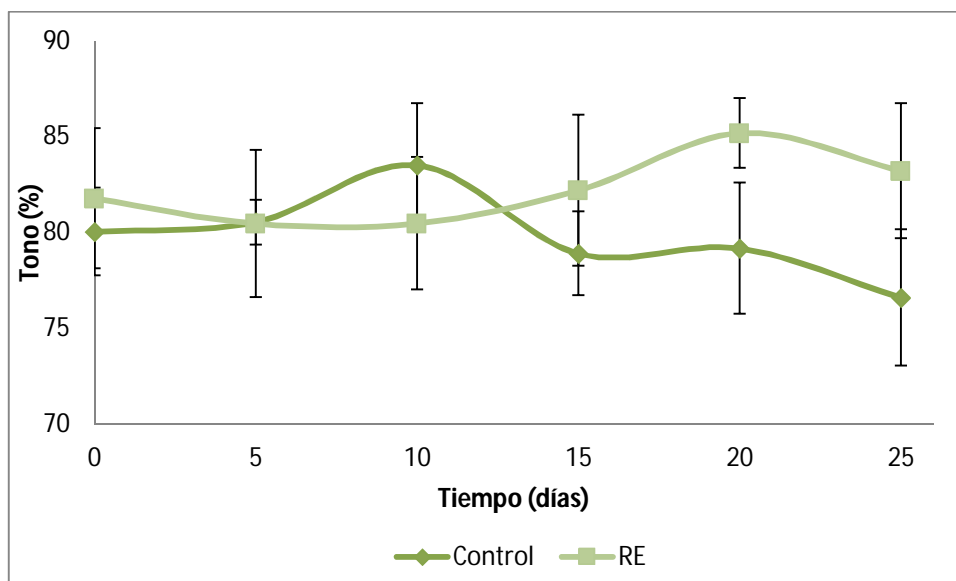


Figura 40. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en el tono de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Lo anterior difiere con el estudio realizado por Barrera-Bello *et al.* (2012), donde se evaluó un recubrimiento formulado con extracto etanólico de propóleo no afectó el cambio de color en la epidermis de la papaya, en comparación con el control, permitiendo una maduración normal del fruto. Los resultados obtenidos nos dicen que la aplicación del recubrimiento en las naranjas nos da mejores características de tonalidad en comparación con el control lo cual mejora la apariencia del producto.

## 5.6.2 Parámetro fisiológico

### 5.6.2.1 Respiración

En cuanto a la determinación de la tasa respiratoria, evaluada a través del consumo de oxígeno o generación de  $\text{CO}_2$ , es uno de los parámetros más importantes a evaluar en la calidad de los frutos, ya que caracteriza su actividad metabólica. Los recubrimientos son barreras a los gases y la mayor o menor disponibilidad de oxígeno influye en numerosas reacciones que conducen al fruto a un deterioro más o menos rápido. Por otra parte, limitar en exceso la disponibilidad de oxígeno o una acumulación excesiva de  $\text{CO}_2$  puede resultar muy perjudicial para el fruto. Este, como cualquier tejido vivo, necesita continuar de forma



controlada con su actividad metabólica, evitando así el inicio de otras rutas anaeróbicas que podrían causar putrefacciones e incluso riesgos para la salud (Brito *et al.*, 2012).

Con los días de almacenamiento, las naranjas se consideran frutos no climatéricos, la tasa de respiración mostro una tendencia descendente para ambos lotes de naranja. El valor de respiración al día 4 de naranjas con y sin tratamiento fue de 48.37 y 35.23 mgCO<sub>2</sub>/kg h respectivamente y al día 26 presentaron 41.39 y 33.81 mgCO<sub>2</sub>/kg h, es decir una disminución de 14.43% y 4.03% (Figura 41). El análisis estadístico mostro diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la tasa de respiración de las naranjas con y sin recubrimiento en el día 18 de almacenamiento.

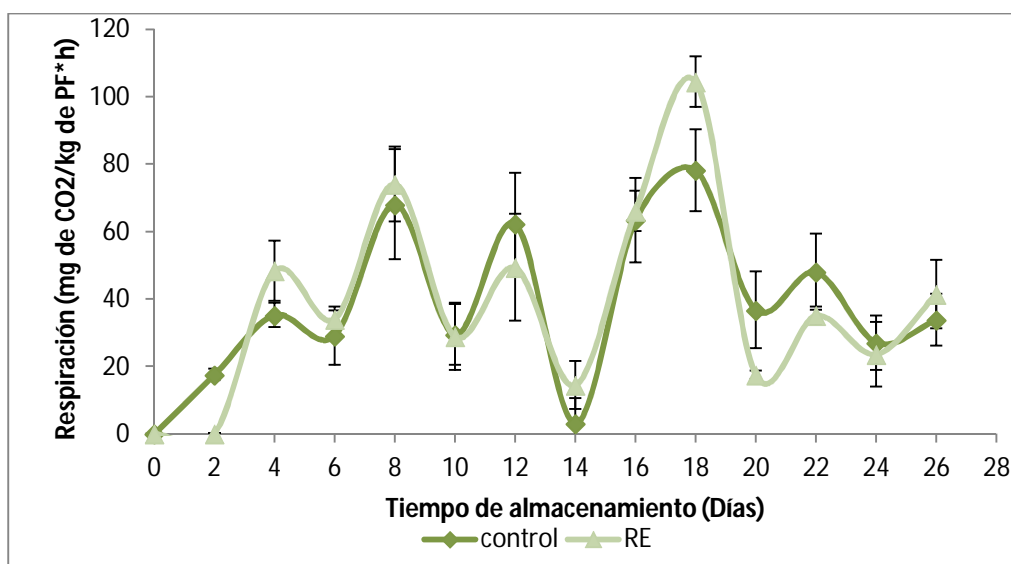


Figura 41. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en la respiración de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados obtenidos en la presente investigación concuerdan con Brito *et al.* (2012), en el control postcosecha de podredumbre gris con la aplicación de recubrimientos a base de quitosano y aceite esencial de limón, en la que se obtuvo una tendencia menor en la tasa de respiración con las naranjas recubiertas.

## 5.6.3 Parámetros relacionados con los síntomas de la enfermedad

### 5.6.3.1 Incidencia de la enfermedad

Las frutas y verduras contienen una amplia gama de ácidos orgánicos y una alta actividad de agua que las hacen ser buenos sustratos para el deterioro microbiológico, aunque el



deterioro por el ataque de hongos no origina un riesgo a la salud, ya que los productos son generalmente rechazados si generan considerables pérdidas económicas (Jongen, 2002).

En la Figura 42 se observa que al día 5 de tratamiento las naranjas control tuvieron un mayor porcentaje de incidencia de la enfermedad de 4% respecto a las naranjas recubiertas no se presentó gran porcentaje de incidencia de enfermedad causada por *Penicillium expansum* solo se dañó un fruto en el transcurso del periodo de incubación.

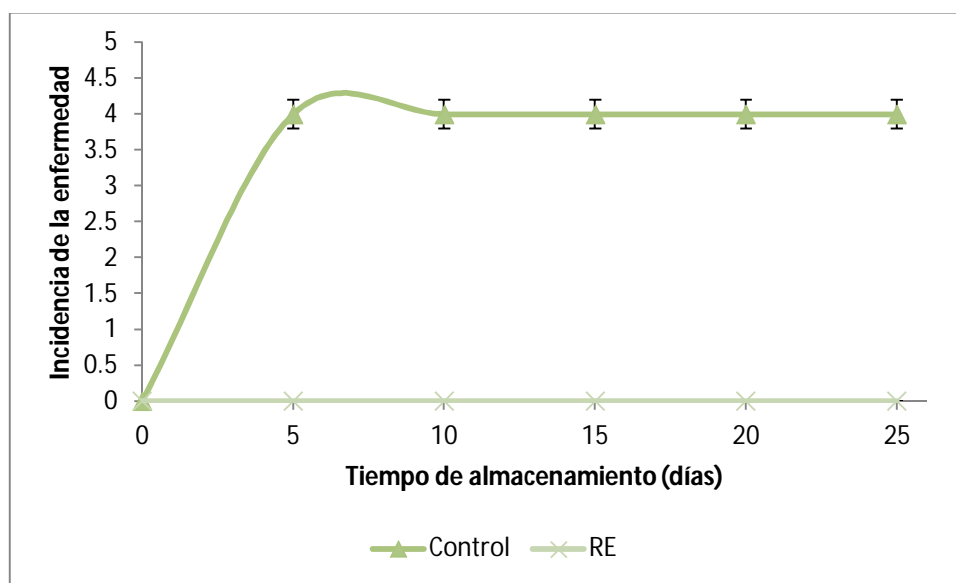


Figura 42. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en Incidencia de la enfermedad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Estos resultados coinciden con los mostrados por Valencia-Chamorro *et al.* (2009), quienes evaluaron recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilcelulosa, cera de abeja y goma laca adicionados con benzoato de sodio, propionato de sodio y sorbato de potasio en naranjas inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum* y encontraron que la incidencia causada por estos hongos incremento con el tiempo de almacenamiento.

Los resultados obtenidos nos dicen que no hubo incidencia en los frutos inoculados con *P. expansum* para los 25 días de almacenamiento, el hongo no tuvo las condiciones óptimas para su desarrollo. La aplicación del recubrimiento comestible adicionado con extracto nos garantizó un 0% de incidencia en la enfermedad alargando la vida útil de la naranja.



La presencia de hongo ocasiona daños significativos a la calidad de las naranjas, estos daños junto con la falta de manejo postcosecha de esta enfermedad afectan la aceptación del fruto en los mercados, por lo que la aplicación del recubrimiento representa una alternativa para disminuir las pérdidas postcosecha causadas por agentes patógenos.

### 5.6.3.1 Severidad de la enfermedad

La severidad de la enfermedad fue una estimación visual en la cual se establecieron grados de infección en un fruto, sobre la base de la cantidad de tejido vegetal enfermo. Fue subjetiva y se hizo referencia al porcentaje del área enferma de este. Este parámetro está relacionado con la gravedad de la enfermedad y con los daños causados.

En la Figura 43 se observa que el porcentaje de la enfermedad es muy bajo 4% debido a que la severidad de la enfermedad solo se presentó en un fruto control del estudio realizado y para las naranjas con tratamiento no presentó ningún índice de severidad de la enfermedad causada por *Penicillium expansum*.

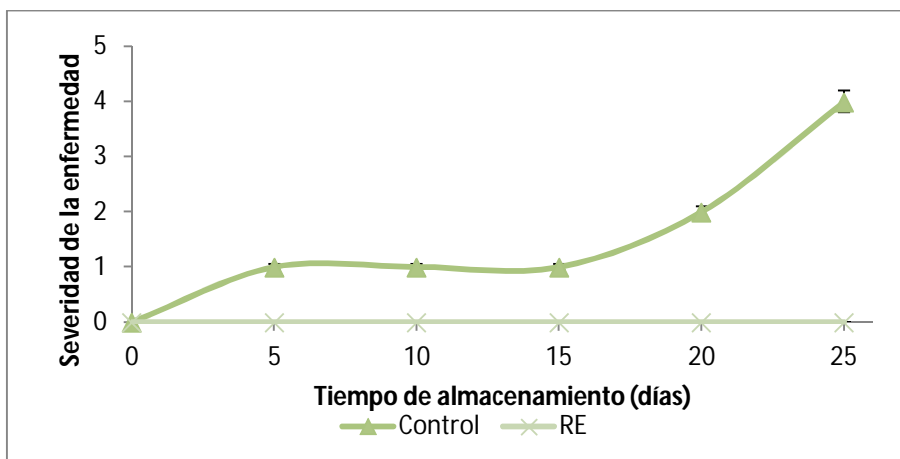


Figura 43. Efecto del recubrimiento comestible a base de CMC adicionado con extracto etanólico de *Psidium guajava* en severidad de la enfermedad de naranja control y RE= naranja con tratamiento. Las barras verticales representan  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados obtenidos coinciden con los de Díaz *et al.* (2010), que desarrollaron un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano para alargar la vida útil de fresas, las muestras testigo presentaron un daño moderado, las fresas recubiertas con 100% de mucílago de linaza presentaron un daño inferior y las fresas recubiertas con 80 y 70% de mucílago de linaza presentaron un daño ligero. Al aplicar recubrimiento adicionado








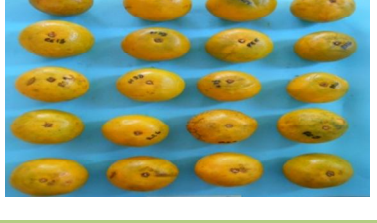








con extracto de hoja de guayaba se presenta un daño inferior para los frutos recubiertos y un daño ligero para el control.

En la Tabla 21 se muestra el seguimiento fotográfico de las pruebas *in vivo* de la aplicación de recubrimiento comestible adicionado o no con extracto etanólico de hoja de guayaba en naranjas inoculadas con *P. expansum*. Se puede observar que los síntomas causados por el hongo se presentaron a partir del día 5 en naranjas sin recubrimiento y en las naranjas con recubrimiento no se ve afectada por la presencia de la enfermedad causada por el hongo en estudio, la severidad y la enfermedad no solo está determinada por la capacidad patogénica de los hongos sino también por características el porcentaje de germinación, tasa de germinación, crecimiento micelial y esporulación que forman parte de la habilidad que tiene una población para persistir y adaptarse exitosamente a diferentes condiciones (Gutiérrez *et al.*, 2001). El hongo *P. expansum* es un hongo esporulado y tiene la facilidad de desarrollarse en diferentes condiciones, pero en la aplicación del recubrimiento adicionado con extracto de guayaba no logro desarrollar la enfermedad en naranjas lo cual se le atribuye al poder antifúngico de *Psidium guajava*.



Tabla 23. Seguimiento fotográfico de los cambios de apariencia visual en naranja sin recubrimiento y con recubrimiento a base de CMC y extracto etanólico de *Psidium guajava* e inoculados con *P. expansum*.

Día	Tratamiento	
	Sin recubrimiento	Con recubrimiento
0		
5		
10		
15		
20		
25		



# CONCLUSIONES



## 6. Conclusiones

Con base a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- El tiempo de extracción y el tamaño de partícula no presentaron efecto sobre la concentración de quercetina del extracto etanólico de la hoja de guayaba obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido. El extracto etanólico obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido no tiene efecto en el tiempo de extracción o tamaño de partícula cualquiera de estas condiciones nos da en promedio 9.58 mg de quercetina/ g de muestra.
- El extracto etanólico como agente antifúngico en pruebas *in vitro* en 1000 ppm resultó ser efectivo en la inhibición de crecimiento micelial de *A. alternata*, *F. oxysporum* y *P. expansum*, presentando el 100% de inhibición.
- Al aplicar el recubrimiento comestible adicionado con extracto no nos ayuda a inhibir el crecimiento micelial de los hongos, pero si nos ayuda a que estos disminuyan su desarrollo en las pruebas *in vitro*.
- Al aplicar el recubrimiento comestible más el extracto no se alcanza a inhibir al 100% el crecimiento micelial del hongo pero si nos ayuda a que este disminuya.
- La aplicación de recubrimiento comestible en calabacita no tuvo un efecto de disminución en pérdida de peso, firmeza, tasa de respiración y color pero tampoco causó un efecto desfavorable en las características físicas de la calabacita. Mientras que la incidencia y la severidad de la enfermedad disminuyeron significativamente, alargando la vida útil de la calabacita.
- Los jitomates tratados con recubrimiento comestible a base de CMC y adicionados con extracto etanólico de *Psidium guajava* a concentración de 1000 ppm mostraron mayor firmeza, menor pérdida de peso y mayor tasa de respiración los parámetros de color no fueron afectados significativamente. Por otra parte, la incidencia y la severidad se redujeron con la aplicación del tratamiento alargando la vida útil de los frutos.
- La aplicación del tratamiento en naranjas no altero significativamente la firmeza, pérdida de peso y respiración. La incidencia y severidad fue menor para los frutos recubiertos respecto al control.



# RECOMENDACIONES



### 7. Recomendaciones

De acuerdo con los resultados obtenidos en este proyecto, se recomienda lo siguiente:

- Estudiar el efecto antifúngico del extracto etanólico de *Psidium guajava* para inhibir bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos como *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes* entre otras.
- Realizar la caracterización del extracto de hoja de guayaba mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) para identificar los compuestos que le brindan las características de antifúngico.
- Realizar pruebas *in vitro* bajo las mismas condiciones para inhibir otros hongos, como *Rhizopus*, causante de pérdidas postcosecha.
- Probar el efecto antifúngico de la hoja de guayaba en otros frutos de importancia económica para el país
- Evaluar el contenido de fenoles y la capacidad antifúngica de las hojas de guayaba.





# REFERENCIAS





## 8. Referencias

1. Acosta, A. D., Andrade, J., Bucheli, M., Luna, G. C. (2013). elaboración y evaluación de un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol *Cyphomandra betacea* cav. Sendt. Revista de Ciencias Agrícolas. 30(2):60-72.
2. Aguilar-Méndez M. A., San Martín-Martínez E., Espinoza-Herrera N. L., Sánchez-Flores M., Cruz-Orea A., Ramírez-Ortíz M. E. (2012). Caracterización y aplicación de películas a base de gelatina-carboximetilcelulosa para la preservación de frutos de guayaba. Superficies y Vacío 25(1) 1-7.
3. Andrade, J., Acosta, D., Bucheli, M., Luna, G. (2013). Elaboración y evaluación de un recubrimiento comestible para la conservación postcosecha del tomate de árbol *Cyphomandra betacea* Cav. Sendt. Revista de Ciencias Agrícolas. 30(2):60-72.
4. Angón-Galván, P., Santos-Sánchez, N. y Hernández-Carlos, G. (2008). Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. Temas de Ciencia y Tecnología. 10(30):3-8
5. Ansejo-Vera, J., Morales, M., Urruela, R., Tapia, H., (2012). Producción de alcoholes volátiles durante maduración de los frutos. Univeridad Complutense de Madrid, Madrid, España.
6. Arcila-Lozano, C. C. Loarca-Piña, G. Lecona-Uribe, S. González, MÉ. (2009). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Sociedad Latinoamericana de Nutrición. 541: 26-42.
7. Aviles-Marin, M., Ceceña-Duran C., González-Mendoza D., Grimaldo-Juárez O., Rodríguez-Maturino, A., Ruíz-Sanchez, E., Sánchez-Estrada, A., Troncoso-Rojas, R., Zamora-Bustillos R. (2014). Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*. Revista Argent Microbiol. 47(1):72-77.
8. Azuola, R. Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido. Tecnología en marcha. E.U.A. 20(4): 30-40
9. Argueta A., Cano, L. M. (1994) Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana II. México. Instituto Nacional Indigenista: 709-711.



10. Asgar, A., Ling., C., Noosheen, Z., Kying, O. (2013). Efficacy of propolis and cinnamon oil coating in controlling post-harvest anthracnose and quality of chily (*Capsicum annum* L) during cold storage. Food Bioprocessing Technology. 6(12): 3295-3644.
11. Barbosa, W. L., Peres, A., Gallori, S., Vincieri, F. (2006). Determination of myricetin derivatives in *Chrysobalanus icaco* L. (Chrysobalanaceae). Rev. Bras. Farmacogn. 16(3):1-3.
12. Barrera, B. E., Gil, L. M., García, P. C. M., Durango, R. D. L. (2012). Empleo de un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo postcosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawainana). Revista Facultad Nacional de Agronomía. 65(1):6497-6506.
13. Bautista-Baños, S., De Lucca, A. J., Wilson, C.L. (2004). Evaluation of the antifungal activity of natural compounds to reduce postharvest blue mould (*Penicillium expansum* Link.) of apples (*Malus domestica* Borkh.) during storage. Rev. Mex. Fitopatol. 22:362-369.
14. Baños, G., Mejía, Z., León, C., Luna, R., Gutiérrez, A. (2004). Control Biológico de *Colletotrichum gloesporioides* [(Penz.) Penz. Y Sacc.] en Papaya MAradol Roja (*Carica papaya* L.) y fisiología Postcosecha de Frutos Infectados. Revista Mexicana de Fitopatología. 22(2):198-205.
15. Barrera-Bello, E., Gil-Loaiza, M., García-Pajón C., Durango-Restrepo, D., Gil-González, J. (2012). Empleo de un recubrimiento formulado con propóleos para el manejo postcosecha de frutos de papaya (*Carica papaya* L. cv. Hawaiiana). Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 65(1):6497-6506.
16. Begum S., Hassan, S. I., Siddiqui B. S. (2002). Two new triterpenoids from the fresh leaves of *psidium guajava*. Letter Planta Med. 68:1149-1152
17. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (2009). Consultado el 22 de Octubre de 2015, Obtenido de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=manzanilla&id=7609>



18. Bósquez, M. E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia tanaka*). Tesis de doctorado en ciencias biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 133p.p.
19. Brito, A., Cháfer, T., González, C. (2012). Aplicación de recubrimientos a base de quitosano y aceite esencial de limón en el control de la poscosecha de la podredumbre azul de naranjas. Instituto Universitario de Ingeniería de Alimentos para el desarrollo. Departamento de Tecnología de los alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
20. Caldas, A. (2012). Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. Tesis para obtener el grado de Ingeniera Química. Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Ecuador.
21. Cartagena, V. J. R., Ospina, M. S. M. La atmosfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos Revista Lasallista de investigación. 5(2):112-123.
22. Castellano, G., Quijada, O., Ramirez, R., Sayago, E. (2005). Comportamiento pos cosecha de frutas de guayaba (*Psidium guajava* L.) tratados con cloruro de calcio y agua caliente a dos temperaturas de almacenamiento. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 6(2): 78-82
23. Castillo-Merino, J., López-Rivera, O., Reyes-Vigil, M., Santos-Moreno, A., Valle-Guadarrama S. (2008). Recubrimiento comestible basado en goma arábica y carboximetilcelulosa para conservar frutas en atmósfera modificada. Revista Chapingo Ser. Hortícola. 14(3):1-8.
24. Chavarrías (2013). Métodos de conservación por calor. Fecha de consulta 15 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2013/10/16/218321.php>.
25. Cisneros-Zevallos L. Uquiche, C. E. Villaruel, T. M. Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L.) durante el almacenamiento (2002). Universidad de la frontera. Temuco. 51(1): 84-90



26. Cisneros, Z. y Krochta, L. (2002). Internal modified atmospheres of coated fresh fruits and vegetables: understanding relative humidity effects. *Journal of Food Science*. 67(8):2792-2797.
27. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO). Fecha de consulta: 18 de septiembre de 2015. Disponible en: [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf)
28. Coop-Gamas, F., Corona-Cruz, A., Rodríguez-Rivera, R., Herrera-Rodríguez, F. (2011). Conservación de la calidad postcosecha en chile habanero (*Capsicum chinense* J.) mediante atmósferas modificadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12(1):80-86.
29. Cosmopolita, droguería (2012). Precios de gomas, espesantes y resinas. Fecha de consulta 17 de octubre de 2015. Disponible en <http://www.cosmotienda.com/tienda/gomas-espesantes-resinas-c-13.html>.
30. Cowan M M (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*10: 564-582.
31. Dar, M. A., Hussain, P. R., Suradkar, P. P., Wani, A. M. (2015). Retention of storage quality and post-refrigeration shelf-life extension of plum (*Prunus domestica* L.) cv. Santa Rosa using combination of carboxymethyl cellulose (CMC) coating and gamma irradiation. *Radiation Physics Chemistry*. 107: 136-148.
32. Dávila-Aviña, J., Villa-Rodríguez, J., Cruz-Valenzuela, R., Rodríguez-Armenta, M., Espino-Díaz, M., Ayala-Zavala, J., Olivas-Orozco, G., Heredia, B., González-Aguilar, G. (2011). Effect of edible coatings, storage time and maturity stage on overall quality of tomato fruits. *American Journal of Agricultural and Biological Science*. 6(1):162-171.
33. De la Torre A. P. (2014). Las plantas medicinales mexicanas más utilizadas y sus propiedades. Consultado el día 16 de Septiembre de 2015. Obtenido de <http://www.ecoosfera.com/2014/11/las-plantas-medicinales-mexicanas-mas-usuales-y-sus-propiedades/>



34. Del Valle, V., Hernández, M.P., Guarda, A. y Galotto, M. J. (2005). Development of a cactosmucilage edible coating (*Opuntia ficus indica* ) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life. *J. Food Chemistry*. 91:751-756.
35. Díaz, N., Pérez, C., Hernández, L., Ramírez, G. (2010). Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano y su aplicación para extender la vida útil de fresas. XII congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de alimentos. Guenajuato, Guanajuato.
36. Dubey, S. (2016). Comparative antimicrobial efficacy of herbal alternatives (*Emblica officinalis*, *Psidium guajava*), MTAD, and 2.5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis*: an *in vitro* study. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*. 210:1-4
37. EcuRed. Guayaba. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.ecured.cu/Guayaba>.
38. Fagundes, C., Monteiro, A. R., Palou, L., Pérez-Gago, M. B. (2015). Hydroxypropyl methylcellulose-beeswax edible coatings formulated with antifungal food additives to reduce alternaria black spot and maintain postharvest quality of cold-stored cherry tomatoes. *Scientia Horticulturae*. 193:249-257.
39. FAO. (2014). Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Fecha de consulta 3 de Octubre de 2015. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/x5056s/x5056S07.htm>
40. FAO (2008). Proyecto de Norma del codex para las naranjas. Consultado el día 24 de marzo de 2016. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/meeting/008/j0695s/j0695s02.htm>
41. FAO. (2015). Prevención de pérdidas de alimentos postcosecha. Fecha consultada: 16 de Enero de 2016. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/x5041s/x5041s01.htm>.
42. Fernandes, M. R. V., Dias, A. L. T., Carvalho, R. R., Souza, C. R. F. Oliveira, W. P. (2014). Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spray dried extracts. 60:39-44.



43. Figueroa, J. Salcedo, J. Aguas, Y. Olivero, R. M. Narváez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango, aguacate y su perspectiva al uso de propóleo en su formulación. *Revista Colombiana de Ciencias Agroindustriales*. 3(2):386-400.
44. Fortiz, J., Mercado, J., Rodríguez, F. (2011). Efecto de recubrimiento con Quitosano y cera comercial en la calidad de naranja 'Valencia' durante el almacenamiento. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 12(2):164-174.
45. Ghanbarzadeh, B., Almasi, H (2011). Physical properties of edible emulsified films base don carboxymethylcellulose and oleica cid. *International Journal of Biological Macromolecules*. 48:44-49
46. Gómez, C., M., R., Lazcano, H., M., Melgoza, P., N., Muñoz, B., R., Navarro, C., A., R., Romero, V., M., Vera, L., O., (2010). Estudio de la concentración de Quercetina en las variedades de manzana (*Malus domestica*) fuji, red delicious y delicia. Universidad de Guanajuato Guanajuato. 27-28 de mayo de 2010.
47. González, G. R. L., Roque, Q. A., Morier, D. L., Rodríguez, L. L. A. (2006). Evaluación de la actividad antiviral de plantas medicinales frente al virus de hepatitis B (VHB) en células PLC/PRF/5. *Revista Cubana Med. Trop*. 58(2):1-7
48. González, M. V. (2010). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela (*Cinnamonum zaynalicum*). Tesis para obtener el grado de bioquímico farmacéutico. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
49. Guerrero-Beltrán, J. A: y Vázquez-Briones M.C. Recubrimientos de frutas con biopelículas. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*. 7(2):5-14.
50. Gutiérrez, A., Nieto, A., Téllez, O., Zavaleta, M., Vaquera, H., Martínez, D., Delgadillo, S. (2001). Características de crecimiento, germinación, esporulación, y patogenicidad de aislamientos de *Colletotrichum gloeosporioides* Pemz. Obtenidos de frutos de mango (*Mangífera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19(1):90-93.





51. Habig, M. T., Krochta, M. J. (1994). Sorbitol vs Glycerol plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 42(4):841-845.
52. Herbario Digital, (2016). Fecha de consulta: 05 de enero de 2016. Disponible en : <http://herbariodigitalcarpioiasa.blogspot.mx/p/malpighiaceae.html>.
53. Hernández, L. A. N., Bautista, B. S., Velázquez, V. M. G. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30(2): 119-123.
54. Jasso de Rodríguez, D., Trejo-González, F. A., Rodríguez-García, R., Díaz-Jimenez, M.L.V., Sáenz-Galindo, A., Hernández-Castillo, F. D., Villarreal-Quintanilla, J. A., Peña-Ramos, F. M. (2015). Antifungal activity *in vitro* of *Rhus muelleri* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. 75: 150-158.
55. Jongen, W. (2002), *Fruit and vegetables processing improving quality*. CRC Press. United States of America.
56. Kester, J. y Fennema, O. (1986). Edible films and coatings: A review, *Food Technology*. 40:47 - 59.
57. Krochta, J. y Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: changes and opportunities. *Food Technol*. 51:61 - 72.
58. Liu, J., Liang J., Kan, J., Chang-Hai, J. (2013). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of ethanolic extract of white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Chemical Toxicology*. 51(1): 310-316.
59. Lizcano-Ramón, A. J. Vegara-González, J. L. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etánolicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales: valeriana pilosa, *herperomeles*, *ferruginea*, *myrclanthes*, *rhopaloides* y *pasiflora manicata* frente a microorganismos patógenos. Tesis para obtener el Título de microbióloga industrial. Pontificia Universidad Javerianam Bogotá.
60. López-Benítez, A., López-Betancourt, S. R., Vázquez-Badillo, M. E., Rodríguez-Herrera, S. A., Mendoza-Elos, M., Padrón-Corral, E. (2005). Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuósos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(2): 183-190.



61. Lozoya, X. Reyes, M. H. Chávez, S. M. A. Martínez G. M. C. Soto, G. Y. Svetlana, V. (2002). Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *J ethnopharmacol.* 83:19-24.
62. Maftoonazad, N., Ramaswamy, H. (2005). Postharvest shelf life extension of avocados using methylcellulose-based coating. *Journal Horticulture.* 38:617-624.
63. Mandujano, R. (2006). Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (*Stenocereus stellatus*) de la región mixteca. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Huajuapán de león, Oaxaca.
64. Márquez, C., Cartagena, J., Pérez-Gago, M. (2009). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.) *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica.* 16(3): 304-310
65. Materano, W., Valera, A., Zambrano, J., Maffei, M., Torres, C. (2007). Efecto de recubrimientos sobre la postcosecha y la evolución del color de zumo de la fruta del naranjo. *Agronomía Trop.* 57(2):1-8.
66. Maqbool. M., Chinnan, M. (2010). Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. *Crop Protection.* 21(1):211-224.
67. McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color. *Measurements Hortscience.* 27:1254-1255.
68. Merck S. A., (2000) fecha de consulta 07 de septiembre de 2015, disponible en: <http://dietcan.net/docs/QUERCETINALabMerck.pdf>.
69. Micol (2002). Hongos alergénicos. Fecha de consulta: 16 de agosto de 2015. Disponible en: <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/036.PDF>
70. Molina, G. S. Rotta, F. M. C. Torres, E. (2004). Incidencia de infecciones quiescentes de *Botrytis cinérea* en flores y frutos de mora de castillas (*Rubus glaucus Benth*). *Agronomía Colombiana.* 22(2):101-109.
71. Muy, R., Siller, C., Díaz, P., Váldez, T. (2004). Las condiciones de almacenamiento y encerado afectan el estado hídrico y la calidad del mango. *Revista Fitotecnica Mexicana.* 27(2):201-209.
72. Nuez, F. (2001). *El cultivo del tomate-Mundi-Prensa.* Madrid.



73. Olguín, S. (2016). Plantas para curar. Fecha de consulta: 19 de octubre de 2015.  
Disponible en:
74. <http://www.plantasparacurar.com/usos-medicinales-y-aplicaciones-curativas-de-la-guayaba/>
75. Olmo, M., Nadas, A., García, L. (2000). Nondestructive methods to evaluate maturity level of oranges. *J. Food Sci.* 65(2):365:369.
76. Parra, D. F. Tadini, C.C. Ponce P. y Lugao, A.B. (2004). Mechanical properties and water vapor transmission in some blends of cassava starch edible films. *Carbohydrate Polymers.* 58:475 - 481.
77. Parzanese, M. (2010). Películas y recubrimientos comestibles. *Tecnologías para la industria alimentaria* 7: 1-11.
78. Pascual, A. M. R. (2000). *Microbiología alimentario: metodología analítica para alimentos y bebidas.* 2ª edición. Díaz Santos. Madrid.
79. Pastor, N. C. (2010). Recubrimientos comestibles a base de hidroxipropil metilcelulosa: caracterización y aplicación, tesis para obtener el grado de doctor ingeniero en alimentos. Universidad Politécnica Valencia. Valencia.
80. Peerzada, R., Prashant, P., Ali, M., Mohd, A. (2015). Retention of storage quality and post-refrigeration shelf-life extensión of plum (*prunus domestica L.*) cv. Santa Rosa using combination of carboxymethyl cellulose (CMC) coating and gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry.* 107:136:148
81. Pérez, M. G. (2013). Extracción de compuestos activos de plantas para su aplicación en recubrimientos comestibles para controlar podredumbre gris en la fresa. Tesis de Ingeniería en Alimentos. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. México. 168p.p.
82. Ponce, A. G., Roura S. I., del Valle C. E., Moreira M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology.* (49) 294-300.
83. Pontigo-Suárez A. G., Trejo-Márquez M. A.\*, Lira-Vargas A. A. (2015). Desarrollo de un recubrimiento con efecto antifúngico y antibacterial a base de aceite esencial de orégano para conservación de papaya ‘maradol’. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.* 16(1): 58-63.



84. Porras-Loaiza, A. y López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*. 3(1): 121:134.
85. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. hortalizas frescas. Tomate-(*lycopersicon esculentum* mill.). Norma Oficial Mexicana. NMX-FF-031-SCFI-1997. Consultado el día 18 de febrero de 2016. Obtenido de <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-FF-031-1998.PDF>
86. Quintero, C. J., Muñoz, V., H. A., (2010) Películas y recubrimientos comestibles: importancia y tendencias recientes en la cadena hortofrutícola. *Facultad de Ingeniería Agronómica. México*. 5(1): 93-118.
87. Ramos-García, M. L., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 44(1): 44-57.
88. Restrepo, F. J. Aristizábal, T. Iván, D. (2010). Conservación de fresa (*fragaria x ananassa Duch cv Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilagoso de pena de sábila (*aloe barbadensis miller*) y cera carnúba. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. 2(17):252-263.
89. Rivera, A., Martínez-Peniche, R., Soto-Muñoz, L., Chávarro-Ortiz, M. (2012) Modos de acción de cuatro cepas de levaduras antagónicas contra *Penicillium expansum* Link en manzana. *Rev. Chapingo Ser. Hortic*. 18(2): 1-8.
90. Rojas-Graü, M., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2009). The use packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: a review *International Journal of Food Science & Technology*. 44(5): 875-889
91. Rojas, O. M. (2004). Obtención de un extracto de las hojas de guayaba por un método criogénico y evaluación de su actividad antibacteriana. Tesis de Químico Farmacéutico Biólogo. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México. 102p.p.
92. Romero-Bastida, C., Zamudio-Flores, P. y Bello-Pérez, L. (2011). Antimicrobianos en películas de almidón oxidado de plátano: efecto sobre la actividad antibacteriana, micro-estructura, propiedades mecánicas y de barrera. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10(3):445-453



93. Ruíz, R. J. O. (2004). Caracterización reológica de emulsiones aceite en agua (O/W) estabilizadas con goma de mezquite y quitosano y su efecto en la permeabilidad de películas comestibles. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México. México
94. SAGARPA. (2012). Fecha de consulta 6 de Octubre de 2015. Obtenido de <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/BOL1301112.aspx>.
95. Sánchez-Soto, A. (2013). Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (*Rubus frocticosus*) para el control de podredumbre gris. Tesis para obtener el título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Estado de México.
96. Servicio de Información Agrícola y Pesquera (2014). Fecha de consulta 10 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.campomexicano.gob.mx/boletinsiap/18-e-tabla.html>.
97. Sistema de Información de Fundaciones Produce SIFUPRO (2013), fecha de consulta: 18 de agosto de 2015, obtenida de: [http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/trimestrales/anexo\\_2440-5-2014-02-2.pdf](http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/15/2013/trimestrales/anexo_2440-5-2014-02-2.pdf).
98. Smith N., Mori S. A. Henderson, A., Stevenson, D. W., Heald, S. V. (2004). Flowering of the Neotropic. The New York Botanical Garden, Princenton university press, New Yersey, U.S.A.
99. Saba, M. K. y Sogvar O. B. (2016). Combination of carboxymethyl cellulose-based coatings with calcium and ascorbic acid impacts in browning and quality of fresh-cut apples. *Food Science and Technology*. 66:165-171.
100. Song-Jiang, Chen., Yong-Cai, Li., Yang, B., Yan, Y., Yong-Hong, G., Yi, W. (2014). Solvent Effects on the Ultrastructure and Chemical Composition of Cuticular Wax and Its Potential Bioactive Role Against *Alternaria alternata* in Pinguoli Pear. 13(5):1137-1145.



101. Sugasti. (2012). Métodos de conservación. Fecha de consulta 5 de octubre de 2015. Disponible en: <http://angelicacienciaactualcancez.blogspot.mx/2012/04/metodos-de-conservacion-de-alimentos.html>.
102. Torres, B., T. (2009). Respiración de frutas y hortalizas. Consultado el día 18 de marzo de 2016. Obtenido de: <http://jimtor.blogia.com/temas/respiracion-de-frutas-y-hortalizas/>.
103. Tzoumaki, M. V., Biliaderis C. G., Vasilakakis, M. (2009). Impact of edible coatings and packaging on quality of white asparagus (*Asparagus officinalis*, L.) during cold storage. *Food Chemistry*, 117: 55-63.
104. UDES (2016). Taxonomía de la guayaba. Fecha de consulta 15 de febrero de 2016. Disponible en [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.udesverde.com/PDF/EspeciesarboreasUDES.pdf&gws\\_rd=cr&ei=OeQ4V6\\_fGqvWjwTi\\_6\\_wBw](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.udesverde.com/PDF/EspeciesarboreasUDES.pdf&gws_rd=cr&ei=OeQ4V6_fGqvWjwTi_6_wBw)
105. Umaña (2014). Conservación de alimentos por frío. Fecha de consulta 16 de septiembre de 2015. Disponible en: [http://fusades.org/sites/default/files/investigaciones/manual\\_manejo\\_de\\_frio\\_para\\_la\\_conservacion\\_de\\_alimentos.pdf](http://fusades.org/sites/default/files/investigaciones/manual_manejo_de_frio_para_la_conservacion_de_alimentos.pdf).
106. Universidad de California, agricultura y recursos naturales, fecha de consulta: 18 de agosto de 2015, disponible en: <http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/Guayaba/>
107. Valencia-Chamorro, S., Pérez-Gago, M., Del Río, M., Palou, L. (2009). Effect of antifungal hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-lipid edible composite coatings on postharvest decay development and quality attributes of cold-stored Valencia oranges. *Postharvest Biol. Technol.* 54: 72-79.
108. Valero, D. y Serrano, M. (2010). *Postharvest biology and technology for preserving fruit quality*. CRC press. United States.
109. Vargas-Álvarez, D., Soto-Hernández, M., González-Hernández, V. A., Engleman, E. M., Martínez-Garza, Á. (2005). Variación del contenido de flavonoides en hojas de guayaba en condiciones de estrés. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 11(1): 89-92.



110. Vicente-Vicente, L., Prieto, M., Morales, A. (2013). Eficacia y seguridad de la quercetina como complemento alimenticio. *Revista de Toxicología*. 30(2):171-181.
111. Zhu, Y., Yu J., Brecht, J. K., Jiang, T., Zheng, X. (2016). Pre-harvest application of oxalic acid increases quality and resistance to *Penicillium expansum* in kiwi fruit during post-harvest storage. 190:537-543.
112. Zapata, L.M., Malleret, A.D., Quinteros, C.F, Lesa, C.E., Vuarant, C.O., Rivadeneira, M.F., Gerard J.A. (2010). Estudio sobre cambios de la firmeza de bayas de arándanos durante su maduración. *Cienc. docencia tecnol.* 41: 1-8.