



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DEL CAMBIO EN LAS CONCENTRACIONES DEL
METANOL RESIDUAL EN UN FRUTO CLIMATÉRICO
(GUAYABAS) Y EN UNO NO CLIMATÉRICO (UVAS
VERDES) QUE FUERON RECUBIERTOS CON
BIOPOLÍMEROS DE QUITINA-QUITOSANA
PROVENIENTES DEL CEFALOTÓRAX DE CAMARÓN
(*Litopenaeus vannamei*)**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA:

Seseña Alcalde María del Rocío



CIUDAD DE MÉXICO

2019



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente	Q.F.B. Agustín Reyo Herrera
Vocal	M. en A. I. Landy Irene Ramírez Burgos
Secretario	M en C. Rolando Salvador García Gómez
1er. Suplente	Dra. Marisela Bernal González
2do. Suplente	Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SITIO EN DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, (LIQAyQA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SUPERVISOR TÉCNICO

Dra. María del Carmen Durán Domínguez

SUSTENTANTE

Seseña Alcalde María del Rocío

Declaración

“Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o en referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales”

María del Rocío Seseña Alcalde

RECONOCIMIENTOS Y AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de México, mi escuela, por abrirme sus puertas y así permitirme lograr grandes cosas, darme grandes experiencias, todos los aprendizajes y por los buenos momentos. Siempre me sentiré agradecida y en deuda con ella

A la enseñanza académica y experimental brindada por los profesores de los laboratorios de la asignatura terminal de las carreras de Química de Alimentos impartida en la Facultad de Química de la UNAM

Al apoyo parcial del Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM, PAIP, Clave 50009067

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM ya que los reactivos, consumibles y materiales empleados en esta investigación fueron adquiridos con el apoyo financiero parcial del Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), “Apoyo a la enseñanza experimental de los laboratorios terminales de las carreras que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM”, “Apoyo a la enseñanza experimental de las asignaturas terminales de las carreras que se imparten en la Facultad de Química de la UNAM” y “Desarrollo de material didáctico para las asignaturas ingeniería ambiental y estancia académica de la carrera de ingeniería química con base en estudios de caso” Claves EN103704, PE101709 y PE-100514, respectivamente

Con admiración y respeto a la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por su apoyo en la realización de este trabajo experimental

Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez por su apoyo incondicional, por su valiosa asesoría desde el día uno en mi estancia académica en los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA), además por su ayuda en la elaboración y redacción de este trabajo

Al Q.F.B. Agustín Reyó Herrera por su ayuda en la adquisición del reactivo clave en esta experimentación que, sin él, este trabajo no habría sido posible

Al M. en C. Samuel Mendoza Pérez y a la M. C. Aranys del Carmen Borja Urzola por su valiosa ayuda, asesoría, por todos los buenos consejos y por su paciencia, para que este proceso de experimentación pudiera llevarse a cabo

A mis compañeros y amigos de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA), que gracias por su apoyo y compañía hicieron más ameno todo este proceso y que sin ellos esto no sería igual

De corazón a todos, muchas gracias

ÍNDICE

	Página	
I. ÍNDICE DE TABLAS	V	
II. ÍNDICE DE GRÁFICAS	VI	
III. ÍNDICE DE FIGURAS	VI	
IV. GLOSARIO DE TÉRMINOS	VII	
V. ABREVIATURAS, SIGLAS Y UNIDADES	IX	
VI. RESUMEN	XI	
 CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA		
1.1	Introducción	1
1.2	Objetivos	3
1.2.1.	Objetivo general	3
1.2.2.	Objetivos particulares	3
1.3	Hipótesis	3
1.4	Metas y alcances	4
 CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO		
2.1	Las frutas y su importancia en la alimentación humana	5
2.1.1	El proceso de la cosecha de frutas	6
2.1.2	Maduración	8
2.1.3	La temperatura y su efecto (Hoorfar, 2014)	9
2.2	Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	11
2.2.1	La guayaba. Producción nacional e internacional	11
2.2.2	Consumo de guayaba en México	13
2.2.3	Guayaba, un fruto climatérico	14
2.3	Uva (<i>Vitis vinífera</i>)	15
2.3.1	Consumo de uva	15
2.4.	Biopelículas, su uso e importancia en la conservación de alimentos frescos	17
2.5	Funcionalidad de los recubrimientos	19
2.6	El camarón y su producción en México	19

		Página
2.7	Residuos de camarón. Fuente del biopolímero quitina-quitosana. Generalidades	20
2.8	Aplicaciones industriales de la Quitina-Quitosana	23
2.9	Metanol	25
2.9.1	<i>NOAEL, no observed adverse effect level</i> , o nivel sin efecto adverso observado	26
2.9.2	Pectinas y metanol	28
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS		
3.1	Recolección de residuos de camarón, limpieza y secado. Obtención de cefalotórax y exoesqueletos limpios	30
3.2	Desproteización de la mezcla quitina-quitosana (Q-Qn) a partir de los residuos limpios de camarón	30
3.3	Elaboración del disolvente MAC-141® (metanol, agua, cloruro de calcio)	31
3.4	Extracción del polímero quitina-quitosana con ayuda del disolvente MAC-141®	33
3.5	Preparación del disolvente control (quitosana marca Sigma-Aldrich, Qn-SA en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico al 1.5%)	34
3.6	Selección de la fruta y su recubrimiento (blanco, MAC-141® y control); Almacenamiento a diferentes temperaturas	34
3.7	Determinación del metanol residual en las frutas recubiertas	36
3.8	Elaboración de mermeladas a partir de los distintos lotes de frutas (blanco, MAC-141® y control Qn-SA y realización de pruebas fisicoquímicas (acidez, pH)	38
3.9	Pruebas microbiológicas realizadas a las mermeladas	38
3.10	Evaluación sensorial por jueces no entrenados de	39

	Página	
3.11	las mermeladas elaboradas Análisis estadístico	39
CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		
4.1	Pasos previos para determinar metanol residual en uva verde y en guayabas	40
4.2	Metanol residual en los lotes de uva verde almacenados a distintas temperaturas	42
4.3	Metanol residual en lotes de guayaba almacenados a distintas temperaturas	50
4.4	Elaboración de mermeladas a partir de los distintos lotes de frutas empleados	58
4.4.1	Elaboración de las mermelada para los lotes de guayaba	59
4.4.2	Elaboración de las mermelada para los lotes de uva verde	60
4.5	Pruebas microbiológicas realizadas a las mermeladas	62
4.6	Evaluación sensorial de las mermeladas elaboradas	65
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		70
5.1	Conclusiones	70
5.2	Recomendaciones	71
BIBLIOGRAFÍA		72
ANEXOS		77
ANEXO 1	A1. Oxidación del metanol	77
ANEXO 2	A2. Curva patrón de metanol	79
ANEXO 3	A3. Características de los medios de cultivo	80
ANEXO 4	A4. Masas obtenidas de uva verde	85
ANEXO 5	A5. Masas obtenidas de guayaba	87
ANEXO 6	A6. Absorbancias obtenidas de uva verde	89

			Página
ANEXO 7	A7.	Absorbancias obtenidas de guayaba	91
ANEXO 8	A8.	Promedios obtenidos en la evaluación sensorial	93
ANEXO 9	A9.	Cuestionario aplicado para evaluar parámetros sensoriales en las mermeladas elaboradas	95
ANEXO 10	A10.	Hoja de seguridad del metanol	96
ANEXO 11	A11.	Diagrama ecológico	99

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Nombre	Páginas
Tabla 2.1	Contenido nutricional de guayaba. Valores para una porción de 100g	11
Tabla 2.2	Principales estados productores de guayaba	12
Tabla 2.3.	Estimaciones de producción de uva en México	16
Tabla 2.4	Exportación de uva	16
Tabla 2.5	Producción de camarón en México	20
Tabla 3.1	Cantidad de reactivos empleados para la elaboración del compuesto MAC-141®	32
Tabla 3.2	Curva patrón para la determinación de metanol residual	37
Tabla 4.1	Concentración total de metanol en uvas almacenadas diferentes temperaturas	46
Tabla 4.2.	Promedio en la concentración de metanol en los lotes de uva	49
Tabla 4.3	Cantidad de metano encontrado en la masa de uvas aceptable para consumo	50
Tabla 4.4	Concentración total de metanol en guayabas almacenadas a diferentes temperaturas	54
Tabla 4.5	Promedio de la concentración de metanol en lotes de guayaba	56
Tabla 4.6	Cantidad de guayaba aceptable para consumo	57
Tabla 4.7	Caracterización de los lotes de guayaba	59
Tabla 4.8	Valores fisicoquímicos encontrados en guayaba	60
Tabla 4.9	Caracterización de los lotes de uva verde	61
Tabla 4.10	Valores fisicoquímicos encontrados en uva verde	61
Tabla 4.11	Microorganismos presentes en las mermeladas	62
Tabla 4.12	Descripción de la temperatura y tiempo óptimo de crecimiento para los microorganismos	64
Tabla 4.13	Resultados de las pruebas microbiológicas realizadas	65
Tabla 4.14	Valores obtenidos en el análisis de varianza , ANDEVA (ANOVA en inglés)	66

II. ÍNDICE DE GRÁFICAS Y DIAGRAMA

Gráfica	Nombre	Página
Diagrama 3.1.	Diagrama de flujo del proceso experimental para el recubrimiento de guayabas y uvas verdes	29
Gráfica 4.1	Cambios en la masa de uva almacenada a 4°C	42
Gráfica 4.2	Cambios en la masa de uvas almacenadas a temperatura ambiente	43
Gráfica 4.3	Cambios en la masa de uvas almacenadas a 35°C	43

Gráfica	Nombre	Página
Diagrama 3.1.	Diagrama de flujo del proceso experimental para el recubrimiento de guayabas y uvas verdes	29
Gráfica 4.4	Cambios en la masa de guayabas almacenadas a 4°C	51
Gráfica 4.5	Cambios en la masa de guayabas almacenadas a temperatura ambiente	52
Gráfica 4.6	Cambios en la masa de guayabas almacenadas a 35°C	52

III. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Nombre	Página
Figura 2.1	Principales estados productores de guayaba en territorio nacional	13
Figura 2.2	Valor de las exportaciones de guayaba en millones de dólares	14
Figura 2.3	Estructura de la quitina	21
Figura 2.4	Estructura de celulosa (A), quitina totalmente acetilada (B) y quitosana totalmente desacetilada (Ramírez y Core, 2010)	22
Figura 2.5	Usos de la quitosana de acuerdo a su calidad (pureza) (Nakamatsu, 2012)	23
Figura 3.1	Lavado de cefalotórax y exoesqueletos	30
Figura 3.2	Lavado de cefalotórax y exoesqueletos	30
Figura 3.3	Molino eléctrico empleado	31
Figura 3.4	Pasta obtenida de residuos limpios de camarón ya desproteinizados parcialmente, CPD	31
Figura 3.5	Secado de la pasta (60°C, 18h)	31
Figura 3.6	Equipo de reflujo para la preparación del disolvente MAC-141®	33
Figura 3.7	Mezcla de harina de cefalotórax con disolvente MAC-141®	35
Figura 3.8	Filtrado de la pasta	35
Figura 3.9	Almacenamiento de guayaba (Temperatura ambiente)	35
Figura 3.10	Almacenamiento de guayaba (Temperatura de 35°C)	35
Figura 3.11	Almacenamiento de uva y de guayaba (Temperatura de 4°C)	35
Figura 3.12	Almacenamiento de uva (Temperatura 35°)	35
Figura 3.13	Elaboración de mermelada de guayaba	38
Figura 4.1.	Uva verde almacenada 35°C (día 3)	41
Figura 4.2	Guayaba almacenada a 35°C (Día 10)	41
Figura 4.3	Equipo de destilación utilizado	42
Figura 4.4	Frascos color ámbar utilizados	51
Figura 4.5	Deterioro presentado en la guayaba almacenada a 35°C	53
Figura 4.6	Observación de Mohos y levadura en placas	64

Figura	Nombre	Página
Figura 4.7	Observación de microorganismos coliformes en placa	64
Figura 4.8	Observación de microorganismos mesófilos en placa	64
Figura 4.9	Género de los encuestados	66
Figura 4.10	Agrado del color en las mermeladas elaboradas	67
Figura 4.11	Agrado de la textura en las mermeladas elaboradas	68
Figura 4.12	Agrado del olor en las mermeladas elaboradas	68
Figura 4.13	Agrado del sabor en las mermeladas elaboradas	68

IV. GLOSARIO DE TÉRMINOS

TÉRMINO	SIGNIFICADO
Acidez	Cantidad de ácido libre en diferentes matrices (alimentarias)
Ácido cromotrópico	Compuesto químico de fórmula $C_{10}H_8O_8S_2$ con una masa molecular de 320.29 g/mol
Ácido oxálico	Es un ácido dicarboxílico con dos átomos de carbono. Su fórmula molecular es $H_2C_2O_4$ con una masa molar de 90.03g/mol
Ácido sulfúrico	Compuesto químico extremadamente corrosivo cuya fórmula es H_2SO_4 con masa molecular de 98.09 g/ mol
Agrado	Sensación de placer que siente una persona por algo que le gusta
Alimento	Cualquier órgano, tejido o secreción que contiene cantidades apreciables de nutrimentos biodisponibles, cuyo consumo en cantidades y formas habituales es inocuo y atractivo para los sentidos
Biopelícula comestible	Recubrimientos elaborados con diferentes clases de biopolímeros como proteínas, lípidos y poliglúcidos, los cuales pueden presentar ciertos beneficios, como su cualidad biodegradable y su digestibilidad
Biopolímero	Macromoléculas presentes en los seres vivos. También son materiales poliméricos o macromoleculares sintetizados por los seres vivos.
Blanco	Término que hace referencia a los lotes de frutos bajo estudio que no fueron sometidos a ningún tipo de tratamiento control o recubrimiento experimental
Cefalotórax	Segmento del cuerpo de arácnidos y crustáceos conformada por la unión de la cabeza y el tórax
Cloruro de calcio	Sustancia química de fórmula $CaCl_2$ y masa molecular de 110.98g/mol. De composición sólida de color blanco, cuyo punto de fusión ocurre a los 772°C
Conservador de alimentos	Sustancia utilizada como aditivo alimentario que, añadida a los alimentos detiene o minimiza el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos.
Consumidor	Persona a quien va dirigido un producto, en este caso un alimento

Control	Término que hace referencia a los lotes de frutos bajo estudio sometidos a un recubrimiento de composición controlada, en este caso, quitosana marca Sigma Aldrich para ser comparados con un recubrimiento experimental Q-Qn y un “blanco”
Crustáceo	Se refiere a los artrópodos cuya respiración es a través de branquias, presentan dos pares de antenas y están cubiertos por un caparazón usualmente calcificado
Disolvente	Sustancia o líquido capaz de disolver un cuerpo u otra sustancia
Evaluación sensorial	Es la disciplina que se encarga de caracterizar a los alimentos a través de los cinco sentidos
Fenolftaleína	Sustancia empleada como indicador de pH de fórmula molecular: $C_{20}H_{14}O_4$, con masa molecular de 318.32 g/mol
Fruto climatérico	Fruto en el cual se presenta una producción autocatalítica de etileno, pudiendo ir acompañada de un pico respiratorio durante la maduración
Fruto no climatérico	Son aquellos frutos que carecen de la capacidad de continuar su maduración luego de ser separados de la planta, por lo cual se debe asegurar que hayan alcanzado un estado apropiado para su consumo al momento de la cosecha.
Grados Brix	Unidad empleada para designar el contenido de sólidos solubles determinados mediante el uso de un refractómetro
Guayaba	Fruto de forma ovoide, cuyo color característico es el amarillo en su estado maduro, miembro de la familia de las mirtáceas, del género <i>Psidium</i> y especie <i>guajava</i>
Ingesta	Introducción de la comida en el aparato digestivo al servicio de la alimentación o de la hidratación a través de la boca
Maduración en frutas	Término empleado para englobar todos los cambios a los que el fruto se enfrenta hasta completar su crecimiento
Mermelada	Conserva dulce que se elabora cocinando fruta, entera o troceada, en un poco de agua y con una proporción de azúcar igual a la masa de la fruta
Metanol	También conocido como alcohol de madera o alcohol metílico. Es un líquido incoloro y muy tóxico, obtenido por destilación de la madera a baja temperatura o mediante la reacción del monóxido de carbono y el hidrógeno, que se emplea para desnaturalizar el alcohol etílico y como aditivo de combustibles líquidos
Pectina	Mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Son el principal componente de la lámina media de la pared celular y constituyen el 30% de la masa seca de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de agua forman geles
Permanganato de potasio	Es un compuesto químico formado por iones de potasio (K^+) y permanganato (MnO_4^-). Es un fuerte agente oxidante. Fórmula $KMnO_4$
pH	Medida de la concentración del ion hidronio en solución. El concepto está determinado por la expresión: $pH = -\log[H_3O^+]$

Poscosecha	Etapa de la cosecha que generalmente, es anterior al consumo y posterior a la cosecha
Pruebas de nivel de agrado	Técnicas empleadas para evaluar la aceptación o rechazo de un producto por parte de un consumidor potencial
Quitina	Polímero presente químicamente puro en el exoesqueleto de diferentes seres vivos, de fórmula lineal $(C_8H_{13}NO_5)_n$
Quitosana	Polímero usado en biopelículas para el recubrimiento de alimentos obtenido de forma industrial a través de la desacetilación de la quitina
Residuo	Cualquier objeto inservible, todo material no deseado y del que se tiene intención de desechar
Uva verde	Es una fruta obtenida de la vid. Las uvas vienen en racimos, son pequeñas y dulces
Temperatura	Magnitud referida a las nociones comunes de calor medible mediante un termómetro
Toxicidad	Grado de efectividad que poseen las sustancias que, por su composición, se consideran tóxicas. Se trata de una medida que se emplea para identificar al nivel tóxico de diversos fluidos o elementos, afectando parte de un organismo o su totalidad

V. ABREVIATURAS, SIGLAS Y UNIDADES

Abreviaturas / Siglas	Significado
ANDEVA (ANOVA)	Análisis de varianza (<i>Analysis of variance</i> , por sus siglas en inglés)
CDMX	Ciudad de México
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
FDA	Siglas en inglés de la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, <i>Food and Drugs Administration</i>
FI	Factor de incertidumbre
FM	Factor modificador
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
LOAEL	Por sus siglas en inglés <i>Lowest observed adverse effect level</i> , es decir, Nivel de mínimo efecto tóxico observable
MAC-141	Disolvente capaz de extraer la mezcla quitina-quitosana del cefalotórax y exoesqueletos de camarón compuesto por metanol, agua y cloruro de calcio en una proporción molar 1:4:1
NMX	Norma Mexicana de uso no obligatorio
NOAEL	Por sus siglas en inglés <i>No-observed-adverse-effect level</i> , es decir, nivel sin efecto adverso observable
NOM	Norma Oficial Mexicana
OMS	Organización Mundial de la Salud
ONU	Organización de las Naciones Unidas

Q-Qn	Biopolímero Quitina-Quitosa
Qn-SA	Quitosa marca Sigma-Aldrich
rpm	Revoluciones por minuto
S-A	Sigma-Aldrich
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, ahora las siglas son la SADER (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural)
SE	Secretaría de Economía
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
UFC	Unidades formadoras de colonias

UNIDADES	
°C	Grado Celsius
g	Unidad de masa en gramos
kg	Unidad de masa en kilogramos
mg	Unidad de masa en miligramos
mL	Unidad de volumen en mililitros
μm	Unidad de volumen en microlitros

Nota:

Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

VI. RESUMEN

La alimentación de los seres vivos es una necesidad para su supervivencia. El crecimiento que la población ha tenido en los últimos años ha llevado al incremento en la sobreproducción de alimentos y por tanto es necesario conservarlos adecuadamente en buen estado y por un mayor tiempo hasta la llegada al consumidor final. En este estudio se empleó un subproducto obtenido de la industria acuícola (cefalotórax de camarón) con la finalidad de elaborar un recubrimiento natural (biopelícula) que permitiera actuar como conservador de un fruto climatérico y uno no climatérico. Para ello, se utilizó un disolvente patentado por la UNAM, MAC-141[®] el cual fue elaborado con Metanol, Agua y Cloruro de Calcio en una proporción molar 1:4:1 respectivamente, y que junto con el cefalotórax y exoesqueleto de camarón parcialmente desproteínizado, formaran un complejo Cloruro de Calcio-Quitina que permitiera servir como agente conservante. Por otro lado, como es sabido, el metanol es un alcohol que es tóxico para el consumo humano y, de acuerdo con la concentración en la que se encuentre, puede afectar la salud de quien lo ingiera, provocando desde mareos, vómito, ceguera y en casos realmente severos, la muerte. Por ello, parte de este estudio fue el determinar si las frutas que fueron recubiertas con el biopolímero obtenido, presentaban metanol residual y si esta cantidad presente rebasaba la cantidad permitida de acuerdo con el nivel, sin efecto adverso observable (*NOAEL*, en inglés) de este disolvente, el cual es de 5mg de metanol/kg/masa corporal al día. Para ello, tres lotes de guayabas y tres lotes de uvas verdes: lote blanco, el cual no tuvo ningún tipo de tratamiento para el aumento de la vida de anaquel, lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141[®]) el cual fue recubierto con el biopolímero extraído y, finalmente, el lote control con quitosana de la marca Sigma-Aldrich. Cada uno de los lotes fueron almacenados a tres temperaturas distintas (4°C, Temperatura ambiente y 35°C) determinándose el nivel de metanol presente en las frutas a partir de lo establecido por la NMX-V-005-NORMEX-2013 y realizándose una destilación de las frutas recubiertas para

posteriormente oxidar el metanol presente y formar formaldehído. Entre los resultados sobresalientes que se obtuvieron en este estudio se pudo encontrar que, para el caso de uva, la concentración de metanol en los tres lotes de estudio fue mayor en comparación con la guayaba debido al grado de esterificación de la misma. Como pudo observarse que la cantidad que puede ingerirse del lote de guayaba recubierto con el biopolímero Q-Qn obtenido en esta experimentación almacenado a temperatura ambiente es de 503.62 g por día y para el caso de la uva, para el mismo lote, se puede consumir la cantidad de 213.63 g por día.

Haciendo la comparación de los demás lotes, se pudo observar que de todos los lotes, del que menos puede consumirse es del recubierto con el biopolímero elaborado en el estudio. Sin embargo la cantidad de consumo sigue siendo aceptable para una persona. Por lo tanto, puede decirse que, a pesar de que hay una cierta cantidad de metanol presente en las frutas en estudio, esta es inocua para el consumo humano.

Palabras clave: Metanol, concentración residual, frutos climatéricos, frutos no climatéricos, *Psidium guajava*, *Vitis vinifera*, quitina-quitosana, metanol-agua-cloruro de calcio.

CAPÍTULO 1. PROBLEMÁTICA

1.1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la necesidad de contar con alimentos de buena calidad en el mundo ha aumentado con el pasar de los años debido a un aumento desproporcionado de la población. Se dice que el mundo necesitará producir un 50% más de comida para poder alimentar a 9,000 millones de personas aproximadamente en 2050 (ONU, 2018). Sin embargo, son varios los factores que afectan la calidad de los alimentos tales como agentes físicos (temperatura, humedad, aire), agentes químicos (pardeamiento, enranciamiento, etc.) y agentes biológicos (enzimas, microorganismos) (Herrero y Guardia, 1992). Es por esto que se ha incrementado la preocupación por conservar adecuadamente a los alimentos que son una necesidad prioritaria para todos los seres vivos y, por ello, es necesario indagar e innovar nuevos métodos de conservación que sean más saludables y amigables con el ambiente.

Aunado a esto, son varias las vías de elaboración de conservadores, para que sean apropiados para los productos a los que se aplican y para los consumidores. Uno de ellos son las biopelículas, los cuales han ganado importancia para prolongar la conservación de la calidad en fresco de frutas y hortalizas. No solamente constituyen barreras que reducen la permeabilidad e intercambio de moléculas con el ambiente, sino que además son un excelente vehículo para la incorporación de agentes antimicrobianos naturales que garantizan la seguridad alimenticia sin contribuir a la contaminación ambiental (Salgado, 2012).

Una biopelícula comestible se define como una capa delgada de material comestible de origen biológico, formada sobre un alimento como recubrimiento. (Han, 2014). Entre los materiales que más se utilizan son las proteínas, poliglúcidos, lípidos y resinas naturales como la quitosana, el colágeno, la pectina y el almidón. Estos materiales no deben causar riesgos a la salud del consumidor al no ser metabolizados y deben ser inocuos durante el paso por tracto gastrointestinal. Uno de los objetivos principales que se buscan al elaborar una biopelícula es que ésta sea comestible, económica, abundante y biodegradable

además de que su sabor no afecte el sabor natural ni el color de los productos sobre los cuales se aplique.

Dado lo anterior, en este trabajo de investigación, se elaboró una biopelícula a partir del biopolímero quitina-quitosana (Q-Qn) extraído de los residuos de camarón con ayuda del disolvente MAC-141[®] (metanol, agua, cloruro de calcio), en una relación molar 1:4:1, con la finalidad de aumentar la vida de anaquel de frutos.

En este caso se recubrió un fruto climatérico (guayaba) y otro no climatérico (uva verde) para evaluar la existencia de diferencias en sus propiedades, empleando un subproducto de la industria marina, los residuos de camarón, el cual se obtiene de granjas o pesquerías. Para ello, se siguió la metodología descrita por Enríquez y Nava (2016), donde se tomó el escafoerito y el diente dorsal del camarón logrando su desprendimiento; dicha metodología es explicada con más detalle a lo largo de este estudio.

Al extraer la quitina-quitosana de los residuos de camarón con el disolvente MAC-141[®], se forma un complejo entre el cloruro de calcio y el cefalotórax y el exoesqueleto parcialmente desproteinizados (CPD) con el cual se elaboran las biopelículas de quitina con las que son recubiertos los frutos pero, como es sabido, la ingesta de metanol en cantidades excesivas puede causar severos daños a la persona que lo consume, si es que este nivel excede el máximo permitido.

La absorción gástrica del metanol puede durar entre 30 y 60 minutos dependiendo de la presencia de comida en el estómago, cabe destacar que el metanol es una sustancia de baja toxicidad y que son sus metabolitos, el ácido fórmico y el formato, los causantes de los efectos adversos en el organismo (García y col. 2011).

Por tal motivo es importante conocer los niveles en los que se encuentra el metanol en las frutas recubiertas con el biopolímero quitina-quitosana (Q-Qn) para poder comprobar que es una opción adecuada para la conservación de alimentos, inocua y amigable con el medio ambiente, sin alterar la salud del consumidor.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de metanol residual en guayabas y uvas verdes recubiertas con la biopelícula elaborada con el disolvente MAC-141[®] a partir de residuos de camarón, estableciendo si sobrepasa o no la cantidad de metanol residual permitida por la NMX-V-005-NORMEX-2013. (DOF, 2013)

1.2.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Comprobar la efectividad de la biopelícula quitina-quitosa (Q-Qn) al ser aplicada a distintos frutos almacenados a diferentes temperaturas (4°C, T ambiente y 35°C) en su calidad
- Evaluar si existe diferencia significativa en los valores de metanol encontrados en las frutas sin recubrimiento (blanco) y con recubrimiento comercial hecho con quitosa marca Sigma Aldrich ante la biopelícula quitina-quitosa (Q-Qn) elaborada en el laboratorio.
- Elaborar mermeladas a partir de las frutas recubiertas con: 1) la biopelícula quitina-quitosa (Q-Qn), 2) la quitosa comercial y 3) el lote sin ningún recubrimiento evaluando la existencia de alguna diferencia significativa entre ellas usando como producto uva y guayaba.
- Realizar una evaluación sensorial de las mermeladas anteriormente descritas, determinando su nivel de agrado y si el recubrimiento interfiere en el sabor de las mismas.

1.3. HIPÓTESIS

El disolvente elaborado en este experimento para recubrir los frutos requiere de metanol por lo que se espera que la concentración de metanol residual encontrada en los frutos climatérico (guayaba) y no climatérico (uva verde) recubiertos con la biopelícula elaborada con (Q-Qn) obtenida a partir del cefalotórax de camarón será menor al nivel máximo permisible establecido en la normativa permitiendo su consumo sin riesgo alguno.

1.4.- METAS Y ALCANCES

- A partir de residuos de camarón obtener una biopelícula a partir de la elaboración del disolvente MAC-141[®], la cual servirá como protección para los productos en los cuales se aplicará.
- Determinar si el metanol utilizado para la elaboración del disolvente MAC-141[®] se encuentra a niveles permisibles, demostrando que su uso es confiable e inocuo para el consumo humano.
- Este estudio solo se realizó en uvas verdes y en guayabas, siendo los resultados correspondientes a los mismos, por lo que si se desea emplear en otros frutos, sería recomendable evaluar su comportamiento así como en sus distintos grados de madurez.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Las frutas y su importancia en la alimentación humana

Desde el comienzo de la humanidad, las frutas han formado parte de la dieta de la alimentación del hombre. Sin embargo, es hasta tiempos recientes que su valor nutricional ha sido evaluado cuantitativamente en términos reales. Gracias a esto, su imagen pública ha mejorado considerablemente, especialmente en los países desarrollados. El estatus de las frutas y hortalizas frescas se ha visto favorecido también por la tendencia internacional hacia el consumo de alimentos naturales frescos, que se consideran superiores a los procesados y que contienen menos aditivos químicos. Esta percepción de los consumidores ha impuesto exigencias adicionales a la industria hortofrutícola a la que se pide que reduzca al mínimo el uso de productos químicos sintéticos en la producción y la manipulación postcosecha (Fox y Cameron, 2006).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, existe evidencia de que el consumo de al menos cinco porciones de fruta y verduras todos los días, disminuye el riesgo de diversas enfermedades no transmisibles, como la diabetes tipo 2, las enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer. Además de esto, la razón por la cual es necesario el consumo de frutas es debido a su valor nutrimental (aporte de vitaminas C, A, fibra y minerales). Un consumo adecuado de frutas trae beneficios a la salud debido a la presencia de antioxidantes que disminuyen el estrés oxidativo previniendo o retardando algunas enfermedades (Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013).

Un alimento conservado a diferencia de uno procesado es un producto que apenas cambia durante su elaboración, en el cual el método de conservación no modifica su individualidad como alimento. Las ventajas que las frutas tienen al ser procesadas mínimamente, es que presentan características organolépticas y nutricionales similares a las frutas frescas y son fáciles de manipular por el consumidor. Además, podrían ser consideradas como una alternativa a la comida rápida ya que, debido al aumento de su vida útil, atienden la demanda de alimentos sanos y convenientes (Chiumarelli y col., 2010).

Es por los motivos citados anteriormente es necesario encontrar nuevas opciones para la conservación de alimentos frescos, los cuales al ser consumidos son inocuos además de ser saludables.

2.1.1. El proceso de la cosecha de frutas

Generalmente, las frutas son cosechadas cuando han alcanzado una aceptación visual o comestible óptima. Sin embargo, al ser sistemas biológicos, al momento de ser cosechados van perdiendo sus cualidades organolépticas, siendo inaceptables para el consumidor (Willis, 2002). Por esto mismo, también sucede que la fruta se cosecha cuando aún no alcanza un estado de madurez adecuado y mientras llega a los establecimientos va alcanzando todas las cualidades sensoriales que la hacen agradable ya que alcanza una aceptación comestible óptima. La velocidad de deterioro varía considerablemente con el producto que se trate, dependiendo de su ritmo metabólico, pero en muchos casos de forma rápida (Bosques y Colina, 2014).

Como se mencionó anteriormente, la llegada del producto al consumidor se realiza a través de las cadenas de comercialización y generalmente es en periodos cortos. Cuando esto sucede, el deterioro postcosecha no es un factor tan grave; el problema llega cuando existe un alejamiento significativo de las áreas de producción y los centros de distribución o de consumo. Tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados, la proliferación de grandes urbes con sistemas de comercialización complejos y el incremento del comercio internacional, han aumentado de manera considerable el tiempo entre la recolección y su llegada al consumidor final. Por ello es imprescindible que el producto llegue desde el productor hasta el consumidor final en las mejores condiciones. Para esto, debe añadirse el almacenamiento intencionado de ciertos productos, para lanzarlos al mercado en el momento más oportuno, teniendo en cuenta la relación entre la oferta y la demanda (Willis, 2002). Actualmente debido a la demanda y necesidad de lanzar al mercado los productos, se ha hecho imprescindible la aplicación de tecnologías postcosecha permitiendo así el

mantenimiento de la calidad a lo largo de periodos de tiempo cada vez más prolongados. (Bosques y Colina, 2014)

Es aquí donde radica la importancia de nuevas tecnologías postcosecha ya que como consecuencia de un mal almacenamiento y un mal manejo del producto, este se vuelve inútil para la venta debido a la pérdida de sus cualidades sensoriales.

Son muchas las causas reales de las pérdidas postcosecha, pero pueden clasificarse en dos tipos principales:

•Pérdidas físicas derivadas:

- i. del daño estructural o el deterioro microbiano, que terminan degradando los tejidos hasta un grado que no permiten una presentación aceptable, el consumo en fresco o su procesado, o
- ii. de la evaporación del agua intracelular, que lleva aparejada la pérdida de masa. Las pérdidas económicas resultantes se deben primordialmente a la reducción de la masa del producto que, sin embargo, puede seguir siendo aceptado en el mercado.

•Pérdidas de calidad debido a cambios fisiológicos y modificaciones de la composición que alteran el aspecto, el sabor o la textura y reducen el atractivo de los productos afectados. Estos en cambio son consecuencia, unas veces, del metabolismo normal y, otras, de sucesos anormales inducidos por el ambiente postcosecha. Las pérdidas económicas causadas derivan de que solamente se pueden vender a un precio reducido. En numerosos mercados, no existe una demanda para productos de segunda clase, ni siquiera a precios reducidos (en cuyo caso la pérdida económica es total) aunque pudieran tener venta en otros mercados (Willis, 2002).

La tecnología postcosecha ha incrementado su importancia en los años recientes, su fin radica en el desarrollo de métodos que disminuyan, cuando sea posible, el deterioro de los productos durante el periodo que media entre la recolección y su uso por el consumidor. Requiere conocimiento profundo de la estructura, la composición, la bioquímica y la fisiología de los productos, ya que las

temperaturas postcosecha tratan básicamente de frenar el ritmo metabólico de los productos, sin inducir procesos anómalos (Willis, 2002).

Los sucesos postcosecha anómalos más importantes son las alteraciones fisiológicas (inducidas por las condiciones ambientales pre y postcosecha adversas o los desequilibrios minerales durante el crecimiento) y el deterioro microbiano producido por diversas bacterias y mohos que pueden infectar el producto pre o postcosecha. La investigación postcosecha, además de generar información sobre los efectos de las condiciones ambientales sobre los diversos productos, debe desarrollar tecnologías que, para que tengan valor industrial, deben ser favorables, aceptadas por el consumidor y ofrecer una relación costo/beneficio favorable. La gestión de la calidad comienza así en el campo y prosigue hasta que el producto alcanza al consumidor final (Willis, 2002).

2.1.2. Maduración

Hablando de la maduración de las frutas, durante la postcosecha sufren numerosos cambios fisicoquímicos, los cuales ayudan a determinar su calidad al ser adquiridas por el consumidor. La maduración de las frutas puede expresarse como un proceso espectacular, es decir, transformar un tejido fisiológicamente maduro, pero no comestible, en otro que es visual, olfativo y gustativamente atractivo. Señala el final del desarrollo de un fruto y el comienzo de su senescencia; ordinariamente un proceso irreversible. Viéndolo de esta forma, la maduración es el resultado de un complejo conjunto de transformaciones, muchas de las cuales es probable que sean independientes entre sí. La diferencia fundamental entre un fruto climatérico y en un fruto no climatérico, reside en la existencia en aquellos de un “pico” de actividad respiratoria, característico de los frutos climatéricos. El brusco ascenso de la actividad respiratoria puede detectarse midiendo la producción de dióxido de carbono (que aumenta) o la concentración interna de oxígeno, que disminuye (Willis, 2002).

El consumidor es capaz de reconocer que las frutas han alcanzado una madurez óptima. Esta condición no es consecuencia de un único tipo de transformación, común a todos los productos vegetales, sino que se alcanza de diferente modo en

los distintos tejidos vegetales. Los frutos climatéricos suelen alcanzar el estadio en plena madurez organoléptica tras haber entrado en el periodo climatérico. Sin embargo, son otros sucesos, iniciados por el etileno, los que el consumidor asocia con la madurez (Casp-Vanaclocha y Abril-Requena, 2003).

Color

El más manifiesto de los cambios experimentados por muchas frutas durante la maduración y con frecuencia el más importante de los criterios utilizados por los consumidores para decidir si la fruta está o no madura, es el color. Con pocas excepciones, las frutas climatéricas pierden su color verde durante la maduración. Muchos frutos no climatéricos ofrecen cambios similares, al tiempo que alcanzan una calidad comestible óptima, como ocurre con los frutos cítricos en los climas templados. La pérdida de esa coloración es consecuencia de la degradación de la clorofila. Causas primordiales de esta degradación son los cambios del pH (debidos principalmente a la fuga de ácidos orgánicos al exterior de la vacuola), el desarrollo de procesos oxidativos y la acción de las clorofilazas (Willis, 2002).

Hidratos de carbono

El cambio más importante asociado con la maduración de los frutos y hortalizas es la degradación de los hidratos de carbono poliméricos. Especialmente frecuente es la casi total conversión del almidón en glúcidos. Estas transformaciones tienen el doble efecto de alterar tanto el sabor con la textura del producto (Willis, 2002).

2.1.3. La temperatura y su efecto (Hoorfar, 2014)

La temperatura es el factor más importante que gobierna el mantenimiento de la calidad postcosecha de las frutas, hortalizas y los productos ornamentales. La respuesta a la temperatura de los productos hortícolas recolectados puede clasificarse generalmente en:

- efectos de las temperaturas “normales”;
- efectos adversos de las bajas temperaturas y
- efectos adversos de las altas temperaturas

Efectos de las temperaturas intermedias normales

Idealmente, tras su recolección, los productos se transportan y almacenan a temperaturas reducidas, para prolongar su vida. Sin embargo, el efecto que sobre el mantenimiento de la calidad tienen un determinado descenso de la temperatura no es uniforme a lo largo de todo el intervalo de temperaturas fisiológicas, o intermedias normales (0-30°C) para las líneas no sensibles al frío, alrededor de 7.5-30°C para las líneas moderadamente sensibles al frío y torno a 13-30°C para las líneas sensibles al frío). Pequeñas reducciones de la temperatura en el extremo superior de estos intervalos de temperatura solamente mejoran un poco la vida útil (el periodo de tiempo durante el que el producto puede mantenerse postcosecha, en una condición aceptable).

Efectos adversos de las temperaturas elevadas

La exposición a temperaturas elevadas se produce ordinariamente como consecuencia de mantener los productos recién recolectados expuestos a la acción directa de la luz solar o a temperaturas del aire altas o de someterlos a tratamientos térmicos para la erradicación de los insectos. La actividad de las enzimas de las frutas, las hortalizas y los productos ornamentales disminuye a temperaturas por encima de 30°C. A ciertas temperaturas, determinadas enzimas se inactivan; muchas siguen activas a 35°C, pero la mayoría se inactivan a 40°C. La exposición continua de algunos frutos climatéricos a temperatura en torno a los 30°C facilita la maduración de su porción comestible, pero inhibe su pigmentación. Cuando un producto se mantiene a temperaturas superiores a 35°C, su metabolismo transcurre anómalamente y la integridad y estructura de sus membranas se degradan, alterándose su organización celular y degradándose con rapidez. Las modificaciones producidas se caracterizan, con frecuencia, por la despigmentación y es frecuente que los tejidos se tornen acuosos o traslúcidos (Casp-Vanaclocha y Abril-Requena, 2003).

2.2. Guayaba (*Psidium guajava*)

La guayaba, de nombre científico *Psidium guajava* se cree que se originó en América Central y en la parte meridional de México, pero en la actualidad crece en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Es un árbol bajo o un arbusto de 2 a 8 m de altura, posee una copa amplia y extendida que se ramifica con el suelo (Baranoa y Sancho, 1992). La fruta puede ser redonda como una manzana o puede estrecharse en un extremo como una pera, posee una cáscara de textura rugosa de color amarillo, de aroma intenso y muy persistente. Además, la pulpa puede ser blanca, rosada, amarilla o roja, de sabor dulce a ácido; puede contener muchas o pocas semillas. Su crecimiento y desarrollo se ve favorecido en aquellos lugares donde se mantienen temperaturas entre los 16°C y 34°C, con un factor de humedad relativa entre 36-39%. Es importante mencionar que la guayaba es una excelente fuente de ácido ascórbico con valores arriba de 100 mg/g (Jagtiani y col. 1988). También es una importante fuente de niacina; contiene calcio, hierro, fósforo, vitaminas como la riboflavina y fibra como se aprecia en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Contenido nutricional de la guayaba. Valores para una porción de 100 g (SIAP, 2015)

Contenido	
Porción comestible	82%
Energía	51 kcal
Humedad	86.10%
Proteínas	0.8 g
Grasa	0.6 g
Cenizas	11.8 g
Carbohidratos	11.9 g
Fibra	5.6 g
Calcio	20 mg
Hierro	0.3 mg
Fósforo	25 mg

Contenido	
Retinol	32 mg
Ácido ascórbico	183 mg
Tiamina	0.1 mg
Rivoflavina	0.1 mg
Niacina	1.2 mg

2.2.1. La guayaba. Producción nacional e internacional

De acuerdo con un estudio realizado por el INIFAP y la CONABIO, la India encabeza la producción de guayaba fresca en el mundo con un estimado de 2.1 millones de toneladas. Otros principales productores de guayaba ya sea procesada o fresca, son México, Pakistán, China, Egipto, Brasil, África del Sur, Venezuela. En los últimos tres años, la producción de guayaba aumentó en 8.2 por ciento, lo que permite consolidar al país como el quinto productor mundial de este fruto (SIAP, 2015).

De acuerdo con un informe de la SADER, anteriormente SAGARPA, durante el periodo enero-octubre de 2018, la producción de guayaba en el país alcanzo las 224 mil 841 toneladas, lo que representó un incremento en términos de volumen de aproximadamente 17 mil toneladas, en comparación con el mismo lapso de 2014 (SIAP, 2015).

En México, la producción de guayaba se efectúa principalmente en 18 estados de la República, Aguascalientes, Baja California Sur, Colima, Chiapas, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Puebla, Querétaro, Tabasco, Veracruz y Zacatecas (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Principales estados productores de guayaba (SIAP, 2015)

Estado	Producción (Toneladas)
Michoacán	147, 286
Aguascalientes	94, 845
Zacatecas	46, 708
Estado de México	11, 054

Hay cuatro entidades que tienen una participación cercana al 97 por ciento de la producción y solamente Michoacán aporta casi el 50 por ciento del volumen nacional, lo que equivale a 218,237 toneladas (Figura 2.1). Principalmente, a partir de los cuatro estados es de donde llega la guayaba al resto del país.



Figura 2.1. Principales estados productores de guayaba en territorio nacional (SIAP, 2015)

Exportación de la guayaba

Durante los últimos años, la producción de guayaba ha adquirido importancia económica en términos del valor de las exportaciones. Como se observa en la Figura 2.2 el valor de las exportaciones supera considerablemente al nivel de las importaciones. Es una meta para el país que las exportaciones continúen aumentando con el pasar de los años.

2.2.2. Consumo de guayaba en México

En México, la guayaba es consumida principalmente fresca; aunque puede encontrarse en distintas presentaciones como puré, néctar, bebida con jugo de guayaba, entre otros. Tradicionalmente, los intercambios mundiales de este fruto no se dan en su estado fresco sino en sus versiones deshidratadas o procesadas. Sin embargo, debido a sus propiedades nutrimentales y a su atractivo exótico,

como fruta tropical, la guayaba ha incrementado recientemente su popularidad en los mercados de los países desarrollados (A&A Agronegocios, 2011).



Figura 2.2. Valor de las exportaciones de guayaba en millones de dólares (SIAP, 2015).

El consumo de guayaba ayuda a reducir el colesterol en la sangre y eliminar la grasa corporal. Al preparar sus hojas en té, se contribuye a la prevención del estreñimiento, fiebre del dengue, dolor de muelas y encías, alergias, entre otros males (Mendoza-López y col., 2005).

2.2.3. Guayaba, un fruto climatérico

Según Kays y Paull (2004), la transpiración y el consumo de sustratos son la razón de la pérdida de masa de los frutos durante la maduración en poscosecha. La pérdida de agua libre es una de las principales causas de deterioro, ya que se originan pérdidas cuantitativas directas, así como pérdidas cualitativas relacionadas con el aspecto, pérdida de brillo y de turgencia, cambios en la textura y consistencia de la fruta y en el valor nutricional (Kays y Paull, 2004).

En estudios de almacenamiento de guayaba tipo 'Criolla Roja' durante 20 días a tres temperaturas (12, 17 y 27°C), se encontró que la pérdida de masa se incrementó a medida que aumentó la temperatura (para frutos con igual masa

inicial, varió entre 32.9 y 89.9 g para la temperatura menor y mayor respectivamente), siendo además inversamente proporcional al estado de madurez del fruto (Parra, 2014). De acuerdo con Oliveira y Cereda (2003), los valores aceptables de pérdida de masa para guayabas recolectadas en estado de madurez fisiológica, variaron entre un 10 y un 15%.

2.3. Uva (*Vitis vinífera*)

Su nombre científico es *Vitis vinífera*. De forma esférica, carnosa y muy jugosa. Este fruto se agrupa en racimos. Su cáscara es delgada y resistente y su color varía del verde limón al rojo solferino. Posee pulpa aromática y sabor dulce. Es rica en vitaminas A, C, E, B1, B2, B3 y B6 y en minerales como calcio, fósforo, sodio, potasio, hierro, cobre, magnesio, zinc, ácido fólico, etc. Presenta alta resistencia a las heladas invernales; sin embargo, la temperatura óptima para su desarrollo oscila entre los 15 y 25°C. (SAGARPA, 2017)

2.3.1. Consumo de la uva

México ocupa el décimo cuarto lugar de producción de uva en el mundo. La producción de uva fresca en México está regionalizada debido a que el 70% se cultiva en el estado de Sonora, otra parte se localiza en los estados de Baja California tanto Norte como Sur, también hay cosechas en Zacatecas, Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Jalisco, Puebla, San Luis Potosí y Querétaro. El 95% de la superficie cosechada se ubica en Sonora, Zacatecas, Baja California, Aguascalientes y Coahuila. Generalmente el consumidor prefiere la fruta en fresco. Debe tener poca acidez y ser baja en glúcidos, así como cumplir ciertas normas en cuanto a tamaño, color y forma. Además de su consumo en fresco, la uva industrial es el principal insumo para el sector vitivinícola, la cual representó 22.93% de la producción total de uva en 2016. En el periodo 2003-2016 la producción de uva creció 6.05% con un total de 352,309 toneladas en 2016, debido principalmente a un aumento del rendimiento, ya que se redujo la superficie sembrada 10.15% en el mismo periodo y se ubicó en aproximadamente 31,419 hectáreas en 2016 (SAGARPA, 2017).

Como se observa en la Tabla 2.3 se estima que la producción de uva aumente en el territorio nacional y por esto mismo las exportaciones. Actualmente se satisface 100% de los requerimientos nacionales con producción interna; asimismo, las importaciones mundiales han aumentado 33.66% en la última década, lo que ha generado un incremento en las exportaciones mexicanas principalmente con destino a Estados Unidos (Tabla 2.4) (SAGARPA, 2017).

Tabla 2.3. Estimaciones de producción de uva en México (SAGARPA, 2017)

Año/Periodo	2016	2018	2024	2030
Producción potencial (miles de toneladas)	351.31	367.34	415.45	463.51
Exportaciones (miles de toneladas)	157.34	168.03	191.59	213.62
Valor de exportaciones (millones de dólares a precios de 2016)	163.25	174.33	198.78	221.64

Tabla 2.4. Exportación de uva (SAGARPA, 2017)

Exportaciones	Miles de toneladas
Estados Unidos	155.2
Guatemala	0.5
Costa Rica	0.5
El Salvador	0.4
Otros	0.7

2.4. Biopelículas, su uso e importancia en la conservación de alimentos frescos

Una biopelícula comestible, puede definirse como una capa delgada de material comestible de origen biológico, formada sobre un alimento como recubrimiento. También puede definirse como una matriz continua delgada, que posteriormente será utilizada en forma de recubrimiento del alimento o estará ubicada entre los componentes del mismo. Las biopelículas se elaboran a partir de una variedad de productos agrícolas y/o residuos de la industrialización de productos alimenticios (Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013).

Entre los materiales utilizados se tienen a las proteínas, poliglúcidos, lípidos y resinas naturales como la quitosana, el colágeno, la pectina y el almidón. Estos no deben causar riesgos para la salud del consumidor al no ser metabolizados y ser inocuos durante el paso por el tracto gastrointestinal. Lo que se busca en una biopelícula es que sea comestible, económica, abundante y biodegradable (Hong, y col., 2012). Otros factores importantes que influyen en una biopelícula son el sabor, el perfil nutritivo, el contenido, la vida útil y el color, entre otros.

Los compuestos principales utilizados para la elaboración de las biopelículas son: los poliglúcidos como el almidón, carragenina, pectina, quitosana, los cuales son capaces de formar una matriz estructural; algunos de estos también funcionan como plastificantes y en cuanto a la permeabilidad, las películas elaboradas con poliglúcidos generalmente presentan buenas barreras a la humedad y propiedades mecánicas moderadas (Ramírez y col., 2010).

También se encuentran las proteínas como por ejemplo el colágeno, la gelatina, el gluten de trigo, los aislados proteicos de soya, las proteínas de la leche, entre otros. Este tipo de compuestos presentan barreras más débiles que los poliglúcidos al vapor de agua y, por otro lado, desarrollan muy buenas propiedades de barrera al oxígeno y propiedades mecánicas que son muy favorables para recubrir alimentos. Lo que se busca en este tipo de biopelículas es que puedan ser aplicados a productos frescos como las frutas intactas o en productos mínimamente procesados. Asimismo, la selección de la formulación

dependerá de la utilidad de la película, teniendo en consideración todas las propiedades del producto al que será aplicado. Cabe recalcar que un tipo de biopelícula que ayuda al control de microorganismos son las películas de quitosano (Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013).

En general, los recubrimientos son utilizados para crear un microempaque de la fruta y evitar así las pérdidas de masa y de humedad por el fenómeno de la transpiración durante el almacenamiento. Estos recubrimientos se aplican por inmersión, aspersion o rociado, también por medio de la nebulización y por aplicación con cepillos impregnados en las soluciones (Barreiro y Sandoval, 2006). Los recubrimientos comestibles y biodegradables representan una alternativa de empaque sin costos ambientales. Las cubiertas de quitosana han sido utilizadas como agente alternativo de control contra hongos y se ha demostrado que inducen la resistencia de la fruta además de inhibir el crecimiento de patógenos. Este biopolímero presenta propiedades atractivas para su utilización en la realización de los recubrimientos, ya que además es un compuesto biodegradable y no es tóxico (Vuarant, 2010).

Los recubrimientos comestibles en frutas crean una atmósfera modificada en el interior de estas, reduciendo la velocidad de transpiración y retrasando el proceso de senescencia debido a que crean una barrera semipermeable para gases como el O₂, el CO₂ y el vapor de agua. Esto retrasa el deterioro de la fruta causado por la deshidratación, mejorando sus propiedades (Vázquez-Briones y Guerrero-Beltrán, 2013).

2.5. Funcionalidad de los recubrimientos

La efectividad de los recubrimientos comestibles dependerá fundamentalmente de la permeabilidad al vapor de agua y de los gases, así como de sus propiedades mecánicas. El mecanismo por el cual los recubrimientos conservan la calidad en frutas es debido a que crean una barrera física protectora hacia los gases, produciendo una atmosfera modificada ya que reducen la disponibilidad de O₂ e incrementan la concentración de CO₂.

Es importante cuidar el espesor de los recubrimientos cuando son aplicados a las frutas ya que pueden afectar directamente las propiedades biológicas y la vida útil de la fruta cubierta.

A medida que el espesor del recubrimiento aumenta, se incrementa la resistencia a la transferencia de masa a través de ella, en consecuencia, la presión parcial de vapor de agua de equilibrio en la superficie inferior de la película se incrementa (Kroachta y col., 1994).

2.6. El camarón y su producción en México

El camarón, de nombre científico *Penaeus sp*; es un crustáceo muy semejante a la gamba, aunque de menor tamaño. Su cuerpo es largo y está comprimido lateralmente. Su rostro largo-aserrado está curvado hacia arriba, con antenas.

Los dos primeros pares de patas terminan en pinzas pequeñas (más gruesas en el caso del segundo par) y los tres últimos, cortos y adaptados para la locomoción, en uñas.

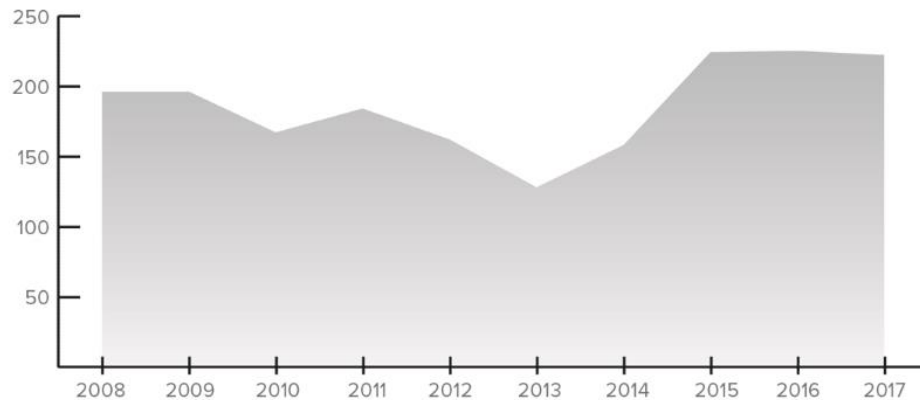
Su cuerpo es transparente, con bandas transversales y líneas de pequeños puntos oscuros en los segmentos abdominales (González, 2014).

En cuanto a sus valores nutricionales, tiene un contenido alto en proteínas y bajo en grasas.

En relación con el contenido de minerales, el camarón es fuente de yodo, zinc, selenio, potasio y fósforo. La producción de camarón en México presentó una tasa media de crecimiento anual de 1.59 % entre el 2008 y el 2018, al pasar de 196,300 a 229,800 toneladas, respectivamente, con lo que la producción nacional del crustáceo alcanzó un nuevo máximo histórico, 71% proveniente del cultivo y 29 % de captura (SIAP, 2015).

Como se puede apreciar en la Tabla 2.5 a lo largo de los años la producción de camarón ha ido en aumento ayudando a la economía del país. Sin embargo, la producción de camarón trae consigo la producción de residuos sólidos, los cuales pueden llegar a considerarse como el 75% de la masa total de estos crustáceos (SIAP, 2015) si no son reaprovechables son considerados como residuos.

Tabla 2.5. Producción de camarón en México (SIAP, 2015)



2.7. Residuos de camarón. Fuente del biopolímero quitina-quitosana. Generalidades

La industria procesadora de mariscos es altamente generadora de desechos sólidos debido a que del 75% al 85% de la masa viva son considerados desperdicios (conchas, cabezas y patas), las cuales pueden ser un foco de infección importante en el medio ambiente, convirtiéndose en una carga económica para las industrias procesadoras de alimento. El caparazón de los crustáceos como son los camarones, los cangrejos y el krill son considerados como desechos marinos. Su composición química es fuente rica en quitina polímero compuesto por moléculas de N-acetil-glucosamina que, al ser sometida a un proceso de hidrólisis (descomposición del polímero), permite la obtención de compuestos benéficos y útiles, es decir, productos con un alto valor agregado (Wang y col., 2011).

Como se mencionó anteriormente, se considera que aproximadamente el 75% de la masa total de los crustáceos son residuos, de este porcentaje, la presencia de quitina comprende del 20 al 50% de la masa total seca de dichos residuos. El contenido de quitina, proteína, minerales y carotenoides presente en la cubierta de los crustáceos varía dependiendo de la especie, parte de la cubierta, estado de nutrición y ciclo reproductivo del organismo. El caparazón de camarón contiene como componente principal entre un 15 y un 40% de quitina, entre 20 y 40% de proteína y de un 20 a un 50% de carbonato de calcio, y en menor cantidad pigmentos y otras sales metálicas (Younes y Rinaudo, 2015).

Los recubrimientos con este tipo de biopolímeros han sido aplicados en distintas frutas desde que se ha comenzado con su análisis. Se ha estudiado la quitosana con otros compuestos como el ácido oleico mejorando así la actividad antimicrobiana del polímero y la permeabilidad del agua. De la misma manera, la quitosana presenta un efecto antifúngico.

Quitina

La quitina es el segundo polisacárido más abundante de la naturaleza, siendo solo superada por la celulosa (Shahidi y col., 1999). Esta sustancia forma parte de las estructuras celulares de hongos, bacterias, insectos, arácnidos, crustáceos, entre otros. La quitina está compuesta por aminoglúcidos unidos entre sí por enlaces glicosídicos $\beta(1\rightarrow4)$ que forman una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa. La quitina tiene una estructura similar a la celulosa (Figura 2.3), la diferencia estriba en que el carbono 2 contiene un grupo hidroxilo en la celulosa y un grupo acetamida en la quitina (Ramírez y col., 2010).

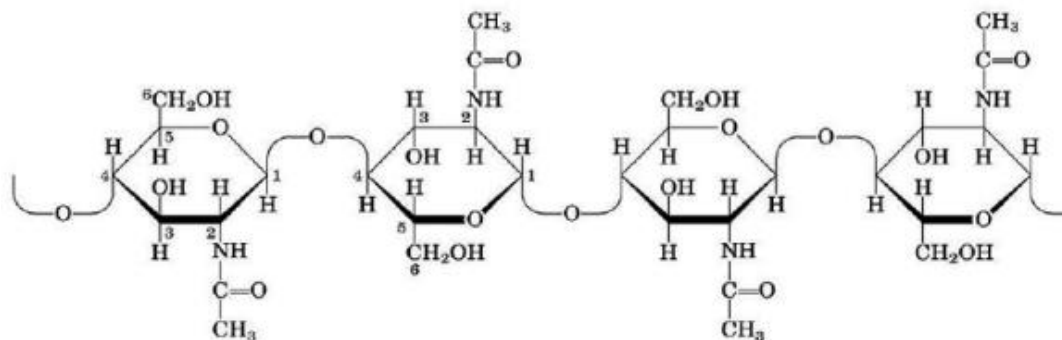


Figura 2.3. Estructura de la quitina (Ramírez y col., 2010)

Actualmente, la quitina se obtiene principalmente del exosqueleto y el cefalotórax de crustáceos industrialmente procesados, tales como langosta, cangrejo y camarón. El uso creciente de la quitina, así como de sus derivados, ha sido motivado por el hecho de que, al contrario de los derivados del petróleo, ésta es obtenida a partir de los subproductos de las industrias pesqueras, fuente naturalmente renovable, no tóxica y no alergénica; además, antimicrobiana y biodegradable (Ramírez y col., 2010).

La insolubilidad de la quitina en agua es debida a los enlaces de hidrógeno que presenta la molécula. La quitina se vuelve soluble en ácidos inorgánicos diluidos cuando pierde el acetilo del grupo acetilamino, convirtiéndose en quitosana (Figura 2.4) (Ramírez y col., 2010).

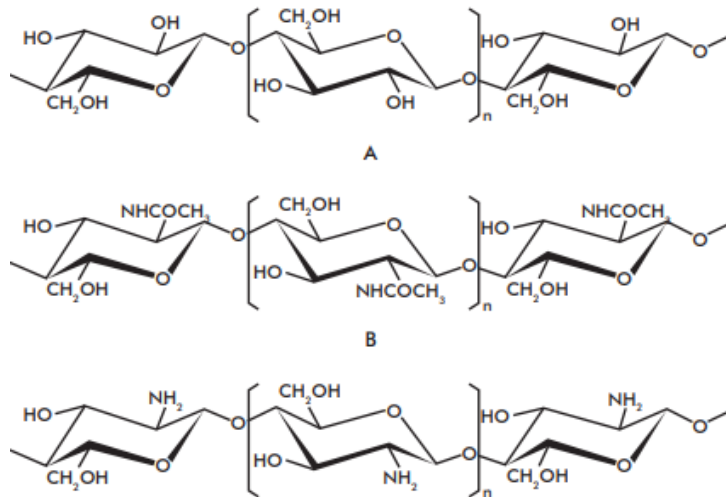


Figura 2.4 Estructura de celulosa (A), quitina totalmente acetilada (B) y quitosana totalmente desacetilada (Ramírez y col., 2010)

Su insolubilidad limita significativamente sus aplicaciones. En muchos casos es conveniente trabajar con algunos de sus derivados directos, en lugar del polímero original. Entre los derivados de la quitina, el más importante es la quitosana.

Quitosana

La quitosana o quitosano o quitosan o quitosán (aunque en esta investigación se sigue el nombre de quitosana que sigue la regla en español de usar el sufijo -ana para las gomas, es el polímero que se obtiene a partir de la quitina, la cual está presente en los exoesqueletos de los crustáceos. Este biopolímero es insoluble en soluciones acuosas con pH superior a 6.5 y en la mayoría de los solventes orgánicos convencionales. Según el tratamiento al que haya sido sometida, la quitosana puede tener masas moleculares superiores al millón de Daltons, lo cual da lugar a soluciones sumamente viscosas. Se ha demostrado que la quitosana es un polímero biodegradable, biocompatible, no tóxico, ni alergénico y con actividad antimicrobiana. Estas propiedades, sumadas a su fácil disolución, facilita su

procesamiento y la hace un biomaterial con innumerables aplicaciones (Figura 2.5) (Nakamatsu, 2012)

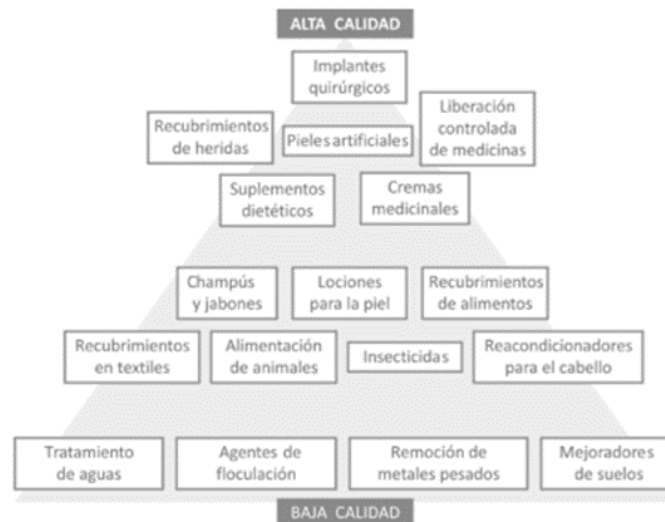


Figura 2.5 Usos de la quitosana de acuerdo con su calidad (pureza) (Nakamatsu-Kuniyoshi, 2012)

Actualmente en el campo de la alimentación y la agricultura y, por esto mismo para esta investigación, las soluciones diluidas de quitosana se usan para recubrir frutas y verduras para formar una biopelícula con propiedades antifúngicas que ayuden a su preservación. De igual manera, se utilizan sus soluciones para tratar semillas, prevenir infecciones microbianas y favorecer el desarrollo de las plantas. Se les utiliza conjuntamente con fertilizantes para reducir las poblaciones de microorganismos dañinos presentes en los suelos de cultivo y se afirma que fortalece el sistema radicular de las plantas (Nakamatsu-Kuniyoshi, 2012).

2.8. Aplicaciones industriales de la Quitina-Quitosa

Actualmente, son identificadas cuatro vertientes de investigación fundamentales en la aplicación de la quitina en la agricultura:

1. Protección vegetal contra plagas y enfermedades antes y después de la cosecha
2. Potenciación de la acción de microorganismos antagonistas y controles biológicos

3. Potenciación de las relaciones simbióticas beneficiosas plantas – microorganismos

4. Regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas

Algunos resultados apuntan que la quitina polimérica no ejerce una apreciable actividad antimicrobiana sobre el crecimiento y desarrollo de los agentes patógenos vegetales, en lo cual influye su insolubilidad en agua y su estructura compacta. Sin embargo, la quitosana, como se mencionó anteriormente, es un derivado desacetilado de la quitina, el cual ha mostrado una potente actividad antimicrobiana, atribuida fundamentalmente a la carga positiva que adquieren sus grupos amino en disolución. Las membranas vegetales perciben la presencia de la quitina polimérica y sus derivados: Como respuesta se desencadena una cascada de reacciones enzimáticas que pueden conducir a una resistencia sistemática inducida en las plantas (Nakamatsu-Kuniyoshi, 2012).

También la quitina y sus derivados se han utilizado en la protección vegetal de enfermedades, antes y después de la cosecha, directa e indirectamente. La actividad biológica de la quitina y sus derivados en la protección de plantas contra hongos tiene dos mecanismos de acción fundamental. El primero, relacionado con la actividad antifúngica de estas moléculas, afecta el crecimiento y desarrollo del agente patógeno. Y el segundo, relacionado con la estimulación de mecanismos defensivos que inhiben o interfieren el desarrollo del agente patógeno, el cual evita o limita el progreso de la enfermedad (Martínez y col., 2011).

La aplicación de derivados de quitina, en especial la quitosana, confiere protección a los frutos frente a las enfermedades postcosecha. Para estos fines se han empleado fundamentalmente quitosana y otros derivados solubles que tienen propiedades antimicrobianas y la capacidad de formar películas semipermeables a los gases.

En general, la quitosana ha mostrado un comportamiento similar a los fungicidas químicos, por lo cual pudiera utilizarse en su lugar, con la ventaja de ser un producto totalmente biodegradable. La aplicación de estas variantes en la agricultura obedece a la reducción de los costos de producción de los derivados

de quitina y sus ventajas frente a los actuales productos fitosanitarios (Ramírez y col., 2010).

2.9 Metanol

El metanol (CH_3OH) también conocido como alcohol metílico o alcohol de madera, es considerado el alcohol más sencillo; es un alcohol alifático, líquido incoloro y volátil a temperatura ambiente. Por sí mismo es inofensivo, pero sus metabolitos son extremadamente tóxicos. Es empleado en la industria como componente de diversas sustancias de uso doméstico (anticongelante, disolvente y combustible).

La intoxicación por metanol es poco frecuente, pero de una gran morbimortalidad, su empleo dentro de la producción de bebidas alcohólicas adulteradas ha dado lugar a brotes de intoxicaciones agudas. La exposición al tóxico se da predominantemente por vía oral, aunque la absorción inhalada o transdérmica puede dar lugar a una intoxicación. La susceptibilidad a los efectos tóxicos del metanol es variable, pero la ingesta de una pequeña cantidad puede dar lugar a una intoxicación grave. Es rápidamente absorbido desde el tubo digestivo, dando picos plasmáticos a los 30-90 minutos. La vida media sérica oscila entre las 14 y 30 horas, se distribuye libremente y su volumen de distribución es de 0.6-0.7 L/kg, no se une a proteínas (Cameán y Repetto, 2014).

Los síntomas y signos de la intoxicación pueden tener diferentes repercusiones y agruparse en:

- a) Sistema Nervioso Central: en la intoxicación leve o moderada se produce cefalea, mareo, letargia, ataxia o un estado similar a la intoxicación etílica.
- b) Afectación ocular: se presenta pérdida súbita de la agudeza visual y edema de papila con ceguera irreversible por atrofia del nervio óptico.
- c) Gastrointestinales: el metanol es ligeramente irritante, lo que condiciona náuseas, vómitos y dolor abdominal.

Es debido a la toxicidad del metanol que es necesario conocer su nivel en los alimentos que se consumen. Se prefiere que este compuesto esté ausente en nuestra dieta. Sin embargo, son varios los estudios de toxicidad que se han desarrollado para determinar los niveles permisibles de este y otros compuestos

que pueden ser ingeridos por el consumidor y que no implicarán un daño a la salud. Uno de ellos es el llamado *NOAEL* (*No Observed Adverse Effect Level*), por sus siglas en inglés, para nivel sin efecto adverso observado.

2.9.1 *NOAEL*, *No Observed Adverse Effect Level* o Nivel sin efecto adverso observado

El *NOAEL* es el nivel sin efecto (adverso) observado o la dosis más alta que no produce un efecto tóxico en una persona. Un factor de seguridad es un número convencional, arbitrario, por el que se divide el *NOAEL* obtenido en experimentos con animales para establecer una dosis permisible provisional en los seres humanos (Silbergeld, 2013).

Es utilizado para sustancias que carecen de propiedades carcinogénicas y, por lo tanto, tienen un umbral. La evaluación de la relación dosis-respuesta consiste en describir las respuestas observadas con objeto de establecer, a través de estudios experimentales, un nivel o concentración de una sustancia en la cual no se observan efectos de ningún tipo.

Se calcula de manera experimental en ensayos realizados con animales. Se miden las respuestas tras ensayar varias dosis y se ajustan los datos obtenidos a una curva dosis-respuesta. El *NOAEL* es la dosis más alta que no produce efecto tóxico en la especie animal más sensible. Para establecer un *NOAEL* se necesitan dosis múltiples, una población amplia e información complementaria para garantizar que la ausencia de respuesta no es un mero fenómeno estadístico (Cameán y Repetto, 2014).

Es importante recordar que los umbrales *NOAEL* son valores que se determinan por medio de experimentos toxicológicos en animales y que, por lo tanto, dependen del diseño del estudio y de la selección del número y la concentración de las dosis administradas. De aquí se deriva la importancia de que la evidencia toxicológica se base en experimentos adecuados y científicamente rigurosos. Las dosis umbral *NOAEL* se obtiene de los estudios científicos disponibles que han sido clasificados como adecuados por un panel de expertos. Si existen varios estudios que presentan valores de *NOAEL* diferentes para un mismo efecto

causado por una misma sustancia tóxica, se selecciona normalmente el valor de *NOAEL* más bajo. Cuando no se puede establecer un *NOAEL*, entonces se utiliza el *LOAEL* (nivel mínimo con efecto adverso observable) más bajo (Cameán y Repetto, 2014).

Los estudios dosis-respuesta para compuestos tóxicos que no son cancerígenos buscan establecer puntos finales de toxicidad, como son el daño al hígado, a los riñones y a los sistemas respiratorio, cardiovascular, nervioso, reproductivo o inmune.

Para estos compuestos, la evidencia empírica indica que ocurren efectos biológicos solamente después de que se alcanza cierto grado de exposición. Así, la meta de la evaluación del riesgo para este tipo de compuestos es determinar cuál es el grado seguro de exposición para una población (caracterización del riesgo). Este umbral o grado de seguridad debe incluir a los individuos más sensibles de la población para asegurar que toda la población esté adecuadamente protegida aún cuando los niveles de exposición alcancen el umbral. Con frecuencia, este grado de seguridad que resulta de los estudios dosis-respuesta se ajusta con factores de seguridad para tomar en cuenta la incertidumbre en la evidencia toxicológica o epidemiológica (Cameán y Repetto, 2014).

En el ámbito de las sustancias no carcinógenas se introdujeron factores de seguridad para compensar las incertidumbres que presentaban los datos toxicológicos (*NOAEL*) y su aplicabilidad a poblaciones humanas grandes y heterogéneas. Un factor de seguridad es un número convencional, arbitrario, por el que se divide el *NOAEL* o *LOAEL* obtenidos en experimentos con animales para establecer una dosis permisible provisional en los seres humanos (Cameán y Repetto, 2014):

$$RfD \text{ ó } RfC = \frac{NOAEL (LOAEL)}{\text{Factores de seguridad}}$$

Dicho factor de seguridad, se determina a partir del producto de factores de incertidumbre (FI) y un factor modificador (FM). Por tanto:

Factores de Seguridad = FI x FM

Para el caso del metanol, su valor de *NOAEL* es de 500 mg/kg/día, donde los kg son la masa corporal del individuo que lo ingiere.

2.9.2 Pectinas y el metanol

La composición de las frutas es muy amplia y variada; hablando sobre su pared celular se encuentran los poliglúcidos individuales los cuales suponen un 90% de la pared celular. Los que más interesan para este estudio son los poliglúcidos pécticos. El incremento de solubilización se muestra a través del aumento de la capacidad de algunos poliglúcidos pécticos de ser extraídos mediante solventes acuosos. La solubilización de la pectina y la despolimerización de los polímeros de la pared celular durante la maduración han sido documentados en muchas frutas. La pectin metilesterasa cataliza la desesterificación de la pectina exponiendo sus grupos carboxílicos y liberando metanol. El grado de esterificación metílica influye en las propiedades físico-químicas de los polímeros pécticos, porque modifica la densidad de carga de la molécula y las propiedades de gelificación (Casp-Vanaclocha y Abril-Requena, 2003). Esto es importante porque hace que en las frutas ocurra la presencia de metanol de manera natural, lo cual se sumaría a la presencia de los residuos de metanol que no pudieran ser separados del biopolímero quitina-quitosana durante su solubilización a partir de los residuos de camarón, cefalotórax y exoesqueletos, coloquialmente conocidos como cabezas y cáscaras.

Aquí se verá si la fruta climatérica o la no climatérica producen mas metanol que, sumado, a los residuos potenciales del disolvente MAC-141®, resulten todavía inocuos.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA Y DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Diagrama de Flujo del Proceso Experimental.

A continuación se presente el diagrama de flujo del proceso experimental. En el Diagrama 3.1 se aprecia de manera general los pasos seguidos durante el desarrollo experimental de esta investigación

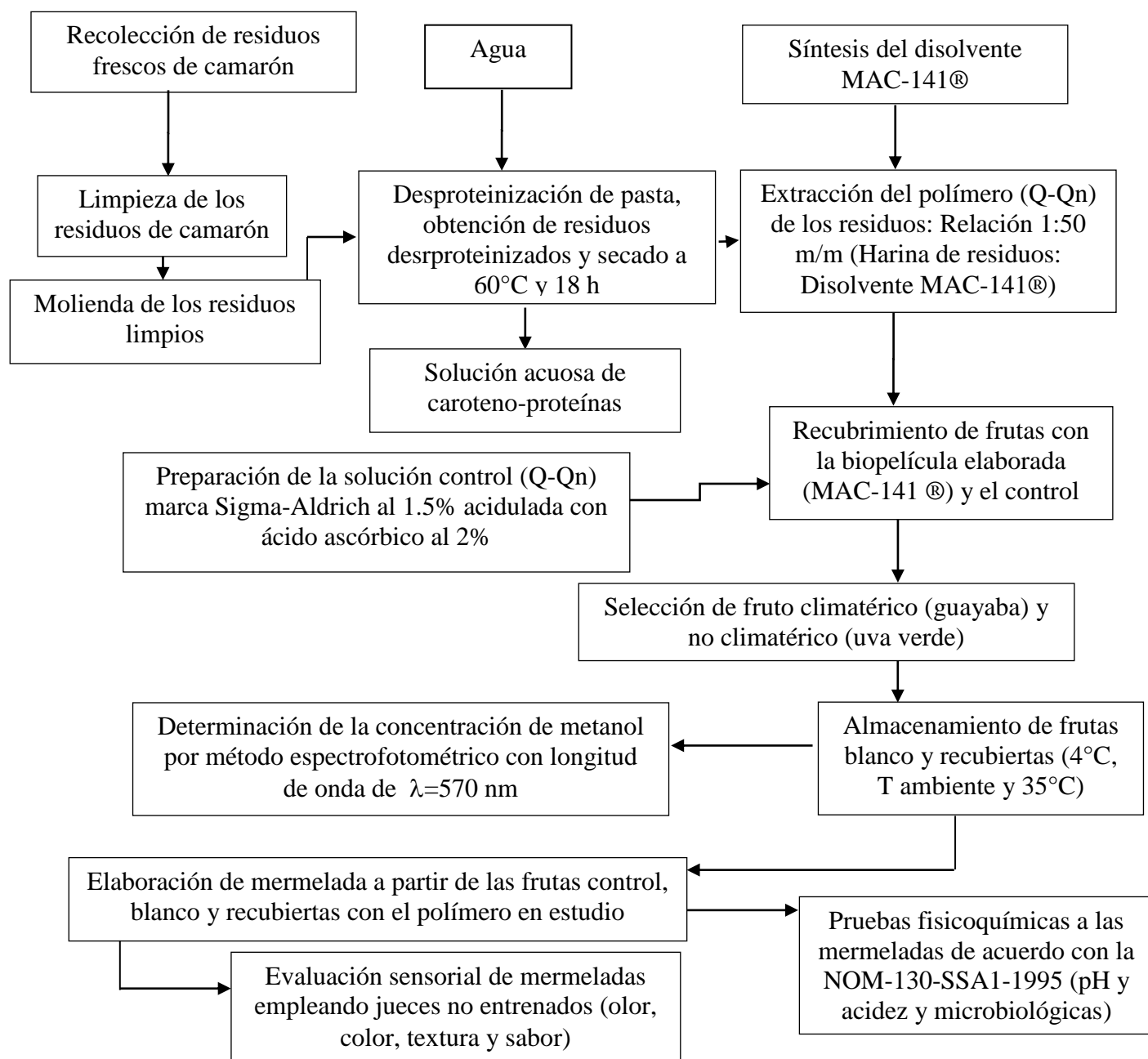


Diagrama 3.1. Diagrama de flujo del proceso experimental para el recubrimiento de guayabas y uvas verdes

3.1. Recolección de residuos de camarón, limpieza y secado. Obtención de cefalotórax y exoesqueletos limpios

Para llevar a cabo este experimento se compraron cabezas y exoesqueletos frescos de camarón, las cuales fueron adquiridas en el mercado de “La Nueva Viga” de la Central de Abastos de la Ciudad de México. Una vez obtenidas, fueron trasladadas a los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA) del Conjunto E de la Facultad de Química de la UNAM y con base en la metodología de Sarabia-Bañuelos (2011) fueron limpiados a chorro de agua. Una vez limpio los cefalotórax y los exoesqueletos siguiendo la metodología planteada por Enríquez y Nava (2016), donde se toma el escafocecrito y el diente dorsal del camarón y se tira sobre él, hasta lograr su desprendimiento; una vez más fueron limpiados con agua, tal como se muestra en las Figuras 3.1 y 3.2



Figura 3.1. Lavado de cefalotórax y exoesqueletos



Figura 3.2. Limpieza de cefalotórax y exoesqueletos

3.2 Desproteínización de la mezcla quitina-quitosana (Q-Qn) a partir de los residuos limpios de camarón

Para poder extraer el biopolímero quitina-quitosana primero se debe proceder a efectuar una desproteínización parcial del cefalotórax de acuerdo con lo planteado por Flores-Ortega (2008), quien menciona que parte de los componentes del cefalotórax y exoesqueletos de camarón como los componentes inorgánicos, proteínas, grasas o pigmentos, se eliminan al licuarse en una relación 1:2 en masa. Los residuos fueron triturados con ayuda de un molino eléctrico (Figura 3.3)

y con la relación de agua anteriormente descrita, fueron tamizados de 1 mm para usar el sobrenadante en otra fase de la investigación, obteniéndose una pasta húmeda (Figura 3.4) la cual es nombrada cefalotórax y exoesqueletos parcialmente desproteinizados (CPD). Esta pasta se dejó secar a 60°C durante 18h (Figura 3.5) quedando una harina de residuos de camarón, la cual una vez seca se licuó nuevamente a máxima velocidad durante 1 minuto para hacerla más fina, esta vez con ayuda de una licuadora casera marca Osterizer.



Figura 3.3. Molino eléctrico empleado



Figura 3.4. Pasta obtenida de residuos limpios de camarón ya desproteinizados parcialmente, CPD



Figura 3.5. Secado de la pasta (60°C, 18h)

3.3. Elaboración del disolvente MAC-141® (metanol, agua, cloruro de calcio)

Este disolvente se preparó con base en los estudios realizados por Flores-Ortega (2004, 2008) y Sarabia-Bañuelos (2011), en los cuales quedó demostrado que al mezclar metanol, agua y cloruro de calcio en una relación 1:4:1, se obtiene un disolvente eficaz para la extracción del biopolímero Quitina-Quitosa del cefalotórax de camarón. Su estudio se respalda con el hecho de que el calcio

rompe los puentes de hidrógeno de la quitina con lo que se conforma un complejo entre ésta y la sal de calcio, además de que las moléculas de metanol son capaces de redirigir las zonas hidrofóbicas del polisacárido lejos del disolvente (Flores-Ortega, 2008). El disolvente se encuentra patentado por la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y tiene el nombre de MAC-141® debido a su formulación Metanol, Agua y Cloruro de calcio y debido a la proporción de las mismas de forma molar (Tabla 3.1 con equivalentes en masa o volumen).

Tabla. 3.1. Cantidad de reactivos empleados para la elaboración del compuesto MAC-141®

Compuesto	Masa o volumen
Agua	99 mL
Metanol	180 mL
Cloruro de calcio	277.5 g

Para el caso del CaCl_2 , se utilizó el reactivo de la marca C-KO de la farmacéutica RACEL, debido a que el uso de distintas fuentes de cloruro de calcio modifica el tiempo en el que se llevará a cabo el reflujo del disolvente ya que no es un reactivo químicamente puro sino un producto comercial que tiene impurezas. Asimismo, se empleó agua destilada y metanol grado analítico. Para la elaboración del disolvente MAC-141®, se mezclaron los reactivos señalados en la Tabla 3.1 en las proporciones indicadas en un matraz bola de 500 mL en el siguiente orden establecido por Flores-Ortega, 2008.

- 1) Metanol
- 2) Agua
- 3) Cloruro de calcio (CaCl_2)

Lo anterior se hizo manteniendo el matraz bola en un baño de hielo y en la campana de extracción, para evitar la generación de reacciones exotérmicas violentas y debido a la volatilidad del metanol. Una vez efectuado esto, se montó el equipo de reflujo (Figura 3.6). Una vez ahí, el matraz permaneció durante 8 horas a una temperatura no mayor a 64°C para evitar la volatilización del metanol en el seno de la reacción.



Figura 3.6. Equipo de reflujo para la preparación del disolvente MAC-141®

Una vez pasado el tiempo establecido del reflujo, se dejó sedimentar el disolvente durante 48 horas y después se centrifugó por 15 minutos a 3600 revoluciones por minuto. El precipitado fue separado para otra investigación y el resto que contiene el biopolímero (quitina-quitosana) fue almacenado para su posterior utilización.

3.4. Extracción del polímero quitina-quitosana con ayuda del disolvente MAC-141®

Para poder extraer el polímero quitina-quitosana del residuo de camarón desproteínizado, la harina obtenida fue mezclada con el disolvente MAC-141® en una relación 1:50 (m/m) (Figura 3.7) (residuos de camarón parcialmente desproteínizados: MAC-141®). Esta proporción fue elegida debido a que, de todas las relaciones experimentales probadas, esta fue la que presentó una mejor apariencia y, en consecuencia, una mayor facilidad para recubrir las frutas. Una vez realizado esto, se dejó reposar durante 48h para dejar efectuar la reacción.

Finalizado este tiempo, la mezcla se filtró con ayuda de un matraz Kitasato (Figura 3.8), el filtrado fue recolectado en un frasco de vidrio y almacenado destapado en un desecador lleno con agua con el fin de obtener una completa solubilización del calcio presente en la biopelícula. Ahí permaneció durante 48h (Enríquez y Nava 2016).

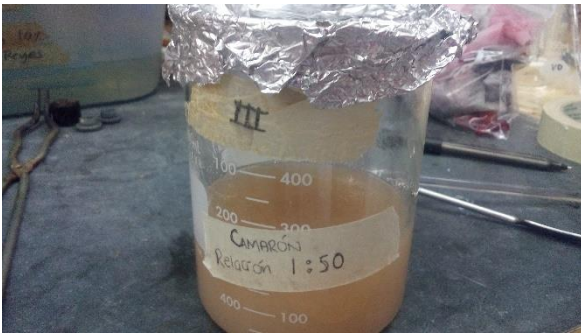


Figura 3.7. Mezcla de harina de cefalotórax con disolvente MAC-141®



Figura 3.8. Filtrado de la pasta

3.5. Preparación del disolvente control (quitosana marca Sigma-Aldrich, Qn-SA en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico al 1.5%)

Para esta investigación se preparó una solución que fue empleada para el recubrimiento control la cual fue quitosana marca Sigma-Aldrich (Q-SA). Para su elaboración se pesaron 1.5 gramos de quitosana comercial y se aforó en un matraz de 100 mL con agua destilada. Finalmente, se preparó una solución de ácido ascórbico al 2% y se mezclaron manualmente y en repetidas ocasiones ya que la consistencia de la misma era demasiado espesa y viscosa. La mezcla obtenida se almacenó en un frasco de vidrio y se guardó a temperatura ambiente para su posterior uso.

3.6. Selección de la fruta y su recubrimiento (blanco, MAC-141® y control); Almacenamiento a diferentes temperaturas

Para la realización de este trabajo se seleccionaron guayabas y uvas verdes, las cuales fueron adquiridas en mercados del sur de la Ciudad de México. Se intentó principalmente que todas las frutas escogidas presentaran la misma madurez y color al momento de ser recubiertas. Para cada fruta se identificaron tres lotes: blanco, es decir, sin ningún tipo de recubrimiento; control, es decir, recubrimiento con quitosana Sigma-Aldrich (Qa-SA) y MAC-141®, es decir, recubrimiento con quitina-quitosana biopolímero extraído de los residuos de camarón con ayuda del disolvente MAC-141®.

Cada uno de estos lotes fueron almacenados a tres distintas temperaturas: 4°C en un refrigerador doméstico, temperatura ambiente y en una incubadora marca ECOSHELL-9052 a 35°C (Figuras 3.9 a 3.12).



Figura 3.9. Almacenamiento de guayaba (temperatura ambiente)



Figura 3.10. Almacenamiento de guayaba en incubadora (Temperatura de 35°C)



Figura 3.11. Almacenamiento de uvas verdes y guayabas en refrigeración (Temperatura de 4°C)

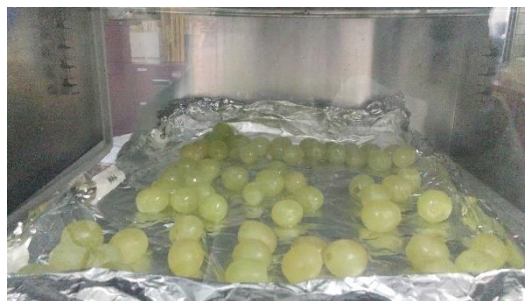


Figura 3.12. Almacenamiento de uva verde en incubadora (Temperatura de 35°C)

3.7. Determinación del metanol residual en las frutas recubiertas

Para la determinación del metanol residual en frutas recubiertas, se siguió la metodología descrita en la Norma NMX-V-005-NORMEX-2013 (Bebidas Alcohólicas: Determinación de aldehídos, ésteres, metanol y alcoholes) (DOF, 2013). El estudio se llevó a cabo durante 21 días determinándose la cantidad de metanol en las frutas cada tercer día.

Como primer paso se realizó lo siguiente:

1. Las uvas y guayabas se pesaron individualmente en una balanza analítica marca OHAUS modelo Analytical Plus 210. Posteriormente, fueron cortadas en pequeños pedazos menores de 50 g cada una para evitar proyecciones y se introdujeron en un matraz bola de 500 mL. Se agregaron en el matraz 100 mL de etanol al 5% lo más frío posible y se montó un equipo de destilación simple dentro de una campana de extracción junto con 3 perlitas de ebullición. Se dejó transcurrir el equipo durante 3-5 horas y se recolectó el destilado en frío con el objetivo de evitar lo más posible la volatilización de la muestra.
2. Del destilado se tomó una alícuota de 2 mL y se aforó en un matraz volumétrico de 25 mL. Posteriormente, se pasó la solución a un frasco gotero color ámbar y se guardó para su empleo posterior.
3. Para cada lote de fruta se realizaron los pasos 1 y 2, es decir a las frutas almacenadas a temperatura de 35°C, a temperatura ambiente, a temperatura de refrigeración, y a los de lote blanco (sin metanol).
4. Entre cada destilación se mantuvieron los frascos en frío y fue hasta que se tuvieron el total de todos los destilados que se prosiguió con la siguiente parte experimental.
5. Del total de los destilados, de cada frasco se tomaron 2 alícuotas de 5 mL cada una y se colocaron en un matraz aforado de 25 mL, para contar con un total de 8 matraces.
6. Se agregaron en cada matraz 2 mL de KMnO_4 / H_3PO_4 , se agitó y se les colocó un tapón con el objetivo de dejar reposar la solución durante 15 minutos.

7. Se agregaron 2 mL de ácido oxálico, se agitó y se dejó reposar la muestra durante 15 minutos más. Se aflojó el tapón para liberar el CO₂ y así evitar una proyección del mismo.
8. Se adicionó 1 mL de ácido cromotrópico a un solo matraz de cada par, en donde se sabía que correspondía a la muestra a la que se le determinaría el contenido de metanol, mientras que en el otro matraz fue agregado 1 mL de agua destilada con el objetivo de ajustar a cero en el espectrofotómetro.
9. Por último, antes de dar lectura en el espectrofotómetro se les agregaron a los matraces 5 mL de H₂SO₄ concentrado (el cual se encontraba frío y se agregó resbalando el ácido por las paredes del matraz para evitar accidentes) colocándose la disolución en vasos de vidrio de 100 mL en donde fueron calentados durante 10 minutos en un baño de agua a una T de 65°C/10 minutos.
10. Una vez fría la solución se tomó una fracción perfectamente homogénea y se colocó en una celda de vidrio para leerse en un espectrofotómetro UV-Vis modelo Cintra 410 a una longitud de onda de 570 nm. Se ajustó a cero con el blanco y se dio lectura por duplicado de la muestra. La metodología antes mencionada se repitió cada tercer día durante 21 días para cada fruta siendo en el orden de lunes a jueves para la uva y de martes a viernes para la guayaba. Este lapso máximo de 21 días se basó en estudios previos (Enríquez y Nava, 2016; Velázquez-Solís, 2013).

Una vez obtenidos estos valores se planteó una curva patrón para así obtener el valor del metanol en la fruta (Tabla 3.2) Debido a la metodología empleada, se requirió que las unidades utilizadas en la obtención de la concentración de metanol fuera de mg de metanol/g de fruta.

Tabla 3.2. Curva patrón elaborada para la determinación de metanol residual

Disolución patrón (mL)	Concentración de metanol (mg/mL)	Absorbancia $\lambda=570$ nm
0.0	0.0	0.0
0.30	0.012	0.117
0.50	0.02	0.210
0.80	0.032	0.297

Los valores de la regresión lineal fueron:

- R^2 = Coeficiente de correlación: 0.995979
- m= pendiente: 9.419117647
- b= ordenada al origen: 5.29411×10^{-3}

3.8. Elaboración de las mermeladas a partir de los distintos lotes de frutas (blanco, MAC-141® y control Qn-SA) y realización de pruebas fisicoquímicas (acidez, pH)

A partir de las frutas blanco (sin recubrimiento) y de las recubiertas con el disolvente MAC-141® y la solución quitina-quitosa de la marca Sigma-Aldrich al 1.5% acidulada con ácido ascórbico al 2%, se elaboraron seis mermeladas (Figura 3.13), tres por cada fruta (uva y guayaba) siendo 6 mermeladas en total. Para su elaboración, se siguió la metodología planteada en la Norma Mexicana NOM-130-SSA1-1995 (DOF, 1995) Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a un tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.



Figura 3.13. Elaboración de mermelada de guayaba

3.9. Pruebas microbiológicas realizadas a las mermeladas

Con base en lo establecido por la NOM-130-SSA1-1995 (DOF, 1995) Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias, se determinaron los microorganismos para alimentos con un $\text{pH} \leq 4,6$ que es el valor de la mermelada. Las determinaciones microbiológicas realizadas fueron las

determinaciones de mesófilos anaerobios, mesófilos aerobios, hongos y levaduras viables.

3.10. Evaluación sensorial por jueces no entrenados de las mermeladas elaboradas

Se realizó una evaluación sensorial con 96 jueces no entrenados en el vestíbulo del Edificio A de la Facultad de Química. Para esta evaluación se utilizó una escala hedónica de cinco puntos (Severiano y col., 2012), las cuales presentan algunos beneficios como la facilidad de uso, el poder discriminativo, la validez y la confiabilidad de las respuestas obtenidas, entre otros. El objetivo de esta evaluación fue saber si el recubrimiento utilizado en las frutas afectaba de alguna forma el sabor de las mismas incluyendo también la aceptación de la guayaba o la uva ante el consumidor. El cuestionario aplicado se muestra en el Anexo 9.

3.11. Análisis estadístico

Para esta parte del estudio se realizó un análisis de varianza multifactorial con nivel de significancia de 0.05. Los factores a evaluar en el caso de cada una de las mermeladas fue el tipo de recubrimiento de las mismas y las variables dependientes fueron el nivel de agrado de cada una de ellas considerando color, textura, olor y sabor.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en cada etapa del proceso experimental de esta investigación, así como la interpretación estadística de los resultados usando un nivel de confiabilidad del 95%.

4.1. Pasos previos para determinar metanol residual en uva verde y en guayabas

Para la determinación del metanol residual se siguió la metodología descrita en el Capítulo 3. Para ello se seleccionaron lotes de uva verde y lotes de guayaba, los cuales fueron adquiridos en un mercado ubicado al sur de la Ciudad de México. Se buscó que los lotes fueran lo más similares posibles, aunque esto fue difícil de determinar ya que quizá en apariencia eran similares, pero era muy probable que su estado de madurez fuera variable. Se establecieron tres lotes para cada una de las frutas, el primero fue el *lote blanco*, el cual no estaba recubierto con ningún tipo de biopolímero, después el *lote MAC-141®*, el cual fue el principal estudiado y finalmente el lote control, el cual estaba recubierto con la solución de quitosana de la marca Sigma-Aldrich al 1.5%. Una vez recubiertas las frutas fueron almacenadas a las temperaturas de 4°C, ambiente y 35°C, tanto para las uvas como para las guayabas debido a que la función principal del biopolímero Q-Qn obtenido a partir de los residuos y del disolvente MAC-141® es el de actuar como un conservador natural para las frutas por lo que se requería establecer a qué temperatura funcionaba mejor y en cuál temperatura la cantidad de metanol era menor de acuerdo con las condiciones de almacenamiento.

Los lotes de uvas almacenados a temperatura ambiente y a temperatura de 4°C lograron llegar al día 21 de almacenamiento, que fue el establecido para este estudio. En cambio, para el caso del lote almacenado a 35°C no fue el caso, ya que a partir del día 3 la uva comenzó a perder humedad rápidamente, perdiendo masa y siendo afectadas sus propiedades organolépticas como el color (Figura 4.1). Por tal motivo, al día 17 se detuvo el experimento ya que la uva tenía un aspecto oscuro y demasiado duro debido a la pérdida de humedad (Figura 4.1).

Por otra parte, se observó que a la temperatura de 4°C el biopolímero Q-Qn, obtenido a partir del uso del disolvente MAC-141® no se adhería adecuadamente a las paredes del fruto, es decir, se resbalaba en él, por lo tanto, no se observaba una buena interacción del disolvente con las frutas. Se observó que hubo una mejor interacción entre las frutas recubiertas que estuvieron almacenadas a temperatura ambiente.



Figura 4.1. Uva verde almacenada 35°C (día 3)

Para el caso de la guayaba se observó un comportamiento similar, los lotes almacenados a temperatura ambiente y a 4°C pudieron llegar hasta el día 21 de almacenamiento; en cambio, para la temperatura de 35°C al día 10, la guayaba perdió humedad volviéndose dura y seca, con un aspecto poco agradable para el consumidor (Figura 4.2).



Figura 4.2. Guayaba almacenada a 35°C (Día 10)

Para comenzar con la determinación del metanol en frutas, primero se pesó la fruta que sería analizada el día de estudio, tanto la uva como la guayaba, ya que se quería obtener el metanol en unidades de mg de metanol/g de fruta. Una vez registrada esta masa, se mezclaron estas frutas con 100 mL de una solución de

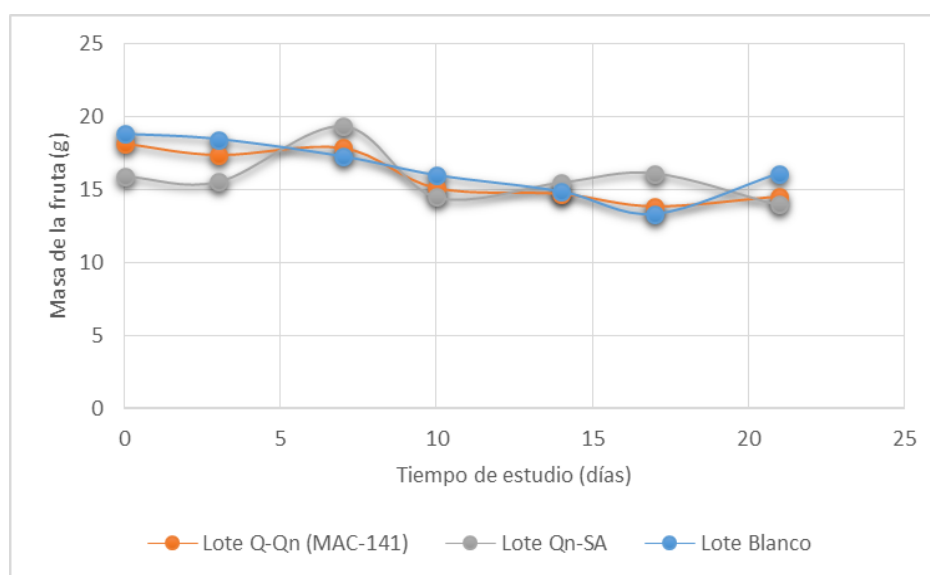
etanol al 5% previamente elaborada y almacenada a baja temperatura y se montó el equipo para destilación (Figura 4.3) cuidando que la temperatura no excediera los 80°C, ya que a esa temperatura se evapora el etanol. Para la lectura de absorbancia se utilizó un espectrofotómetro de la marca Rayleigh UV-1800 con el cual se hicieron las mediciones correspondientes a cada muestra. Se buscó tomar una muestra representativa de la fruta. Para ello se utilizaron dos guayabas y tres uvas para ser destiladas.



Figura 4.3. Equipo de destilación utilizado

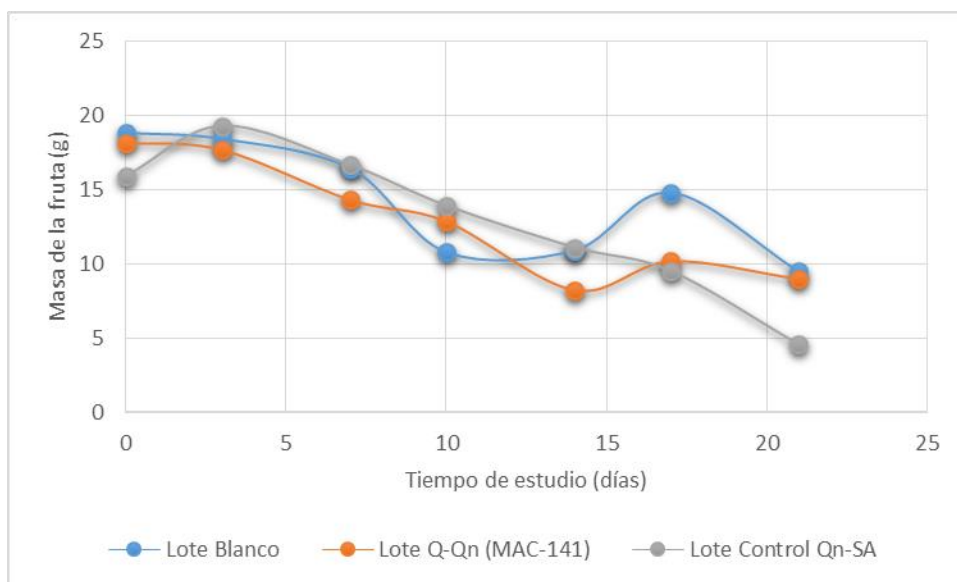
4.2. Metanol residual en los lotes de uva verde almacenados a distintas temperaturas

Las masas obtenidas de la uva recubierta y almacenada, se presentan en el Anexo 4 y la pérdida de la masa de cada una de las frutas se muestra en las Gráficas 4.1-4.3.

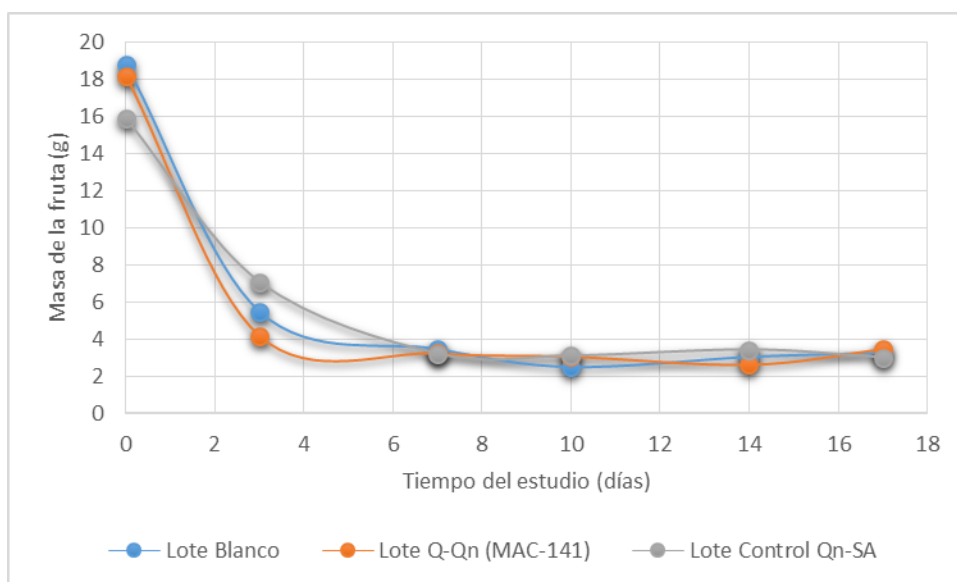


Gráfica 4.1. Cambios en la masa de uva almacenada a 4°C

Como se puede apreciar en la Gráfica 4.1, la diferencia entre las masas de la uva verde fue mínima, inclusive algunas mostraron mayor masa aun cuando el estudio ya estaba avanzado, demostrando que aunque se intentó que la fruta tuviera el mismo nivel de madurez, esto no siempre fue así.



Gráfica 4.2. Cambios en la masa de uvas almacenadas a temperatura ambiente



Gráfica 4.3 Cambios en la masa de uvas almacenadas a 35°C

La pérdida de masa en la uva fue más notoria en los lotes almacenados a temperatura ambiente y a 35°C como se muestra en las Gráficas 4.2 y 4.3 respectivamente. Para el caso de la temperatura ambiente, las variaciones de las masas fueron muy similares en los tres casos, siendo el Lote Control Qn-SA la que mayor masa perdió. La que mostro un valor más uniforme fue el Lote recubierto con Q-Qn extraídas con la ayuda del disolvente MAC-141® de los residuos.

Para la temperatura de 35°C desde el día 3 del estudio, la pérdida de masa debido a la pérdida de humedad fue muy notoria para los tres lotes, comenzando a ser similar a partir del día 10 del estudio, cabe mencionar que a partir de este día la uva verde se encontraba totalmente deshidratada y dura. Después de obtener el destilado, se tomaron 1.25 mL con base en la cantidad de destilado producido (ya que no se destilaban normalmente los 20 mL establecidos por la Norma NMX-V-005-NORMEX-2013) y por tal motivo los 1.25 mL tomados del destilado total, se aforaban a 25 mL para alcanzar la concentración del 5% establecido por la misma norma mexicana. Posteriormente, tras realizar la oxidación del metanol como se describió en el *Capítulo 3. Diseño de Experimentos y Metodología*, se determinó la absorbancia espectrofotométricamente de cada uno de los destilados obtenidos con su respectiva repetición. Cabe mencionar que la realización de la curva patrón fue para conocer la concentración de metanol.

Las absorbancias obtenidas para la uva verde en sus distintos lotes, se encuentran en el Anexo 6, en donde para obtener estos valores, se hicieron dos lecturas en el espectrofotómetro y se obtuvo un promedio para los mismos. Estos valores se muestran a continuación:

A partir de los valores de absorbancia descritos, se llevó a cabo el cálculo para determinar la cantidad de metanol de cada muestra. Esto se realizó empleando la curva patrón descrita en el Capítulo 3. Metodología y diseño de experimentos.

Para la obtención de la concentración total de metanol residual presente en las frutas, al etanol agregado a partir de la solución de etanol del 5% utilizada para disolver e integrar a las frutas de estudio, se le determinó la cantidad de metanol

presente; esto fue debido a que el metanol se encuentra presente en el etanol de manera natural y es posible que se pudiera encontrar en mayor o menor concentración, o incluso en ocasiones, en trazas. El metanol proviene de la hidrólisis de las pectinas (cadena de núcleos galacturónicos que se esterifica con el alcohol metílico) que se encuentra en la fruta de donde se destila el etanol que en este caso fue de caña de azúcar. La cantidad de metanol encontrada en el etanol empleado fue de 0.000127401 mg de MeOH/mL de EtOH, es decir una cantidad muy baja pero que se restó para que el valor final estuviera más cerca del real.

El ejemplo del cálculo para determinar el metanol se muestra a continuación:

Uva verde con recubrimiento Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®), almacenada a temperatura ambiente, día 7 del estudio.

Absorbancia obtenida: 0.021

Masa de la fruta: 14.34 g

Curva patrón:

$$m = 9.419117647$$

$$b = 5.29411 \times 10^{-3}$$

$$\text{Concentración} = \frac{(0.021) - (5.29 \times 10^{-3})}{9.4122} = \frac{1.669 \times 10^{-3} \text{ mg de MeOH}}{\text{mL}}$$

Concentración final

$$= \left(\frac{1.66 \times 10^{-3} \text{ mg de MeOH}}{1 \text{ mL}} \right) \left(\frac{25 \text{ mL de disolución 2}}{5 \text{ mL de disolución 1}} \right) \left(\frac{25 \text{ mL de disolución 1}}{1.25 \text{ mL de destilado}} \right) - \left(\frac{0.000127401 \text{ mg de MeOH}}{\text{mL}} \right) \left(\frac{100}{14.34 \text{ g de fruta}} \right) = \frac{1.615 \text{ mg de MeOH}}{\text{g de fruta}}$$

Como puede observarse en el cálculo anterior, para la uva verde almacenada a temperatura ambiente y recubierta con el biopolímero Q-Qn obtenida con ayuda del disolvente MAC-141® en el día 7 del estudio, se observa que la cantidad de metanol obtenida en la uva fue de 1.16 mg de metanol por gramo de fruta. Para todos los lotes de frutas almacenados a distintas temperaturas se hizo el mismo cálculo. Como se puede observar, el valor del metanol encontrado en el etanol de caña se restó. Los valores de las concentraciones de metanol residual en uva

verde, se muestran en la Tabla 4.1. Solamente se tomaron tres cifras significativas para el valor final.

Tabla 4.1 Concentración total de metanol en uvas almacenadas a diferentes temperaturas

Concentración de metanol de acuerdo con el lote (mg MeOH/g de fruta)	Tiempo de almacenamiento (días)	0	3	7	10	13	17	21
T= 4°C Lote blanco		0.24	(4.57)	0.50	0.54	0.83	0.97	0.95
T= 4°C Lote Q-Qn (MAC-141®)		0.80	0.83	(2.41)	0.75	1.46	1.47	1.44
T= 4°C Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		0.58	0.69	(0.15)	0.49	(0.12)	0.70	0.89
T= ambiente Lote blanco		0.24	0.69	(1.42)	1.10	(1.76)	1.02	1.30
T= ambiente Lote Q-Qn (MAC-141®)		0.80	1.24	(1.16)	1.79	(4.07)	1.79	1.44
T= ambiente Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		0.58	1.47	1.25	1.23	(0.83)	(0.97)	(2.13)
T= 35°C Lote blanco		0.24	(6.69)	3.86	(1.97)	5.25	(2.80)	ND
T= 35°C Lote Q-Qn (MAC-141®)		3.25	(9.65)	2.50	6.94	5.08	(1.27)	ND
T= 35°C Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		0.58	3.69	4.84	5.02	5.00	5.69	ND

ND: No se pudo llegar al día 21 ya que el deterioro era muy grande
Los valores en paréntesis se asocian a uvas con diferente grado de madurez

Como se puede apreciar con los resultados obtenidos, se muestran variaciones entre los días. En la Tabla 4.1, en el lote blanco, se observa que para el día 3, el valor fue mayor que para los días 7 al día 21. También en la misma tabla, pero para el caso del lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®) para el día 7 fue mayor a los anteriores. Esto puede explicarse tal vez debido a que a pesar de que se intentó que las frutas fueran similares en madurez, esto no se logró. A pesar de que la fruta pueda tener una apariencia similar, internamente la fruta puede tener una gran diferencia en su estado de madurez lo que afecta el resultado. Entre mayor fue el estado de madurez de la fruta utilizada en el día de estudio, mayor fue el valor de metanol encontrado en la misma.

Esto puede observarse en todos los lotes e independientemente del metanol agregado por el disolvente MAC-141®. Lo anterior ocurrió debido a que se llevó a cabo la hidrólisis de las pectinas (encontrada en las plantas y comercialmente obtenida de la cáscara de las frutas cítricas y de la pulpa). La hidrólisis del éster libera metanol y al ácido péctico, poco soluble). El contenido de metanol, por lo tanto, será proporcional al contenido de pectinas que tengan las frutas. Las pectinas se encuentran formadas fundamentalmente por largas cadenas formadas por unidades de ácido galacturónico, que puede encontrarse como tal: un ácido, con el grupo carboxilo libre o bien con el carboxilo esterificado por el metanol (metoxilado). En las frutas, la mayoría de los grupos ácidos del ácido galacturónico se encuentran esterificados por el metanol (Calvo, 2010).

Lo anterior indica que, en la mayoría de las frutas como en las cítricas (naranja, limones), uva, guayaba, manzana y también en los vegetales verdes siempre se encontrará cierta cantidad de metanol debido a las pectinas naturalmente presentes y que irán en aumento conforme la fruta vaya madurando. Sin embargo, esta cantidad no representa un riesgo para la salud del consumidor (Martínez y col., 2011).

También por esto, es que los valores más bajos de metanol los presenta la fruta almacenada a 4°C ya que la temperatura de almacenamiento retardó la madurez y pudrición de la fruta y los valores más altos se pueden encontrar en los lotes almacenados a 35°C donde el estado de madurez fue mayor, tanto, que incluso

no pudo completarse el estudio hasta el día 21. Es notorio que los lotes recubiertos con el biopolímero Q-Qn obtenido con ayuda del disolvente MAC-141® mostraron un nivel ligeramente mayor en comparación del lote blanco en algunos casos, pero no demasiado alto. En el único que pudo observarse una diferencia significativa fue en el lote que fue almacenado a 35°C donde en el día 3 se obtuvo un valor de 9.653 mg de MeOH/g de fruta. A pesar de tener estos valores, realmente aún no se puede todavía determinar si el consumo de estas frutas con este nivel de metanol ocasionaría toxicidad para el consumidor. Esto se verá en el párrafo siguiente.

Debido a que en la normativa nacional no existe un nivel de referencia en las unidades que se utilizan en este estudio (mg de metanol/g de fruta), se optó por utilizar un nivel de referencia toxicológico para el metanol ya que es una sustancia que carece de propiedades carcinogénicas. El parámetro seleccionado fue el *NOAEL* (*No Observed Adverse Effect Level*, por sus siglas en inglés), que es el nivel sin efecto (adverso) observado o la dosis más alta que no produce un efecto tóxico en una persona. Un factor de seguridad es un número convencional, arbitrario, por el que se seleccionó el *NOAEL* obtenido en experimentos con animales para establecer una dosis permisible provisional en los seres humanos (Silbergeld, 2013).

Con estos dos valores, se determinó una dosis de referencia, la cual ayudó a conocer, la cantidad de fruta recubierta que podría ser ingerida sin causar algún daño a la salud. El factor de seguridad para el metanol se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Dosis recomendada} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{FS}} = \frac{500 \text{ mg MeOH}}{100 \text{ kg p.c.día}} = \frac{5 \text{ mg MeOH}}{\text{kg p.c.día}}$$

donde:

FS = (*variables intraespecie*) (*variables interespecie*)

Variables intraespecie = 10

Variables interespecie = 10

FS = (10) (10) = 100

Por tanto, el valor de *NOAEL* para el metanol fue de 5 mg de MeOH/kg masa corporal al día. Con el valor de *NOAEL* y con las concentraciones descritas en la Tabla 4.1 se determinó la cantidad de fruta que podría ser consumida por persona. El cálculo se hizo obteniendo el promedio de cada lote (Tabla 4.2) y con este valor se determinó la cantidad. Además, como se puede notar, el *NOAEL* varía de acuerdo con la masa corporal del consumidor. Por lo tanto, se seleccionó considerando una masa corporal común de un hombre saludable, de 75 kg.

Tabla 4.2. Promedio de la concentración de metanol en los lotes de uva

Muestra	Lote blanco	Lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®, el metanol proveniente del disolvente obtenido de la diferencia con el valor del lote blanco)	Lote control quitosana (Marca Sigma-Aldrich)
Promedio de la concentración de metanol en frutas (mg MeOH/g de fruta)	4°C		
	1.2285	0.0799	-0.7114
	Temperatura ambiente		
	1.0746	0.6808	0.1342
	35°C		
	3.4674	1.3157	0.6695

El cálculo utilizado para determinar la cantidad que no mostrará efecto adverso, se muestra a continuación:

Uva verde con recubrimiento Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®), almacenada a temperatura ambiente.

$$\left(\frac{1 \text{ g de fruta}}{1.7554 \text{ mg de MeOH}} \right) \left(\frac{5 \text{ mg de MeOH}}{\text{kgpc. día}} \right) (75 \text{ kg p. c}) = 213.63 \text{ g de fruta}$$

Los valores de la cantidad de fruta aceptable para ingerirse sin daño para un consumidor de 75 kg por día, se muestran en la Tabla 4.3. Las cantidades obtenidas para poder ser consumidas son aceptables, aunque esta cantidad

variará de acuerdo con la masa corporal del consumidor. Se observa que la cantidad más alta es para el caso del lote recubierto con el biopolímero control de quitosana de la marca Sigma-Aldrich almacenado a 4°C. Esto se debe a que, al ser una biopelícula, la cual no se obtiene a base de metanol, contiene únicamente el metanol generado por el estado de madurez de la fruta además de que la temperatura ayudó a retrasar la misma. En cambio, la fruta con una cantidad menor fue la almacenada a 35°C debido al avanzado estado de madurez de la fruta, por lo que puede mencionarse que es difícil que la uva sea almacenada a esta temperatura. Únicamente se tendrían estos resultados para sustentar la recomendación de que no debe almacenarse a esa temperatura la fruta. Como se aprecia, el disolvente MAC-141® sí aporta metanol a la fruta; sin embargo, no muestra un daño significativo aunque sus valores son menores que los otros dos lotes.

Tabla 4.3. Cantidad de metanol encontrado en la masa de uvas aceptable para consumo

Muestra	Lote blanco	Lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC- 141®)	Lote control quitosana (Marca Sigma-Aldrich)
Gramos de fruta aceptables para consumo humano (g) de una persona cuya masa corporal es de 75 kg	4°C		
	305.25	286.60	725.20
	Temperatura ambiente		
	348.97	213.63	310.23
	35°C		
	108.16	78.42	90.64

4.3. Metanol residual en lotes de guayaba almacenados a distintas temperaturas

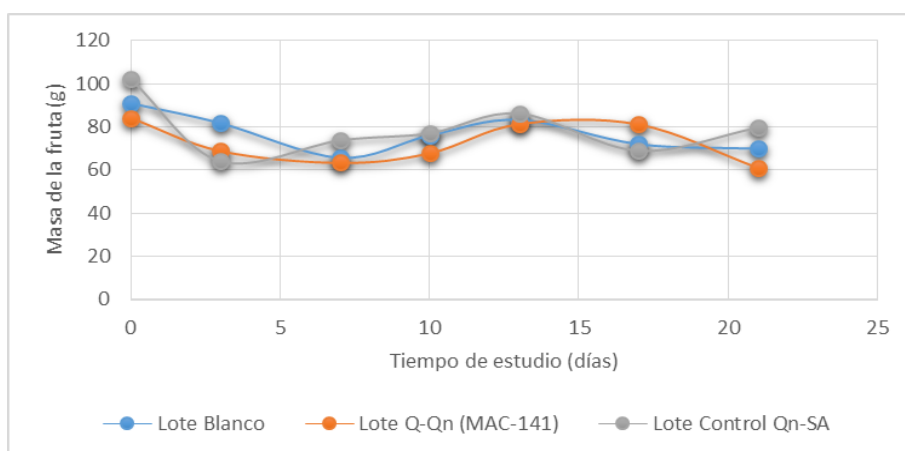
Al igual que como con la uva, para la guayaba se realizó el mismo tratamiento para la obtención de la concentración de metanol residual. Las masas obtenidas

de la guayaba se muestran en el Anexo 5. Cabe mencionar que, como se dijo en la metodología, para la determinación de metanol en la guayaba se tomaron dos guayabas por día para realizarles la destilación, es decir, se tomaron dos guayabas de cada uno de los lotes almacenados a distintas temperaturas (4°C, temperatura ambiente y 35°C) y se mezclaron con 100 mL de etanol de caña de azúcar y se destiló. Cada destilado fue recibido en una cama de hielo y almacenado en frascos color ámbar (Figura 4.4) a baja temperatura hasta que se realizó la lectura en el espectrofotómetro. Todo este procedimiento también fue hecho en la uva.



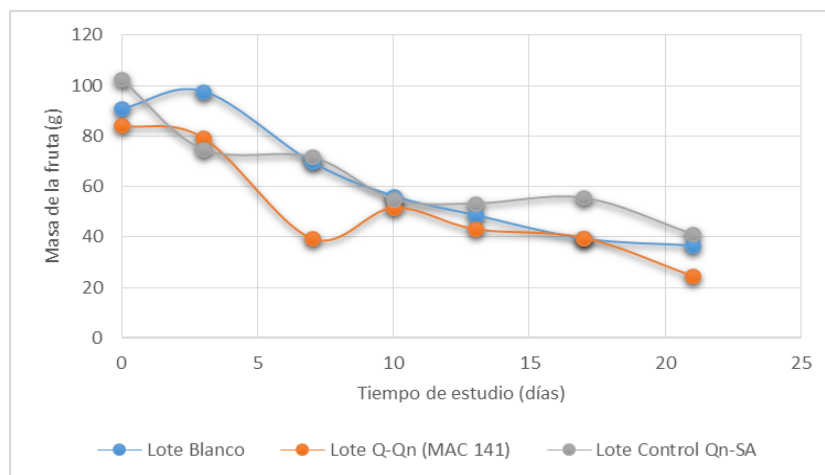
Figura 4.4. Frascos color ámbar utilizados

Las diferencias en las masas de las guayabas empleadas para esta experimentación, se muestran en las Gráficas 4.4 a 4.6.

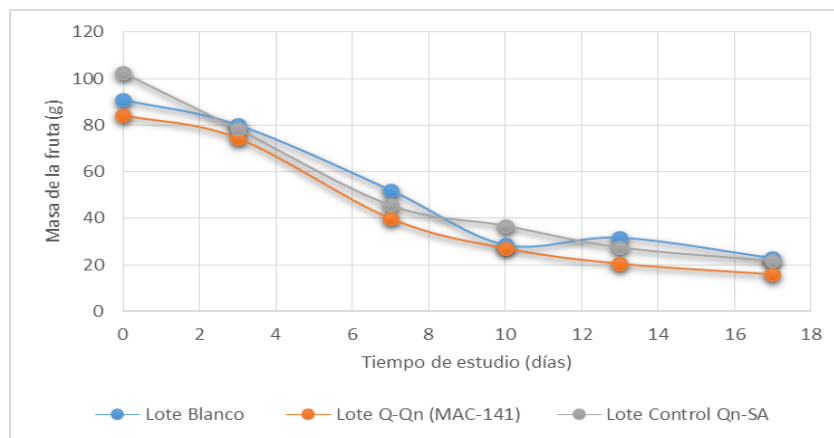


Gráfica 4.4. Cambios en la masa de guayaba almacenada a 4°C

Como se observa en la Gráfica 4.4, las variaciones de la masa fueron importantes, es decir, algunos días fue más alta y otras más baja independientemente de los días de almacenamiento de la fruta (debido probablemente al tamaño de la fruta, que no se midió, un hallazgo que deberá ser considerado en experimentos futuros). Por ejemplo, para el caso del lote control, al día 3 la masa disminuyó mientras que para el día 7, esta fue nuevamente mayor. Para los tres lotes manejados pudo apreciarse este comportamiento, que incluso fue percibido como un cambio muy lento. Por otro lado, la pérdida de masa fue baja debido a que la temperatura en la que se encontraron almacenadas ayudó a retrasar su senescencia o envejecimiento.



Gráfica 4.5. Cambios en las masas de guayaba almacenada a temperatura ambiente



Gráfica 4.6. Cambios en la masa de guayabas almacenadas a 35°C

Para los lotes almacenados a temperatura ambiente (Gráfica 4.5) se comienza a apreciar una pérdida de masa más significativa en comparación con la Gráfica 4.4, aunque hubo distorsiones importantes. En la Gráfica 4.6 se observó una diferencia mayor puesto que son los datos de los lotes almacenados a 35°C. La pérdida de humedad que presentaron las guayabas almacenadas fue tan alta que el estudio debió interrumpirse en el día 17, ya que las guayabas estaban demasiado duras y secas para la prueba con etanol (Figura 4.5).



Figura 4.5. Deterioro presentado en la guayaba almacenada a 35°C

Después del tratamiento realizado a las guayabas descrito anteriormente para oxidar al metanol presente, se obtuvieron las absorbancias. Estos datos se encuentran en el Anexo 7. Fue a partir de estos que se realizó el cálculo como se muestra en el siguiente ejemplo.

Guayaba con recubrimiento Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®), almacenada a temperatura ambiente, día 7 del estudio.

Absorbancia obtenida: 0.038

Masa de la fruta: 39.409g

Curva patrón:

$$m = 9.419117647$$

$$b = 5.29411 \times 10^{-3}$$

$$\begin{aligned} \text{Concentración} &= \frac{(0.038) - (5.29 \times 10^{-3})}{9.4122} = \frac{3.475 \times 10^{-3} \text{ mg de MeOH}}{\text{mL}} \\ \text{Concentración final} &= \left(\frac{3.475 \times 10^{-3} \text{ mg de MeOH}}{1 \text{ mL}} \right) \left(\frac{25 \text{ mL de disolución 2}}{5 \text{ mL de disolución 1}} \right) \left(\frac{25 \text{ mL de disolución 1}}{1.25 \text{ mL de destilado}} \right) \\ &- \left(\frac{0.000127401 \text{ mg de MeOH}}{\text{mL}} \right) \left(\frac{100}{39.409 \text{ g de fruta}} \right) = \frac{0.8806 \text{ mg de MeOH}}{\text{g de fruta}} \end{aligned}$$

Para cada uno de los lotes de guayaba se realizó el mismo cálculo. Para el ejemplo, se tomó a la guayaba con recubrimiento Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®), en el día 7 del estudio. Los valores de las concentraciones de metanol residual en guayaba, se muestran a continuación en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4 Concentración total de metanol en guayabas almacenadas a diferentes temperaturas

Concentración de Metanol de acuerdo al lote (mg MeOH/g de fruta)	Tiempo de almacenamiento (días)	0	3	7	10	13	17	21
T= 4°C Lote blanco		(0.16)	(0.26)	0.04	0.03	0.03	(0.29)	0.11
T= 4°C Lote Q-Qn (MAC-141®)		(0.70)	0.33	0.45	0.69	(0.17)	0.47	1.16
T= 4°C Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		(0.33)	0.21	0.27	(0.16)	(0.17)	0.20	0.25
T= ambiente Lote blanco		0.16	0.42	0.32	0.47	1.20	1.33	(0.98)
T= ambiente Lote Q-Qn (MAC-141®)		0.70	0.84	0.88	(0.44)	1.14	(0.41)	(0.81)
T= ambiente Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		0.33	0.30	0.42	0.32	0.28	(0.16)	0.66
T= 35°C Lote blanco		0.16	0.40	0.46	(2.17)	0.99	(0.10)	ND
T= 35°C Lote Q-Qn (MAC-141®)		(0.70)	0.54	(0.20)	0.79	0.66	(0.28)	ND
T= 35°C Lote control quitosana (Sigma Aldrich)		0.33	(0.18)	0.30	0.87	0.65	(0.11)	ND

ND: No se pudo llegar al día 21 ya que el deterioro era muy grande

Los valores en paréntesis se asocian a guayabas con diferente grado de madurez y tal vez con pérdidas por evaporación del metanol especialmente a la temperatura de 35°C

Como puede observarse en la tabla anterior, hubieron variaciones en las concentraciones. Sin embargo, no fueron tan pronunciadas como en el caso de las uvas. Es notorio que la madurez en las frutas empleadas no fue similar entre ellas (climática *versus* no climática), lo que afectó la cantidad de metanol

presente. Por otro lado, haciendo una comparación entre la guayaba y la uva verde, la concentración de metanol calculado en la uva fue mayor que el de la guayaba. Esto fue algo esperado, debido a las pectinas presentes en sus células. Como se mencionó anteriormente, las sustancias pécticas (pectinas) constituyen un grupo de poliglúcidos, que tienen como monoglúcido, principal al ácido galacturónico. Se pueden dividir en tres tipos distintos: homogalacturonanas, ramnogalacturonana I (RGI) y ramnogalacturonana II (RGII), siendo las primeras de ellas las importantes para esta investigación, debido a que en las homogalacturonanas una proporción variable de ácido galacturónico es esterificado por el metanol. En la uva, el grado de esterificación es del orden de 70-80%, es decir, muy alto (Blouin y Guimbertear, 2002).

A partir de estos valores se obtuvo un promedio y con la ayuda del nivel sin efecto adverso observable (*NOAEL*) anteriormente descrito. Se determinó la cantidad de guayaba recubierta con los distintos biopolímeros que puede ser ingerida sin causar algún tipo de daño a quien lo consumiría. En este ejemplo se utilizó también el ejemplo de una persona con una masa corporal de 75 kg.

La importancia de conocer el nivel de metanol presente en las frutas, agregado por el disolvente MAC-141©, radica en lo siguiente:

Al metanol también se le conoce como alcohol metílico o de madera; es un disolvente de uso frecuente en la industria química en la fabricación de anticongelantes, lacas, pinturas, barnices y removedores de pintura, entre otras aplicaciones. La intoxicación con esta sustancia ocurre debido a que se absorbe con facilidad en el tracto digestivo de los que lo consumen. La mayor parte del metanol circula en el plasma. Se excreta principalmente gracias al riñón y al pulmón. El 90% restante es metabolizado en el hígado, primero pasa a formaldehído y, posteriormente, a ácido fórmico, debido a la acción de las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa para, finalmente, ser eliminado por vía renal. El metanol se metaboliza de manera lenta e incompleta y, por lo tanto, se acumula fácilmente y sus efectos son más prolongados. Sus efectos se deben a los productos de su oxidación: formaldehído y formiato, que pueden ocasionar no solamente una grave acidosis sino, además, inducir una

grave lesión retiniana e incluso producir ceguera permanente debido a que el formaldehído es un potente inhibidor del proceso aerobio y anaerobio del metabolismo de la glucosa de la retina (Pérez-Saucedo, 2017).

Tabla 4.5 Promedio de la concentración de metanol en lotes de guayaba

Muestra	Lote blanco	Lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®, el metanol proveniente del disolvente obtenido de la diferencia con el valor del lote blanco)	Lote quitosana (Marca Sigma-Aldrich)
Promedio de la concentración de metanol en frutas (mg MeOH/g de fruta)	4°C		
	0.1299	0.4336	0.0978
	Temperatura ambiente		
	0.6950	0.0496	-0.3408
	35°C		
	0.7145	-0.1843	-0.3092

El cálculo utilizado para determinar la cantidad que no mostrara algún efecto adverso, se muestra a continuación:

Guayaba con recubrimiento Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®), almacenada a temperatura ambiente.

$$\left(\frac{1 \text{ g de fruta}}{0.7446 \text{ mg de MeOH}} \right) \left(\frac{5 \text{ mg de MeOH}}{\text{kgpc. día}} \right) (75 \text{ kg p. c}) = 503.62 \text{ g de fruta}$$

Los valores de la cantidad de fruta aceptable para ingerirse sin daño para un consumidor de 75 kg por día, se muestran en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6. Cantidad de guayaba aceptable para consumo

Muestra	Lote blanco	Lote Q-Qn (obtenido con ayuda del disolvente MAC- 141®)	Lote quitosana (Marca Sigma- Aldrich)
Gramos de fruta aceptables para consumo humano (g)	4°C		
	2886.83	665.48	1646.90
	Temperatura ambiente		
	539.57	503.62	1058.72
	35°C		
	524.84	707.28	925.24

Fue en el caso de la guayaba donde pudo apreciarse un comportamiento más “normal” ya que, en primer lugar, las cantidades de fruta para consumo fueron aceptables para que una persona las consuma y, en segundo lugar, en comparación con las uvas, la guayaba no presentó un alto nivel de esterificación y, por lo tanto, el metanol que produjo de manera natural no fue tan alto.

De nuevo, el lote que presentó una mayor cantidad de metanol fue el recubierto con el biopolímero Q-Qn obtenido con ayuda del disolvente MAC-141®. Hasta cierto punto es algo entendible, ya que realmente se agregaron cantidades de metanol que la fruta absorbió. Sin embargo, la cantidad presente en la fruta no afecta realmente a la persona que la consume y se puede consumir una cantidad aceptable de fruta sin ningún tipo de riesgo.

Los valores más altos para consumir fruta fueron los del lote con quitosana de la marca Sigma-Aldrich, lo cual indica lo funcionales que pueden ser las biopelículas como un tipo de protección a los productos a los que se aplican ante microorganismos que los deterioran, ayudando a retrasar el envejecimiento de las frutas. Este hallazgo, con una fruta climatérica, como son la mayoría de las frutas cultivadas en México resulta interesante para tratar de eliminar la mayor cantidad posible del metanol o, en su defecto, como indicó Flores-Ortega (2004), quien desarrolló este procedimiento, podría usarse etanol y, con ello, aunque el rendimiento es ligeramente menor, la seguridad y la cantidad de fruta que puede

ingerirse es mayor. También se observó que entre más inmadura se encontraba la fruta, menor era la cantidad de metanol presente en la misma. Además, la temperatura que presentó una mejor interacción entre la fruta y el biopolímero fue la temperatura ambiente.

4.4. Elaboración de mermeladas a partir de los distintos lotes de frutas empleados

A partir de los lotes empleados en este estudio, se elaboraron mermeladas con el propósito de identificar si el biopolímero Q-Qn elaborado en este trabajo experimental afectaba de alguna manera organoléptica al producto elaborado. Como se sabe, la percepción del sabor, aroma y textura que se produce al ingerir un alimento, es la evaluación final en donde se confirman las sensaciones percibidas al momento de la compra. Por tal razón es importante conocer, si es que en algún momento el biopolímero empleado se comercializará para ser utilizado como un conservador natural en frutas y hortalizas, si éste afectará las propiedades organolépticas del producto elaborado a partir de las mismas. Por ello, se elaboraron seis mermeladas, tres de uva y tres de guayaba: lote blanco, lote Qn-Qn obtenido con ayuda del disolvente MAC-141[®] y el lote control quitosana marca Sigma-Aldich para cada una de las frutas. Se utilizó la metodología descrita por la NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicio. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias (DOF, 1995), la cual es aplicada a alimentos ácidos, poco ácidos-acidificados y a los alimentos elaborados con base en las frutas. La norma establece que la mermelada debe tener un $\text{pH} \leq 4.6$.

Ambas frutas se dividieron en los tres lotes anteriormente descritos, y fueron recubiertos con los biopolímeros: el del estudio y el control, dejándose interactuar al disolvente con las frutas; al día siguiente las mermeladas fueron elaboradas. Una vez elaboradas las 6 mermeladas, fueron colocadas en frascos de vidrio previamente esterilizados y fueron cerrados herméticamente para su posterior uso.

4.4.1. Elaboración de las mermeladas para los lotes de guayaba

Para la elaboración de mermelada empleando los lotes de guayaba, primero se realizaron pruebas a la fruta, se determinaron sus propiedades fisicoquímicas para así poder emplear la formulación más precisa. Para la obtención de estos valores, se pesaron aproximadamente 5g de la fruta, se disolvieron en 25mL de agua destilada para posteriormente determinarse su acidez utilizando NaOH como titulante y a la fenolftaleína como indicador. La determinación se realizó por duplicado. Los resultados se muestran en la Tabla 4.7. También se utilizó un potenciómetro y un refractómetro para la determinación de pH y °Bx.

Tabla 4.7 Caracterización de lotes de guayaba

Guayaba lote blanco		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.123	1	5.737
5.152	0.9	5.710
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.113	2.1	4.605
5.241	1.1	4.970
Guayaba lote control Qn (Sigma-Aldrich)		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.062	1	5.369
5.230	0.8	5.759

Con estos valores se obtuvo un promedio, con el cual se hizo el cálculo para obtener la acidez presente en la guayaba. El ejemplo del cálculo, se muestra a continuación:

Lote blanco guayaba

$$\left(\frac{0.9 \text{ mL NaOH}}{5.1525 \text{ g guayaba}} \right) \left(\frac{0.099 \text{ eq NaOH}}{1000 \text{ mL NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol NaOH}}{1 \text{ eq NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol ác. cítrico}}{1 \text{ mol NaOH}} \right) \left(\frac{192.12 \text{ g ác. cítrico}}{1 \text{ mol ác. cítrico}} \right) (100)$$

= 0.33% de acidez expresado como ácido cítrico

Los resultados obtenidos para cada uno de los lotes se muestran en la Tabla 4.8.

Tabla 4.8 Valores fisicoquímicos encontrados en guayaba

Lote blanco		Lote Q-Qn (MAC-141®)		Lote control Qn-SA	
Determinación	Valor	Determinación	Valor	Determinación	Valor
pH	5.66	pH	4.7875	pH	5.564
Acidez (ácido cítrico)	0.35%	Acidez (ácido cítrico)	0.58%	Acidez (ácido cítrico)	0.33%
°Bx	20°	°Bx	25	°Bx	28

La norma establece que el nivel mínimo de acidez para una mermelada es de 0.33%. De acuerdo con estos valores a ninguno de los lotes se le agregó ácido cítrico a la formulación ya que esto impactaría en el sabor del producto afectando la aceptación del mismo y también afectaría la inocuidad del producto.

Asimismo, se utilizó 1 kg de fruta para elaborar las mermeladas de cada lote. La relación de fruta y azúcar fue del 55:45.

Por lo tanto, realizando este cálculo se agregaron 818.18 g de azúcar y 1 g de pectina para la elaboración.

4.4.2. Elaboración de mermeladas para los lotes de uva verde

Para la elaboración de la mermelada se emplearon lotes de uva verde. Al igual que con la guayaba, se caracterizó a la fruta.

Para la obtención de estos valores, se pesaron aproximadamente 5g de la fruta, se disolvieron en 25mL de agua destilada, se le agregó de indicador la fenolftaleína y se tituló con NaOH. La determinación se realizó por duplicado.

Los resultados se muestran en la Tabla 4.9.

Con estos valores se obtuvo un promedio y se calculó la acidez presente en la uva. El cálculo fue el mismo que para la guayaba, anteriormente descrito.

Los resultados obtenidos para cada uno de los lotes se muestran en la Tabla 4.10.

Tabla 4.9. Caracterización de los lotes de uva verde

Uva verde lote blanco		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.2442	2.6	4.898
5.0790	1.2	5.607
Uva verde lote Q-Qn (MAC-141®)		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.3336	5.1	3.872
5.3217	4.2	4.235
Uva lote control Q-Qn (Sigma-Aldrich)		
Masa	Volumen NaOH (mL)	pH
5.3048	3	4.078
5.0867	3.1	4.215

Tabla 4.10. Valores fisicoquímicos encontrados en uva verde

Lote blanco		Lote Q-Qn (MAC-141®)		Lote control Qn-SA	
Determinación	Valor	Determinación	Valor	Determinación	Valor
pH	5.302	pH	4.053	pH	4.146
Acidez (ácido cítrico)	0.6961%	Acidez (ácido cítrico)	1.65%	Acidez (ácido cítrico)	1.11%
°Bx	15°	°Bx	15	°Bx	18

Como se puede observar en la Tabla 4.10, la acidez presentada por las uvas verdes empleadas para la elaboración de las mermeladas fue muy alta, por lo cual no se agregó ácido cítrico a la formulación. De igual forma el sabor de la uva era muy tenue y se perdía al momento de agregar el azúcar. Por lo tanto, se disminuyó la cantidad de esta en todas las formulaciones, empleándose una relación fruta:azúcar de 65 y 35%, respectivamente. Por tal motivo, se aumentó la cantidad de pectina para su elaboración, siendo finalmente del 2%. La cantidad de fruta empleada fue de 1 kg.

4.5. Pruebas microbiológicas realizadas a las mermeladas

Una vez elaboradas y cerradas herméticamente las mermeladas y siguiendo la metodología descrita en la NOM-130-SSA-1995 (DOF, 1995), se realizaron pruebas microbiológicas para determinar los niveles de microorganismos que pueden estar presentes debido a su naturaleza y a los ingredientes que conforman a las mermeladas, mismos que se expresan en la Tabla 4.11.

Tabla 4.11. Microorganismos presentes en las mermeladas (DOF, 1995)

MICROORGANISMO	LIMITE UFC/g
Mesofilos aerobios	50
Coliformes totales	Menos de 10
Mohos y levaduras	Menos de 10

Debido a que las mermeladas estuvieron cerradas herméticamente, esto impidió el paso de los microorganismos. Además, presentaron todas las mermeladas un pH bajo (<4.6) y gracias a su contenido de carbohidratos se minimizó la posibilidad de que los microorganismos crecieran o proliferaran en la matriz alimentaria impidiendo su reproducción. De acuerdo con lo establecido en la NOM-130-SSA1-1995 (DOF, 1995), se prepararon los medios de cultivo para cada microorganismo a evaluar (mohos y levaduras, microorganismos coliformes totales y microorganismos mesófilos aerobios). Las características de cada uno de estos medios de cultivo se encuentran en el Anexo 3.

Para el caso de mohos y levaduras, se sabe que se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente. Debido a su desarrollo lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en alimentos donde el desarrollo bacteriano es menos favorable.

Los hongos y levaduras pueden utilizar ciertos sustratos como pectinas, carbohidratos como poliglúcidos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos. Es bien sabido, que en alimentos ácidos y en los de baja actividad de agua, los hongos filamentosos y las levaduras se desarrollan con mayor rapidez que las bacterias provocando importantes pérdidas (Frazier y Westhoff, 1994).

Las levaduras proliferan más rápidamente que los hongos filamentosos pero, con frecuencia, junto a ellos. También pueden causar problemas a través de: (a) síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas), (b) resistencia al calor, congelamiento, antibióticos o irradiación y (c) habilidad para alterar sustratos no favorables permitiendo el desarrollo de bacterias patógenas. Pueden también causar malos olores y sabores y la decoloración de las superficies de alimentos. Por ello, este tipo de microorganismos podrían ser un problema potencial para la mermelada producida en esta investigación.

Hablando de los microorganismos mesófilos, al determinarlos implica conocer la calidad sanitaria del alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima, etc. (Beuchat y Cousin, 2001). Los microorganismos coliformes son considerados un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de sanitización y desinfección, así como la calidad del agua utilizada y de la fruta (Stevens y col., 2003). Por tanto, si hubiese presencia de alguno de estos dos microorganismos en las mermeladas, indicaría que el proceso de elaboración de las mismas no fue el más adecuado (por ejemplo, en el cerrado hermético, en la higiene de la persona que los elaboró, además de que el área donde se prepararon o los utensilios empleados no se encontraron en condiciones de asepsia). Por ello, para todas las determinaciones anteriores, se preparó el medio de cultivo más adecuado para el microorganismo a identificar, como se mencionó en la metodología:

- Agar triptona extracto de levadura, para la determinación de microorganismos coliformes
- Agar papa dextrosa para mohos y levaduras
- Agar MacConkey para la determinación de microorganismos coliformes totales.

Para esta determinación, se inoculó una cantidad conocida de muestra, (1 g de mermelada) la cual se diluyó en 9 mililitros de solución salina, y se realizaron otras dos diluciones. De cada dilución se tomó 1mL, el cual se depositó en una caja Petri para después agregar el medio de cultivo correspondiente y se

incubó a la temperatura óptima de crecimiento de cada microorganismo a evaluar (Tabla 4.12).

Al revisar cada una de las cajas Petri incubadas se observó que ninguna de las cajas mostró ningún tipo de crecimiento en el tiempo descrito en la Tabla 4.12, como puede observarse en las Figuras 4.7 a 4.9.

Tabla 4.12. Descripción de la temperatura y tiempo óptimo de crecimiento para los microorganismos

Microorganismo	Temperatura óptima de incubación (empleada en este ensayo), °C	Tiempo de proliferación óptimo
Hongos y levaduras	28	5 días
Mesófilos	37	24 h
Coliformes	37	48h



Figura 4.6. Observación de mohos y levadura en placas



Figura 4.7. Observación de microorganismos coliformes en placa

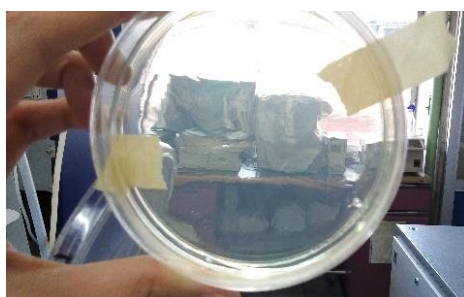


Figura 4.8. Observación de microorganismos mesófilos en placa

Con base en estos resultados se construyó la Tabla 4.13 en donde se determinó que ninguna de las mermeladas elaboradas presentó un daño a la salud del

consumidor debido a la ausencia de los microorganismos anteriormente mencionados.

Por ello se determinó que el consumo de las mermeladas de cada uno de los lotes era inocuo para el consumidor.

Tabla 4.13. Resultados de las pruebas microbiológicas realizadas

Mermelada	Microorganismos determinados		
	Mohos y levaduras	Coliformes totales	Mesófilos aerobios
Guayaba lote blanco	Ausente	Ausente	Ausente
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)	Ausente	Ausente	Ausente
Guayaba lote Q-Qn (Sigma-Aldrich)	Ausente	Ausente	Ausente
Uva lote blanco	Ausente	Ausente	Ausente
Uva lote Q-Qn (MAC-141®)	Ausente	Ausente	Ausente
Uva lote Qn (Sigma-Aldrich)	Ausente	Ausente	Ausente

4.6. Evaluación sensorial de las mermeladas elaboradas

Una vez elaboradas y cerradas herméticamente las mermeladas, se realizó una evaluación sensorial en el vestíbulo del Edificio A de la Facultad de Química con 96 jueces no entrenados con edades de entre los 18 a 29 años, como se señaló en la metodología. En esta evaluación, se buscó determinar cuál de las mermeladas resultaba de mayor agrado para el consumidor, evaluando los parámetros de olor, color, textura y sabor mediante un cuestionario adjuntado en el Anexo 9.

De acuerdo con las encuestas realizadas a 50 mujeres y 46 hombres (Figura 4.9), se utilizó una escala de cinco puntos para que los jueces pudieran describir lo que se acercara más a su opinión sobre las mermeladas. A cada rubro de la escala se le asignó un valor para poder determinar cuál resultaba ser la de mayor agrado, siendo 5 el valor más alto y 1 el más bajo. Para conocer si había alguna diferencia significativa en todos los parámetros evaluados mencionados con anterioridad se realizó un análisis estadístico de varianza, andeva (ANOVA en inglés).

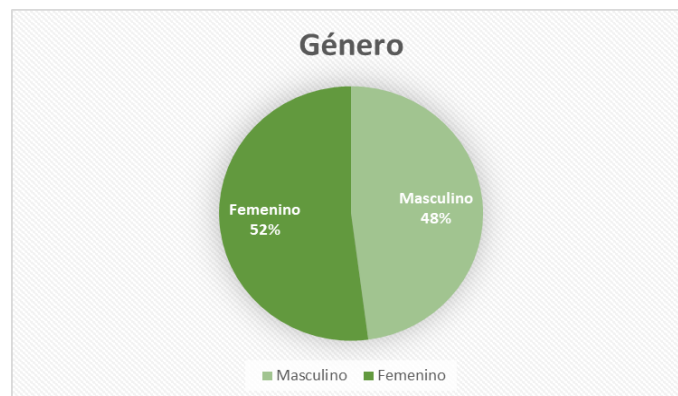


Figura 4.9. Género de los encuestados

El resultado del análisis de varianza realizado para cada uno de los parámetros evaluados y cada una de las mermeladas se muestran en la Tabla 4.14.

Tabla 4.14. Valores obtenidos en el análisis de varianza, ANDEVA (ANOVA en inglés)

Guayaba		Parámetro evaluado					
Color		Textura		Olor		Sabor	
Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F
0.019747	3.97872	0.051360	2.999700	0.279022	1.282136	0.063945	2.776147
Uva		Parámetro evaluado					
Color		Textura		Olor		Sabor	
Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F	Probabilidad	Valor de F
5.7751×10^{-08}	17.6699	1.331×10^{-07}	16.73319	0.815118	0.2045671	0.016780	4.1461230

Para la interpretación de los valores del ANDEVA, se sabe que si el valor de la probabilidad es menor o igual a 0.05 indica la existencia de una diferencia significativa en las muestras evaluadas y que entre mayor sea el valor de F, más estarán relacionadas las variables, lo cual significa que las medias de la variable dependiente difieren o varían mucho entre los grupos de la variable

independiente. Esto indica que, para el parámetro de color (Figura 4.10), para el caso de la guayaba hubo una diferencia significativa, siendo la preferida por los jueces no entrenados la elaborada con la guayaba tomada como blanco mientras que la menos preferida fue la mermelada elaborada con la guayaba recubierta con MAC-141®. Para el caso de la mermelada de uva, hubo una diferencia significativa nuevamente siendo la favorita la mermelada de uva del lote blanco y la menos preferida por los consumidores fue la uva recubierta con el control, Qn-Sigma-Aldrich.

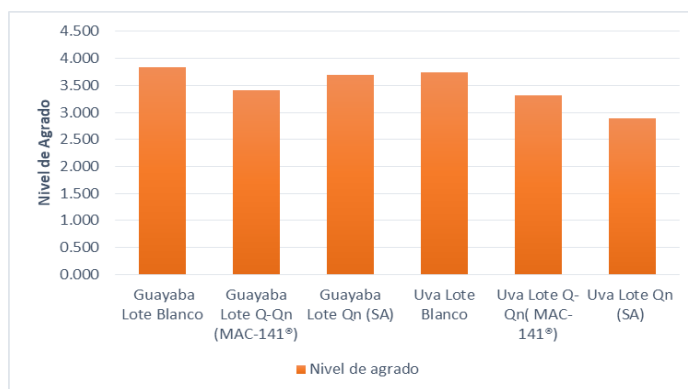


Figura 4.10. Agrado del color en las mermeladas elaboradas

Al evaluar el parámetro de textura, se aprecia que hubo una diferencia significativa en la mermelada elaborada con el lote de uva Sigma-Aldrich (Figura 4.11), mientras que, para la guayaba, la diferencia percibida entre los 3 lotes fue mínima. Para el caso del olor (Figura 4.12), en ninguna de las mermeladas de guayaba ni de uva, se encontró alguna diferencia significativa, lo cual indica que para los jueces todas las mermeladas tuvieron un mismo olor, siendo mejor evaluadas por los jueces no entrenados las elaboradas con guayaba, en cambio las de uva, obtuvieron puntajes más bajos.

Finalmente, para el caso del sabor, para las mermeladas elaboradas con guayaba no hubo diferencia significativa, como se aprecia en la Figura 4.13, ya que los puntajes obtenidos resultaron muy similares para los tres casos (altos). En cambio, para la mermelada de uva hubo diferencia significativa entre la uva del

lote Qn SA con respecto al blanco y al lote Q-Qn ya que los puntajes obtenidos fueron bajos, lo cual indicó que no fue del agrado para los jueces.

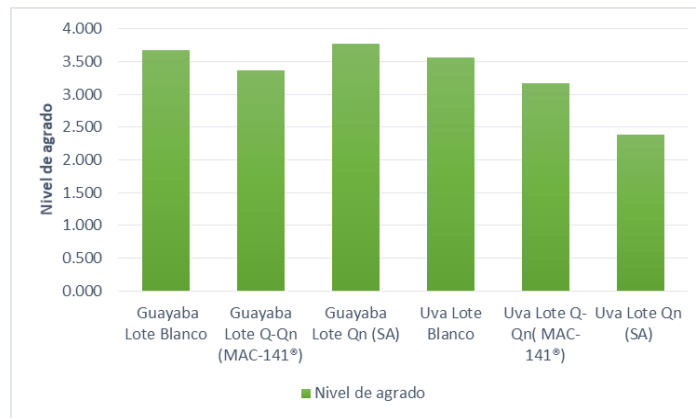


Figura 4.11. Agrado de textura en mermeladas elaboradas

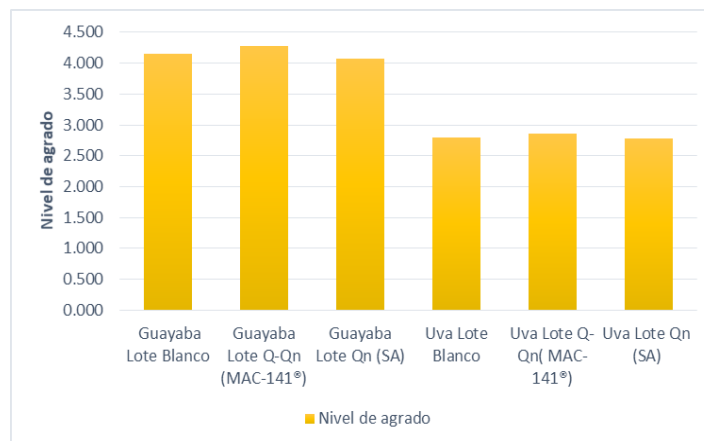


Figura 4.12. Agrado del olor en las mermeladas elaboradas

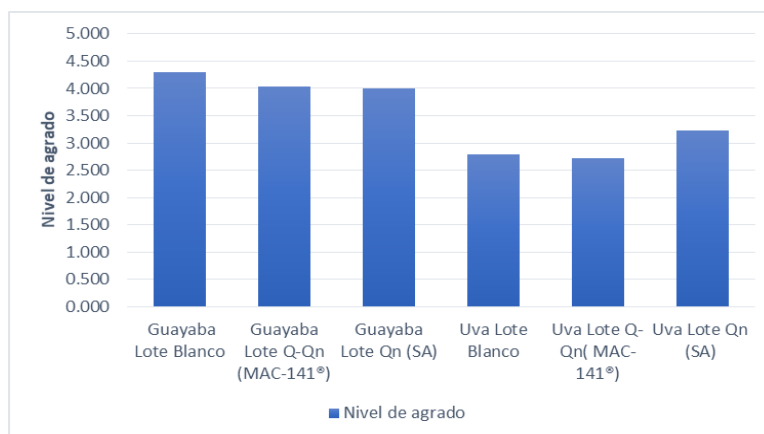


Figura 4.13 Agrado del sabor en las mermeladas elaboradas

De acuerdo con las Figuras 4.12 y 4.13, los jueces tuvieron preferencia por las mermeladas elaboradas con guayaba en cualquiera de sus tres presentaciones lo cual indicó que los recubrimientos no afectaron el sabor de las frutas. Para el caso de las uvas, la mermelada no fue de su agrado. Esto podría explicarse por la baja intensidad de sabor que la uva verde tiene de manera natural y, por lo mismo, por la alta cantidad de azúcar añadida y la temperatura a la que llegó la mermelada (85°C), provocó que el poco sabor presente en la fruta se perdiera y predominara el sabor a azúcar. A pesar de esto se tiene que considerar que solamente se trata de una prueba subjetiva y que, al tratarse de jueces no entrenados, sus elecciones podrían presentar algo de sesgo ya que estas se encontrarán en relación con sus hábitos alimenticios, su estado de salud y la percepción de los sabores y olores que ellos tengan.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Con los resultados obtenidos a partir del diseño de experimentos y de acuerdo con lo establecido en el objetivo general propuesto en esta investigación, el cual fue: “Determinar la concentración de metanol residual en guayabas y uvas verdes recubiertas con una biopelícula elaborada obtenida con el disolvente MAC-141® a partir de residuos de camarón, estableciendo si se sobrepasaba o no la cantidad de metanol residual permitida por la NMX-V-005-NORMEX-2013 (DOF, 1995), dejando claro si sería una opción viable para la conservación de los frutos, se pudieron derivar las siguientes conclusiones:

- La cantidad de metanol añadida por el biopolímero Q-Qn obtenido con ayuda del disolvente MAC-141® no fue alta, con base en los valores de *NOAEL* obtenidos, ya que a pesar de que sí mostró valores mayores a los lotes blanco y al lote control Qn-Sigma-Aldrich, la ingesta de la fruta resulta inocua para el consumidor.
- Si el estado de madurez de la fruta que se desea recubrir es avanzado, el biopolímero no será funcional para la misma y el nivel de metanol será mayor. Por lo tanto, es recomendable utilizar el disolvente en frutas inmaduras no climatéricas como la uva verde para que no aumente su concentración en metanol.
- La temperatura en la que se observó una mejor interacción entre el biopolímero Q-Qn extraído de los residuos con el disolvente MAC-141® fue a la temperatura ambiente.
- El disolvente, a pesar de provenir de un residuo acuícola de fuerte olor y sabor, no afectó el sabor de las frutas cuando se elaboraron mermeladas con ellas, como se observó en la evaluación sensorial con jueces no entrenados.
- El biopolímero Q-Qn funciona mejor en frutas con poco grado de esterificación y que, por ende, no hayan formado cantidades altas de

metanol de manera natural. Así, el metanol añadido por el biopolímero no aumentará significativamente.

- El nivel sin efecto adverso observable, *NOAEL*, ayudó a determinar una cantidad de consumo preferente de la fruta recubierta. Sin embargo, es importante recordar que este nivel varía de acuerdo con la masa corporal del consumidor y, por esto mismo, la cantidad que es apta para su consumo, será variable de acuerdo con este parámetro.
- El biopolímero Q-Qn es inocuo para el consumidor, con base a los resultados obtenidos para una persona de 75 kg, tanto para el fruto no climatérico, la uva, como para el climatérico, la guayaba.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda el uso del biopolímero Q-Qn en frutos con un estado de madurez no avanzado, principalmente a temperatura ambiente. Se considera que sería un buen conservador para la transformación de frutas, cuando estas salen del campo y se trasladan a la ciudad.
- Se recomienda realizar más estudios en otras frutas para comparar los niveles de metanol residual encontrados y ver con cuáles funciona mejor.
- Se recomienda determinar el contenido de metanol residual en frutos verdes (inmaduros) a los cuales se les aplique el disolvente MAC-141©.
- Se recomienda no utilizar más de 50 g al momento de realizar el destilado ya que si está sobresaturado, la destilación tomará mucho tiempo en llevarse a cabo.
- Se recomienda preparar el ácido oxálico cada día para que sus propiedades no se pierdan durante el almacenamiento.

6. Bibliografía

- A&A Agronegocios (2011). Estudio orientado a identificar las necesidades de infraestructura logística en la cadena de suministro de la guayaba para la exportación a Estados Unidos. México. Disponible en http://www.sagarpa.mx/agronegocios/Documents/Estudios_promercado/FR UCASA__RE.pdf
- Baranoa, M.; Sancho, B. E. (1992). *F. Fruticultura Especial. Fascículo 5. Guanábana y Macadamia*. Universidad Estatal a Distancia. San José, Costa Rica. pp. 11-50. Disponible en [http:// XXX](http://XXX)
- Barreiro, J., Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*, Equinoccio Universidad Simón Bolívar, 77-79. Disponible en https://books.google.com.mx/books/about/Operaciones_de_conservaci%C3%B3n_de_alimento.html
- Beuchat, L., Cousin, A. (2001). Yeasts and Molds. In: Downs, F.P., Ito, K., eds. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4th ed. APHA (American Public Health Association). Washington, EE.UU.
- Blouin, J., Guimbertear, G. (2002). *Maduración y madurez de la uva*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Bosques, E., Colina, L. (2014). Procesamiento térmico de frutas y hortalizas. Trillas, 105-112. Ciudad de México, México.
- Calvo, M. (2010). *Bioquímica de los alimentos* [En línea] (actualizado al 2010). Disponible en <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html> [ultimo acceso 20 de mayo de 2018].
- Cameán, A., Repetto, M. (2014). *Toxicología alimentaria*, Ed. Diaz de Santos. Madrid, España.
- Casp-Vanaclocha, A., Abril-Requena, J. (2003). *Procesos de Conservación de Alimentos*, 2ª edición, Ediciones Mundi-Prensa. 22-34, 40-45. Madrid, España.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C. C., Sarantópoulos, C. I. G. L., Hubinger, M. D. (2010). *Fresh cut "Tommy Atkins" mango pre-treated with citric acid and coated with cassava (Manihot esculenta Crantz) starch or sodium alginate*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 12(3): 381-387.
- DOF (2013). Norma Mexicana NMX-V-005-NORMEX-2013. Secretaría de Economía. Catálogo de Normas Mexicanas. NMX-V-005-NORMEX 2013: *Bebidas alcohólicas. Determinación de aldehídos, ésteres, metanol y alcoholes superiores. Métodos de ensayo (prueba)*. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Poder Ejecutivo Federal. México D.F.: Diario Oficial de la Federación. http://www.dof.gob.mx/nota_to_doc.php?codnota=4917328

- DOF. (2009). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002. El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. *Sistema general de unidades de medida*. Secretaría de Economía. Jueves 24 de septiembre de 2009 DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Poder Ejecutivo Federal. México D.F.: Diario Oficial de la Federación. Disponible en https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5532807&fecha=24/07/2018
- DOF (1995). Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995. Secretaría de Salud. Catálogo de Normas Mexicanas. NOM-130-SSA1-1995: *Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias*. Poder Ejecutivo Federal. México D.F.: Diario Oficial de la Federación. Disponible en <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/130ssa15.html>
- Enríquez, R., Nava, J. (2016). *Estudios de vida de anaquel en productos hortofrutícolas empleando recubrimientos obtenidos de exoesqueletos y cefalotórax de camarón. Tesis profesional*. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Flores-Ortega, R. (2004). *Bioplástico de quitina: Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos. Tesis de Maestría en Ciencias*. UNAM, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. Ciudad de México, México.
- Flores-Ortega, R. (2008). *Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón. Tesis de Doctorado en Ciencias*. UNAM, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. Ciudad de México, México.
- Fox, B., Cameron, A. (2006). *Ciencia de los alimentos, nutrición y salud*, Limusa. Ciudad de México, México.
- Frazier, W., Westhoff, D. (1994). *Microbiología de los Alimentos*. 4ª. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- García, A., Agiar, L., Granada, J. (2011). Muerte cerebral secundaria a intoxicación por metanol. *Presentación de Caos*. 2: 211-214.
- González, J. (2014). *Camarones, gambas, langostinos y demás parientes*. Disponible en <https://pellagofio.es/>
- Han, J.H. (2014). Edible films and coatings: A review. In: S.L. Taylor., ed. *Innovations in Food Packaging*. Academic Press, Chapter 9. Texas, EE.UU.
- Herrero, A., Guardia, J. (1992). *Conservación de frutos. Manual Técnico*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D., Gong, D. (2012). Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, 144: 178-178.
- Hoorfar, J. (2014), Edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. In: L. Ciolacu, A. Nicolau y J. Hoorgar, eds. *Global Safety of Fresh Produce*. Woodhead Publishing, 17/233-244. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781782420187500173>
- Jagtiani, J., Chant, H. T., Sakai, W. S. (1988). *Tropical Fruit Processing*. Cap. 2. Academic Press Inc. San Diego, EE.UU.
- Kays, S., Paull, R. (2004). *Postharvest biology*, Exon Press, 1ed., 121-125. Athens, EE.UU.
- Kroachta, M.J., Baldwin, A. E., Nisperos-Carriedo, M. (1994). *Edible coatings and films to improve food quality. Chapter 1. Edible films coating: Characteristics, formation, definition, and testing methods*. Technomic Publishing Co. Lancaster, EE.UU. 1-21.
- Martínez, M., Ortiz-Quintero, L., Pérez-Gualdrón, C., Velasco-Anzola, C. (2011). Efecto de la pectina extraída de guayaba sobre el perfil lipídico en adultos con diferente condición cardiovascular. *Revista de la Facultad de Medicina*, 59(2): 103-111.
- Mendoza-López, M. R., Luis-Aguilar, A., Castillo-Orta, S. F., Vidales-Fernández, I. (2005). Diagnóstico del *Manejo Actual del Cultivo de Guayaba en la Región Oriente de Michoacán*, Publicación Especial Núm. 1. Centro de Investigaciones del Pacífico Centro. Campo Experimental Uruapan. INIFAP, SAGARPA, 7-13. Uruapan, México.
- Nakamatsu-Kuniyoshi, J. (2012). La Quitosana. *Revista de Química PUCP*, 26: 3.
- Oliveira, M.A., Cereda, M.P. (2003). Pós-colheita de Pêssegos (*Prunus persica* L. Batsch) revestidos com filme a base de amido como alternativa à cera comercial. *Ciência Tecnol. Alimentos*, 23: 20-33.
- ONU (2018). Organización de las Naciones Unidas. *Asuntos que nos importan: Alimentación*, Disponible en: <http://www.un.org/es/sections/issues-depth/food/index.html> [último acceso el 03 de marzo de 2018]
- Parra, A. (2014). Maduración y comportamiento poscosecha de la guayaba (*Psidium guajava* L.). Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 8(2): 314 -327.
- Pérez-Saucedo, S. (2017). *Evaluación del contenido de metanol y etanol (y sus derivados oxidados), en algunas bebidas alcohólicas derivadas de la caña de azúcar conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1/SCFI 2014. Tesis profesional*. UNAM. Ciudad de México, México.
- Ramírez, M., Rodríguez, A., Peniche, C. (2010). *La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola*. La Habana, Cuba.

- SAGARPA (2017). *Planeación Agrícola Nacional Uva Mexicana*, México. Disponible en [http://www.planeacionagricolanacional.mx/assets/potencial-uva-\(monografia\).pdf](http://www.planeacionagricolanacional.mx/assets/potencial-uva-(monografia).pdf)
- Salgado, R. (2012). ¿Biopelículas comestibles? *Saber Más, Revista de Divulgación*, Disponible en <https://www.sabermas.umich.mx/>
- Sarabia-Bañuelos, P. (2011). *Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: Obtención de quitina y quitosana del cefalotórax de camarón por métodos ecológicos*. UNAM, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas. Ciudad de México, México.
- Severiano, P., Gómez, D., Méndez C., Pedrero, D., Gómez, C., Ríos, S., Escamilla, A., Utrera, M. (2012). *Manual de Evaluación Sensorial*, Facultad de Química, UNAM, 125-132. México D.F., México.
- Shahidi, F., VidanaArachchi, J.K., Jeon, Y.-J. 1999. Food Applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2): 37-51.
- SIAP (2015). *Márgenes de comercialización Guayaba*, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Disponible en https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/67371/MC_guayaba_agosto_2015.pdf
- Silbergeld, E. Directora del capítulo. (2013). *Toxicología*. In: B. Holmberg, G. Johanson, *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*. Cap. 33. Disponible en <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>
- Stevens, M., Ashbolt, N., Cunliffe, D. (2003). *Recommendations to change the use of coliforms as microbial indicators of drinking water quality*. Department of Human Services, South Australia. Disponible en http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/_files/eh32.pdf [último acceso 20 de mayo de 2018]
- Vázquez-Briones, M., Guerrero-Beltrán, J. (2013). *Recubrimientos de frutas con biopelículas*, *Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental*, 5-11. Disponible https://www.academia.edu/34339497/Recubrimientos_de_frutas_con_biopel%C3%ADculas
- Velázquez-Solís, J.A. (2013). Efectos en uvas de mesa del recubrimiento con películas de quitina-quitosana obtenidas por medio de química verde en su apariencia, pH, porcentaje de acidez, contenido de humedad y vitamina C. *Tesis profesional*. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Vuarant, C. (2010). *Estudio sobre cambios de la firmeza de bayas de arándanos durante su maduración*. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, XXI(41): 159-171.

- Wang, S.L., Liang, T.W., Yen, Y.H. (2011). *Bioconversion of chitin-containing wastes for the production of enzymes and bioactive materials. Carbohydrate Polymers.* 84: 732-742.
- Willis, R., (2002). *Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales*, 2da Edición, Ed. Acribia S.A México, 120-135, 145-187.
- Younes, I., Rinaudo, M. (2015). *Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications.* Mar. Drugs. 13: 1133-1174.

ANEXOS

ANEXO 1

A1. OXIDACIÓN DEL METANOL

FUNDAMENTO: Se basa en la transformación de alcoholes primarios para dar paso a la formación de un aldehído. El procedimiento permite la oxidación del metanol con ayuda del permanganato de potasio en medio ácido para formar formaldehído.

Reactivos

- ✓ $\text{KMnO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$
- ✓ Ácido oxálico al 5%
- ✓ Ácido cromotrópico al 5%
- ✓ H_2SO_4 concentrado
- ✓ Agua destilada

Preparación de reactivo

- $\text{KMnO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$
Disolver 3 g de KMnO_4 en 15 mL de H_3PO_4 y 70 mL de H_2O . Llevar a 100 mL con agua destilada.
- Ácido oxálico al 5%
Disolver 5 g de $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ en 50 mL de H_2O y mezclar con 50 mL de H_2SO_4 . La mezcla debe llevarse a cabo en un baño de hielo con agua para evitar reacciones exotérmicas.
- Ácido cromotrópico al 5 %
Pesar 0.1 g de ácido cromotrópico y aforar con agua destilada hasta 5 mL

Procedimiento

1. Se agregan 2 mL de la disolución $\text{KMnO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ a la muestra y se deja reposar durante 15 minutos
2. Se agregan 2 mL de la disolución de ácido oxálico al 5%, se deja reposar durante 15 minutos
3. Se agrega 1 mL de ácido cromotrópico al 5%
4. Se agregan 5 mL de H_2SO_4
5. Se calienta la solución a una temperatura entre $65\text{-}68^\circ\text{C}$ durante 20 minutos
6. Se deja enfriar y finalmente se afora en un matraz de 25 mL con agua destilada. Después de esto se hace la lectura a la absorbancia de 570 nm en un espectrofotómetro UV/Vis
7. Es importante no olvidar el blanco, al cual se le realiza el mismo tratamiento, pero únicamente se le agrega 1 mL de agua destilada en lugar del ácido cromotrópico.

ANEXO 2

A2. CURVA PATRÓN DE METANOL

Curva patrón empleada para la determinación de la cantidad de metanol residual en frutas recubiertas a partir de biopolímeros

Tabla A2. Curva patrón elaborada para la determinación de metanol residual

Disolución patrón (mL)	Concentración de metanol (mg/mL)	Absorbancia $\lambda=570$ nm
0	0	0
0.3	0.012	0.117
0.5	0.02	0.210
0.8	0.032	0.297

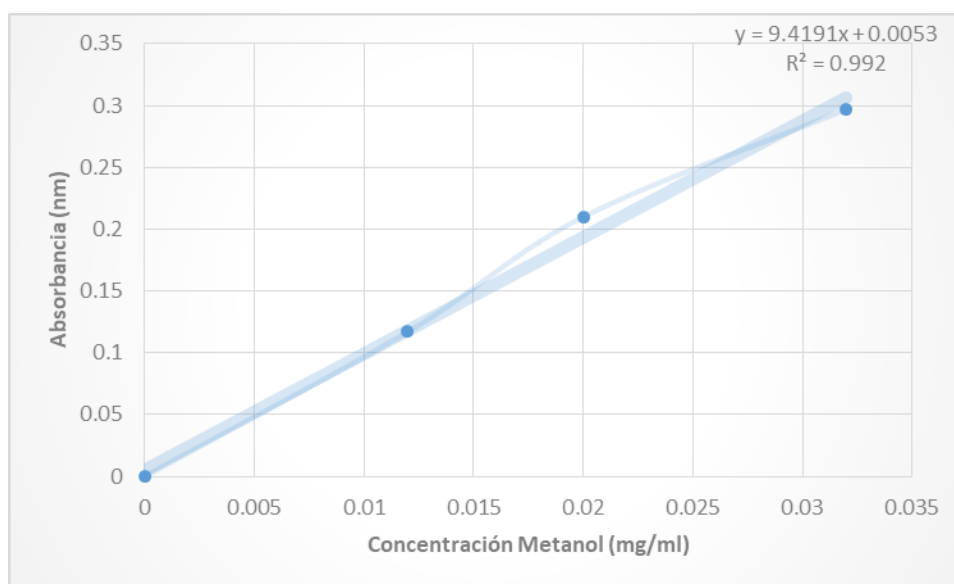


Figura A2. Curva patrón de metanol

R^2 = Coeficiente de correlación: 0.995979

m = pendiente: 9.419117647

b = ordenada al origen: 5.29411×10^{-3}

ANEXO 3

A3. CARACTERÍSTICAS DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

Hojas oficiales de los laboratorios que los fabrican

A3.1. Agar de extracto de levadura



FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Fecha de revisión 07.09.2018

Versión 1.1

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificador del producto

Artículo número	103750
Denominación	Agar extracto de levadura para microbiología
Número de registro REACH	Este producto es una mezcla. Número de registro REACH véase sección 3.

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados	Investigación y análisis bioquímicos Para informaciones adicionales a usos refiérase al portal Merck Chemicals (www.merckgroup.com ; for USA/Canada www.emdgroup.com).
--------------------	---

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía	Merck KGaA * 64271 Darmstadt * Alemania * Tel: +49 6151 72-0
Departamento Responsable	Servicio al cliente: Tel 01 (55) 21 22 1708
Representante regional	Merck, S.A de C.V Calle 5 No. 7 C.P.53370 Naucalpan de Juárez, Edo. de México, México. Teléfono (55)-2122-1600, Fax (55)-2122-1703.

1.4 Teléfono de emergencia

CARE (55)-91-18-65-84 Centro de atención y respuesta a emergencias
--

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

Forma	sólido
Color	beige
Olor	péptico
Umbral olfativo	No hay información disponible.
pH	6,3 - 6,7 a 35 g/l 25 °C (tras autoclave)

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Esta mezcla no está clasificada como peligrosa según la legislación de la Unión Europea.

2.2 Elementos de la etiqueta

Etiquetado (REGLAMENTO (CE) No 1272/2008)

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros peligros

Ninguno conocido.

SECCIÓN 3. Composición/ información sobre los componentes

Naturaleza química Base para medio de cultivo.

3.1 Sustancia

No aplicable

3.2 Mezcla

Observaciones Ningún ingrediente peligroso según la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

A3.2. Agar de papa dextrosa

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA
Tel: (800) 521-8956 (314) 771-5765 Fax: (800) 325-5052 (314) 771-5757
email: techservice@sial.com sigma-aldrich.com

Product Information

70139 Potato Glucose Agar

Recommended for the isolation, and enumeration of yeasts and molds in dairy products and food. This culture medium complies with the recommendations of the APHA for food (1992), the USP (1995) and the FDA (1995).

Composition:

Ingredients	Grams/Litre
Potato extract	4.0
Dextrose	20.0
Agar	15.0

Final pH 5.6 +/- 0.2 at 25 °C

Store prepared media below 8 °C, protected from direct light. Store dehydrated powder, in a dry place, in tightly-sealed containers at 2-25 °C.

Directions :

Suspend 39 g in 1 litre of distilled water. Bring to the boil to dissolve completely. Sterilize by autoclaving at 121 °C for 15 minutes. In order to suppress bacterial growth, 10% sterile lactic acid or 10% tartaric acid solution can be added for dropping pH to 3.5. Mix well before pouring. The plates are clear and yellowish-brown.

Principle and Interpretation:

Potato extract serves as a source of carbon, nitrogen, minerals, vitamins and other essential growth nutrients. Dextrose acts as source of carbohydrate. Agar is added as the solidifying agent. The accompanying bacterial flora is suppressed by the pH value of 3.5. The grow of yeasts and moulds are promoted on this medium and the fungus develop typical morphology. 8.4 mg/l Rose bengal can be added to suppress additionally the development of bacteria and restricts the size and the spreading of mould colonies.

Cultural characteristics after 4-5 days at 22-28 °C

Organisms (ATCC)	Growth	Ascospore formation
<i>Aspergillus niger</i> (16404)	+++	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9763)	+++	+
<i>Penicillium comune</i> (10428)	++	-
<i>Candida albicans</i> (10231)	+++	-

A3.3. Agar MacConkey



MICROBIOLOGICAL MEDIA

CORN MEAL AGAR

<u>COMPONENT</u>	<u>C 1176</u> g/L
Agar	15.0
Corn Meal, Infusion from	2.0
Grams of powder required to prepare 1 L	17.0

CZAPEK-DOX BROTH

<u>COMPONENT</u>	<u>C 1551</u> g/L
Agar	15.0
Ferrous Sulfate	0.01
Magnesium Sulfate	0.5
Potassium Chloride	0.5
Potassium Phosphate Dibasic	1.0
Sodium Nitrate	3.0
Sucrose	30.0
Grams of powder required to prepare 1 L	35.0

LURIA BROTH AND AGAR

<u>COMPONENT</u>	<u>L 1900</u> g/L	<u>L 2025</u> g/L
Agar	—	15.0
Sodium Chloride	0.5	0.5
Tryptone	10.0	10.0
Yeast Extract	5.0	5.0
Grams of powder required to prepare 1 L	15.5	30.5

Product Information

LB BROTH AND AGAR, MILLER

<u>COMPONENT</u>	<u>L 3152</u> g/L	<u>L 3027</u> g/L
Agar	—	15.0
Sodium Chloride	10.0	10.0
Tryptone	10.0	10.0
Yeast Extract	5.0	5.0
Grams of powder required to prepare 1 L	25.0	40.0

MacCONKEY AGAR

<u>COMPONENT</u>	<u>M 7408</u> g/L
Peptone	17.0
Proteose Peptone	3.0
Lactose	10.0
Bile Salts No. 3	1.5
Sodium Chloride	5.0
Agar	13.5
Neutral Red	0.03
Crystal Violet	0.001
Grams of powder required to prepare 1 L	50.0

MALT EXTRACT BROTH AND AGAR

<u>COMPONENT</u>	<u>M 6409</u> g/L	<u>M 6907</u> g/L
Agar	—	15.0
Dextrin	—	2.75
Glucose (Dextrose)	6.0	—
Glycerol	—	2.35
Malt Extract	6.0	—
Maltose	1.8	12.75
Peptone	—	0.78
Yeast Extract	1.2	—
Grams of powder required to prepare 1 L	15.0	33.6

Microbiological Media continued

MYCOPLASMA AGAR AND BROTH

<u>COMPONENT</u>	M 0660	M 0535
	g/L	g/L
Bacterial Peptone	10.0	10.0
LAB-LEMCO Powder	10.0	10.0
Sodium Chloride	5.0	5.0
Mineral Supplement	0.5	0.5
Agar	10.0	—
Grams of powder required to prepare 1 L	35.5	25.5

MYCOPLASMA TEST BROTH AND MEDIUM

<u>COMPONENT</u>	M 1539	M 1914
	g/L	g/L
AMINO ACIDS		
Arginine	1.0	2.0
OTHER		
Agar (Bacterial Grade)	—	16.0
DNA	0.02	0.04
D-Glucose	1.0	2.0
Horse Serum (Donor Herd)	100.0	200.0
Phenol Red•Na	0.02	0.04
PPLO Broth without Crystal Violet	20.0	40.0
Yeast Extract	12.5	25.0

NUTRIENT AGAR

<u>COMPONENT</u>	N 0394	N 4019	N 7519
	g/L	g/L	g/L
Agar	15.0	15.0	—
Beef Extract	3.0	3.0	3.0
Peptone	5.0	5.0	5.0
Sodium Chloride	—	8.0	—
Grams of powder required to prepare 1 L	23.0	31.0	8.0

OATMEAL AGAR

<u>COMPONENT</u>	O 3506
	g/L
Agar	12.5
Oatmeal	60.0
Grams of powder required to prepare 1 L	72.5

TRYPTIC SOY BROTH AND AGAR

<u>COMPONENT</u>	T 8907	T 4536
	g/L	g/L
Agar	—	15.0
Dextrose	2.5	—
Dipotassium phosphate	2.5	—
Pancreatic digest of casein	17.0	15.0
Papaic digest of soy meal	3.0	5.0
Sodium chloride	5.0	5.0
Grams of powder required to prepare 1 L	30.0	40.0

THIOGLYCOLLATE MEDIUM

<u>COMPONENT</u>	T 9032
	g/L
Pancreatic Digest of casein	15.0
Agar	0.75
Yeast extract	5.0
Dextrose	5.5
L-Cystine	0.5
Sodium chloride	2.5
Sodium thioglycollate	0.5
Resazurin	0.001
Grams of powder required to prepare 1 L	29.8

TRYPTOSE PHOSPHATE BROTH

<u>COMPONENT</u>	T 8159
	g/L
Tryptose	20.0
Dextrose	2.0
Sodium chloride	5.0
Disodium phosphate	2.5
Grams of powder required to prepare 1 L	29.5

POTATO DEXTROSE AGAR AND BROTH

<u>COMPONENT</u>	P 2182	P 6685
	g/L	g/L
Agar	15.0	—
Glucose (Dextrose)	20.0	20.0
Potatoes, Infusion from	4.0	4.0
Grams to prepare 1 L	39.0	24.0

ANEXO 4

A4. MASAS OBTENIDAS DE UVA VERDE

Tabla A4. Masas obtenidas en uvas almacenadas a 4°C

Uva almacenada a 4°C			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	18.819	18.191	15.941
3	18.465	17.409	15.567
7	17.281	17.889	19.336
10	16.011	15.129	14.513
13	14.896	14.729	15.514
17	13.375	13.871	16.139
21	16.136	14.553	13.982

Tabla A4. Masas obtenidas en uvas almacenadas a temperatura ambiente

Uva almacenada a temperatura ambiente			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	18.818	18.190	15.941
3	18.416	17.695	19.323
7	16.452	14.340	16.678
10	10.835	12.878	13.939
13	10.955	8.259	11.123
17	14.820	10.197	9.535
21	9.562	9.014	4.571

Tabla A4. Masas obtenidas en uvas almacenadas a 35°C

Uva almacenada a 35°C			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	18.818	18.190	15.941
3	5.507	4.2	7.098
7	3.491	3.262	3.220
10	2.528	3.087	3.105
13	3.069	2.654	3.440
17	3.295	3.489	3.021
21	ND	ND	ND

ND: No determinado

ANEXO 5

A5. MASAS OBTENIDAS DE GUAYABA

Tabla A5.1 Masas obtenidas en guayabas almacenadas a 4°C

Guayaba almacenada a 4°C			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	90.761	84.254	102.493
3	81.678	68.958	64.073
7	65.799	63.448	73.788
10	75.991	67.875	77.058
13	83.175	81.392	86.351
17	72.031	81.258	68.944
21	69.966	61.144	79.789

Tabla A5.2 Masas obtenidas en guayabas almacenadas a temperatura ambiente

Guayaba almacenada a temperatura ambiente			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	90.762	84.254	102.493
3	97.775	79.413	74.794
7	69.695	39.409	71.795
10	56.310	51.607	55.077
13	48.742	43.158	53.357
17	39.402	39.735	55.641
21	36.612	24.580	41.279

Tabla A5.3 Masas obtenidas en guayabas almacenadas a 35°C

Guayaba almacenada a 35°C			
Día de estudio	Masa lote blanco (g)	Masa lote Q-Qn (MAC-141®) (g)	Masa control Qn (Sigma Aldrich) (g)
0	90.762	84.254	102.493
3	80.033	74.427	78.347
7	52.140	39.891	45.573
10	28.707	27.082	36.777
13	31.744	20.465	27.453
17	23.026	15.841	21.622
21	ND	ND	ND

ND: No determinado porque su calidad era mala

ANEXO 6

A6. ABSORBANCIAS OBTENIDAS DE UVA VERDE

Tabla A6.1 Absorbancias obtenidas en uva verde a 4°C

Uva almacenada a 4°C			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.0095	0.019	0.014
3	0.009	0.019	0.0155
7	0.0135	0.046	0.08
10	0.0135	0.016	0.012
13	0.017	0.0255	0.07
17	0.0175	0.0245	0.016
21	0.018	0.025	0.018

Tabla A6.2 Absorbancias obtenidas en uva verde a temperatura ambiente

Uva almacenada a temperatura ambiente			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.0095	0.019	0.014
3	0.03	0.026	0.032
7	0.016	0.021	0.025
10	0.0165	0.027	0.0215
13	0.0235	0.037	0.014
17	0.0195	0.0225	0.014
21	0.017	0.0175	0.0145

Tabla A6.3 Absorbancias obtenidas en uva verde almacenada a 35°C

Uva almacenada a 35°C			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.0095	0.061	0.014
3	0.04	0.0435	0.03
7	0.018	0.13	0.02
10	0.01	0.0255	0.02
13	0.0205	0.018	0.0215
17	0.014	0.0095	0.0215
21	ND	ND	ND

ND: No determinado

ANEXO 7

A7. ABSORBANCIAS OBTENIDAS DE GUAYABA

Tabla A7.1 Absorbancias obtenidas en guayaba a 4°C

Guayaba almacenada a 4°C			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.019	0.061	0.0375
3	0.025	0.0265	0.018
7	0.0075	0.03215	0.024
10	0.0075	0.0495	0.017
13	0.0075	0.0185	0.019
17	0.025	0.0395	0.0185
21	0.0125	0.072	0.024

Tabla A7.1 Absorbancias obtenidas en guayaba a temperatura ambiente

Guayaba almacenada a temperatura ambiente			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.019	0.061	0.0375
3	0.044	0.0685	0.0265
7	0.026	0.038	0.034
10	0.03	0.0265	0.022
13	0.0605	0.0515	0.0195
17	0.0545	0.0205	0.0135
21	0.039	0.024	0.031

Tabla A7.1 Absorbancias obtenidas en guayaba a 35°C

Guayaba almacenada a 35°C			
Día de estudio	Absorbancia lote blanco (nm)	Absorbancia lote Q-Qn (MAC-141®) (nm)	Lote control Qn (Sigma Aldrich) (nm)
0	0.019	0.061	0.0375
3	0.0355	0.0435	0.0185
7	0.028	0.013	0.018
10	0.064	0.0255	0.0355
13	0.035	0.018	0.022
17	0.0075	0.0095	0.0075
21	ND	ND	ND

ND: No determinado

ANEXO 8

A8. PROMEDIOS OBTENIDOS EN LA EVALUACIÓN SENSORIAL

Tabla A8. Escala utilizada en la evaluación sensorial

Escala	Valor asignado
Me gusta mucho	5
Me gusta ligeramente	4
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me disgusta ligeramente	2
Me disgusta mucho	1

Tabla A8.1. Escala utilizada en la evaluación sensorial

Color	
Escala	Promedio obtenido
Guayaba lote blanco	3.835
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)	3.403
Guayaba lote Qn (SA)	3.701
Uva lote blanco	3.742
Uva lote Q-Qn (MAC-141®)	3.320
Uva lote Qn (SA)	2.887

Tabla A8.2. Escala utilizada en la evaluación sensorial

Textura	
Escala	Promedio obtenido
Guayaba lote blanco	3.680
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)	3.371
Guayaba lote Qn (SA)	3.773
Uva lote blanco	3.567
Uva lote Q-Qn (MAC-141®)	3.175
Uva lote Qn (SA)	2.392

Tabla A8.3. Escala utilizada en la evaluación sensorial

Olor	
Escala	Promedio obtenido
Guayaba lote blanco	4.155
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)	4.278
Guayaba lote Qn (SA)	4.072
Uva lote blanco	2.794
Uva lote Q-Qn (MAC-141®)	2.866
Uva lote Qn (SA)	2.773

Tabla A8.4. Escala utilizada en la evaluación sensorial

Sabor	
Escala	Promedio obtenido
Guayaba lote blanco	4.299
Guayaba lote Q-Qn (MAC-141®)	4.041
Guayaba lote Qn (SA)	4.00
Uva lote blanco	2.794
Uva lote Q-Qn (MAC-141®)	2.722
Uva lote Qn (SA)	3.237

ANEXO 9

A9. CUESTIONARIO APLICADO EN EVALUACION SENSORIAL

Edad:

Sexo: M F

Frente a usted hay 6 muestra de mermeladas, pruebe de izquierda a derecha, de arriba abajo y al probarlas, no olvide tomar agua entre cada una de ellas.

1.- Sin degustar, marque con una X el cuadro que describa mejor su opinión sobre la muestra codificada en cuanto a su color.

	Muestras					
Escala	172	264	516	783	541	827
Me gusta mucho						
Me gusta ligeramente						
Ni me gusta ni me disgusta						
Me disgusta ligeramente						
Me disgusta mucho						

2.- Sin degustar, marque con una X el cuadro que describa mejor su opinión sobre la muestra codificada en cuanto a su textura.

	Muestras					
Escala	172	264	516	783	541	827
Me gusta mucho						
Me gusta ligeramente						
Ni me gusta ni me disgusta						
Me disgusta ligeramente						
Me disgusta mucho						

3.- Sin degustar, marque con una X el cuadro que describa mejor su opinión sobre la muestra codificada en cuanto a su olor.

	Muestras					
Escala	172	264	516	783	541	827
Me gusta mucho						
Me gusta ligeramente						
Ni me gusta ni me disgusta						
Me disgusta ligeramente						
Me disgusta mucho						

4.- Marque con una X el cuadro que describa mejor su opinión sobre la muestra codificada en cuanto a su sabor.

	Muestras					
Escala	172	264	516	783	541	827
Me gusta mucho						
Me gusta ligeramente						
Ni me gusta ni me disgusta						
Me disgusta ligeramente						
Me disgusta mucho						

5.- ¿Con qué frecuencia consume mermeladas?

a) todos los días b) Dos o tres veces a la semana c) una vez a la semana d) Una vez al mes e) Otro

6.- ¿Qué marcas son las que más consume?

a) McCormick b) SMUCKERS c) Clemente Jacques d) Great Value e) Otro

¡MUCHAS GRACIAS!

ANEXO 10

A10. HOJA DE SEGURIDAD DEL METANOL

FÓRMULA: CH₄O, CH₃OH

MASA MOLECULAR: 32.04 g/mol

COMPOSICIÓN: C: 37.48 %, H: 12.58 % y O: 49.93 %

GENERALIDADES:

Es un líquido incoloro, venenoso, con olor a etanol y cuando está puro puede tener un olor repulsivo. Arde con flama no luminosa. Es utilizado industrialmente como disolvente y como materia prima en la obtención de formaldehído, metil-ter-butyl éter, ésteres metílicos de ácidos orgánicos e inorgánicos. También es utilizado como anticongelante en radiadores automovilísticos; en gasolinas y diesel; en la extracción de aceites de animales y vegetales y agua de combustibles de automóviles y aviones; en la desnaturalización de etanol; como agente suavizante de plásticos de piroxilina y otros polímeros y como disolvente en la síntesis de fármacos, pinturas y plásticos. Durante mucho tiempo se obtuvo por destilación destructiva de madera a altas temperaturas, en la actualidad se produce por hidrogenación catalítica de monóxido de carbono a presiones y temperaturas altas, con catalizadores de cobre-óxido de cinc; por oxidación de hidrocarburos y como subproducto en la síntesis de Fischer-Tropsch.

PROPIEDADES FÍSICAS Y TERMODINÁMICAS:

Densidad (g/mL): 0.81 g/mL (0/4°C), 0.7960 (15/4°C), 0.7915 (20/4°C), 0.7866 (25/4°C)

Punto de fusión: -97.8°C

Punto de ebullición (°C): 64.7 (760 mm de Hg), 34.8 (400 mm de Hg), 34.8 (200 mm de Hg), 21.2 (100mm de Hg), 12.2 (60 mm de Hg), 5 (40 mm de Hg), -6 (20 mm de Hg), -16.2 (10 mm de Hg), - 25.3 (5 mm de Hg), -44 (1 mm de Hg)

Índice de refracción a 20°C: 1.3292

Densidad de vapor (aire = 1): 1.11

Punto de inflamación en copa cerrada (Flash point): 12°C

Punto de congelación: -97.68°C

Temperatura de ignición: 470°C

Límites de explosividad (% en volumen en el aire): 6-36.5

Temperatura crítica: 240°C

Presión crítica: 78.5 atm

Volumen crítico: 118 mL/mol

Calor de formación (kJ/mol): -239.03 (líquido a 25°C).

Energía libre de formación (kJ/mol): -166.81 (líquido a 25°C).

Calor de fusión (J/g): 103

Calor de vaporización en el punto de ebullición (J/g): 1129

Calor de combustión (J/g): 22 662 (a 25°C)

Temperatura de auto ignición: 380°C

Tensión superficial (din/cm): 22.6

Calor específico (J/g K): 1.37 (vapor a 25°C) y 2.533 (líquido a 25°C)

Presión de vapor (mm de Hg): 127.2 (a 25°C)

Viscosidad (cP): 0.541 (líquido a 25°C)
Momento dipolar: 1.69
Constante dieléctrica: 32.7 (a 25°C)
Conductividad térmica (W/m K): 0.202 (a 25°C)
Forma azeótropos con muchos compuestos

PROPIEDADES QUIMICAS:

Este producto reacciona violentamente con bromo, hipoclorito de sodio, dietil-cinc, disoluciones de compuestos de alquil-aluminio, trióxido de fósforo, cloruro cianúrico, ácido nítrico, peróxido de hidrógeno, sodio, ter-butóxido de potasio y perclorato de plomo. En general, es incompatible con ácidos, cloruros de ácido, anhídridos, agentes oxidantes, agentes reductores y metales alcalinos.

RIESGOS:

Riesgos de fuego y explosión: Es un producto inflamable. Sus vapores pueden explotar si se prenden en un área cerrada y pueden viajar a una fuente de ignición, prenderse y regresar al área donde se produjeron en forma de fuego. Los contenedores pueden explotar.

Riesgos a la salud:

El envenenamiento puede efectuarse por ingestión, inhalación o absorción cutánea. Y se debe, posiblemente, a su oxidación a ácido fórmico o formaldehído, esta oxidación se sabe que puede ser inhibida por etanol, pues el etanol es metabolizado de manera muy específica y desintoxica al organismo de metanol por medio de la respiración. Después de la muerte, el efecto más grave de este producto, es la ceguera permanente.

Inhalación: La exposición a una concentración mayor de 200 ppm produce dolor de cabeza, náusea, vómito e irritación de membranas mucosas. Concentraciones muy altas pueden dañar el sistema nervioso central y causar problemas en la visión. Los metabolitos de este producto (ácido fórmico y formaldehído) son metabolizados lentamente por el organismo, por lo que los efectos del metanol son acumulativos y una exposición constante aún a bajos niveles, puede causar muchos de los efectos mencionados arriba. Estos efectos varían con cada individuo.

Contacto con ojos: Tanto los vapores como el líquido son muy peligrosos, pues se ha observado que el metanol tiene un efecto específico sobre el nervio óptico y la retina.

Contacto con la piel: El contacto directo produce dermatitis y los efectos típicos (mencionados arriba) de los vapores de metanol que se absorben por la piel.

Ingestión: El envenenamiento por este medio se lleva a cabo frecuentemente por etanol adulterado y sus efectos dependen de la cantidad ingerida, pues, como se mencionó arriba, el etanol afecta el metabolismo del metanol. Generalmente una dosis de 25 a 100 ml resulta fatal. Al principio se produce una narcosis similar a la producida por el etanol, pero después de 10 a 15 horas se presentan daños más graves sobre el sistema nervioso central, específicamente sobre el nervio óptico y finalmente, se presentan los efectos agudos ya mencionados.

Carcinogenicidad: No se ha observado un incremento en el caso de cáncer en trabajadores expuestos a metanol, en estudios epidemiológicos.

Mutagenicidad: Resultó ser no mutagénico en estudios con Salmonella typhimuriumun y no indujo el intercambio de cromátida hermana.

Peligros reproductivos: En estudios con concentraciones altas de vapor (10000 ppm) se incrementan las malformaciones congénitas las cuales incluyen órganos urinarios y cardiovasculares. A concentraciones de 5000 ppm no se observaron estos efectos.

ACCIONES DE EMERGENCIA:

Primeros auxilios:

Inhalación: Mover a la víctima a un área bien ventilada y mantenerla abrigada. Si no respira, dar respiración artificial y oxígeno.

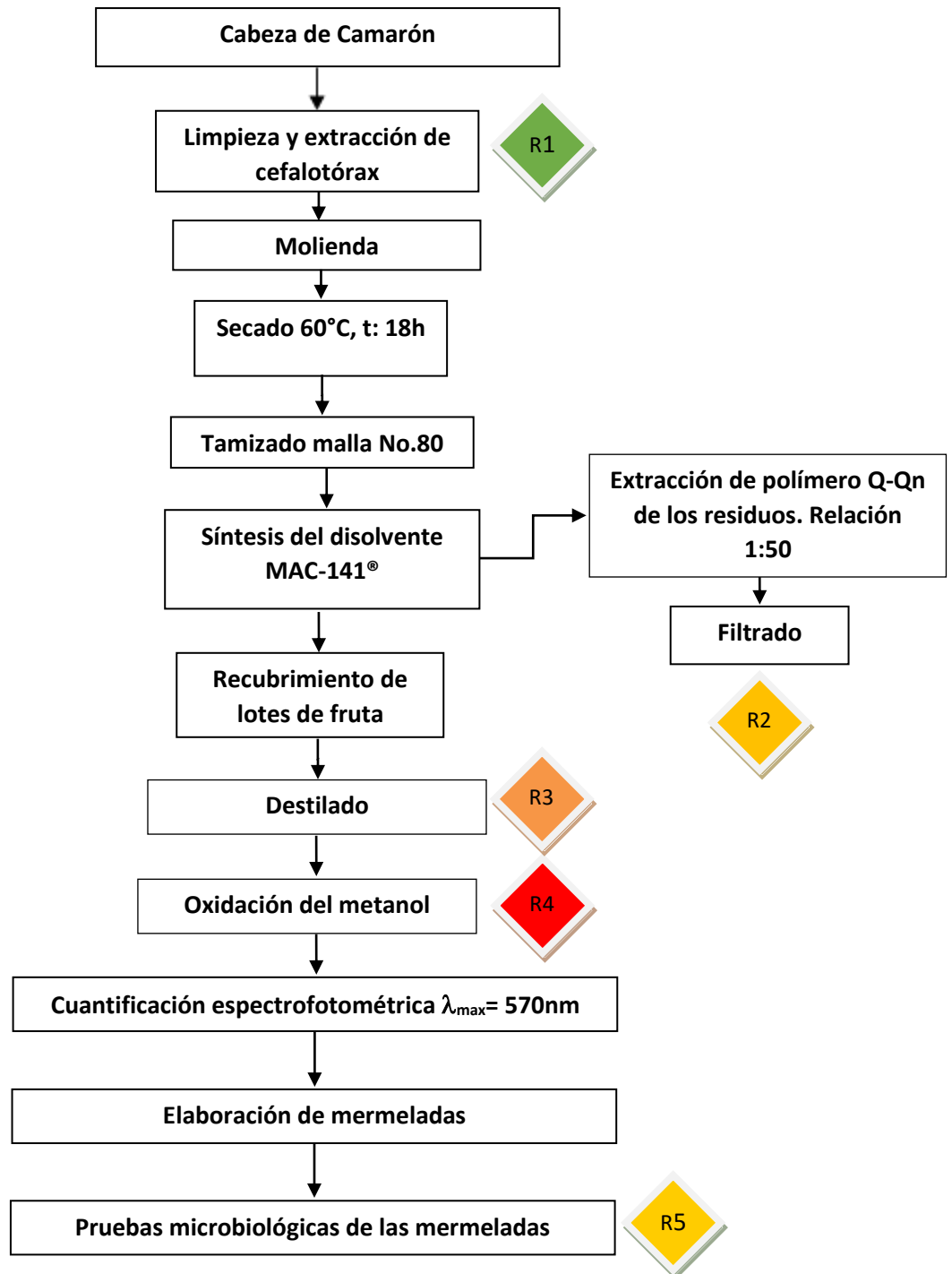
Ojos: Lavarlos con agua o disolución salina neutra en forma abundante, asegurándose de abrir los párpados con los dedos.

Piel: Lavar la zona dañada inmediatamente con agua y jabón. En caso necesario, quitar la ropa contaminada para evitar riesgos de inflamabilidad.

Ingestión: No inducir el vómito. Pueden utilizarse de 5 a 10 g de bicarbonato de sodio para contrarrestar la acidosis provocada por este producto y en algunos casos, se ha informado de hemodiálisis como método efectivo para este tipo de envenenamiento. EN TODOS LOS CASOS DE EXPOSICION, EL PACIENTE DEBE SER TRANSPORTADO AL HOSPITAL TAN PRONTO COMO SEA POSIBLE.

ANEXO 11

A11. DIAGRAMA ECOLÓGICO



R1: Residuos orgánicos no peligrosos. Se envían a disposición para producir composta o se desechan de forma adecuada en la basura orgánica.

R2: Metanol, CaCl_2 , restos de residuos de camarón. Se almacena cada uno en un recipiente adecuado, se etiqueta con todos los datos requeridos y se envía a la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM (UGA).

R3: Etanol, residuo de fruta. Los desechos de fruta al no ser peligrosos, al ser residuos orgánicos no peligrosos, se almacenan en una bolsa y se desechan de forma adecuada en la bolsa de basura orgánica.

R4: Metanol, H_2SO_4 , ácido oxálico, KMnO_4 , ácido cromotrópico, etanol. Se almacena cada uno por separado en un recipiente adecuado, se etiqueta con todos los datos requeridos y se envía a la Unidad de Gestión Ambiental de la Facultad de Química de la UNAM (UGA).

R5: Las cajas Petri de plástico con agar para métodos estándar y bacterias mesófilas, se almacenaron en una bolsa para residuos biológicos-infecciosos). Se esterilizaron en un autoclave y después fueron desechadas de forma adecuada en el contenedor.