



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DE UN RECUBRIMIENTO DE  
NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANO  
PORTADORAS DE EXTRACTO DE CÁSCARA DE  
GRANADA SOBRE LA INHIBICIÓN DE  
ANTRACNOSIS EN MANGO *Mangifera indica* L.  
VARIEDAD MANILA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**KAREN ALEXIA MARTÍNEZ ARAUJO**

ASESORA:

Dra. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2024



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**



**ASIENTO VOTO APROBATORIO**

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO**

**Directora del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.**

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

**Efecto de un recubrimiento de nanopartículas de quitosano portadoras de extracto de cáscara de granada sobre la inhibición de antracnosis en mango Mangifera indica L. variedad manila.**

Que presenta la pasante: **Karen Alexia Martínez Araujo**

Con número de cuenta: **315056668** para obtener el título de: **Ingeniera en Alimentos.**

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

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de Febrero de 2024.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Susana Patricia Miranda Castro	
<b>VOCAL</b>	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

---

---

## DEDICATORIAS

A mis padres, Virginia Araujo y Rodrigo Martínez, quienes han dedicado esfuerzo, trabajo y entrega destinados a mi crecimiento como persona y profesionista. Sin su apoyo incondicional, llegar hasta aquí hubiera sido imposible. Gracias por sus consejos invaluable y sus regaños oportunos. Son los principales impulsores de mis sueños, y agradezco cada día por su confianza en mí, así como por cada palabra que me ha guiado a lo largo de mi vida. Jamás podré pagarles todo el esfuerzo que han hecho por mí, pero espero que esta tesis sea un pequeño tributo a su amor y dedicación. Ahora pueden ver un pequeño fruto de todo su esfuerzo, y celebro mis logros, que hoy también son los suyos. Los amo más de lo que las palabras pueden expresar

A mis hermanos Anelisse y Rodrigo, que son de las personas más importantes de mi vida. Son una gran motivación para seguir creciendo. A través de esta tesis, quiero dedicarles un pequeño homenaje por ser mis compañeros de vida, mis cómplices de travesuras y mis confidentes más fieles. Siempre estaré aquí para apoyarlos, guiarlos y celebrar sus éxitos. Que esta dedicatoria sirva como un recordatorio de que, aunque el camino pueda ser largo y lleno de desafíos, siempre tendrán a alguien en quien confiar y a quien recurrir. Los amo.

A la memoria de mi abuelo Aurelio Martínez, quien partió demasiado pronto pero cuyo espíritu y sabiduría han sido mi guía. Aunque no estés físicamente conmigo, sé que estas mirando desde algún lugar, lleno de orgullo y amor. Tu fe inquebrantable en mí, incluso cuando era solo una niña, ha sido mi inspiración constante. Esta tesis está dedicada a ti, porque gracias a ti, hoy puedo afirmar que soy capaz de lograr cualquier sueño. Te extraño y te amo siempre.

A Alfredo Contreras, por apoyarme, acompañarme y alentarme todo este tiempo. A mis amigos por su amistad y las buenas experiencias. Especialmente a Francisco Miranda y Jorge Soriano por su apoyo y ánimo. A Daniela por permitirme ser su amiga desde el inicio de la carrera, por ser mi compañera de clases y algunos desvelos. A Paulina por sus consejos y anécdotas, a Adela por hacer amenas y divertidas mis tardes en el laboratorio, por su compañía, apoyo y consejos.

---

---

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesora de tesis, la Dra. Susana Patricia Miranda Castro, que desde el comienzo de esta travesía para finalizar mis estudios universitarios, me ayudó a crecer a través de su experiencia y conocimiento. Siempre fue un honor aprender de ella, y la respeto en demasía por su trayectoria y calidad humana. Gracias por abrirme las puertas de su laboratorio y su apoyo incondicional en esta investigación.

Al laboratorista Juan Manuel Pérez Lazo por toda la ayuda y atención brindada.

A mis sinodales la Dra. Susana Patricia Miranda Castro, I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez, Dra. Elsa Gutiérrez Cortez, Dra. María Andrea Trejo Márquez y Q.F.B. Jonathan Pablo Paredes Flores por su apoyo, conocimiento y colaboración en la revisión de este trabajo.

Al Dr. Julio Cesar Morales Mejía por su apoyo y proporcionarme el préstamo de su espectrofotómetro.

A la Dra. Maria Eugenia Aranda Barradas y al Dr. Samuel Álvarez Almazán por su apoyo y ayuda.

A aquellos profesores que marcaron mi vida, les expreso mi admiración y gratitud por los conocimientos y experiencia que adquirí gracias a su esfuerzo y vocación. Angelica Maria Vázquez Monroy, Margarita Ordoñez Andrade, Antonio Trejo Lugo, Saturnino Maya Ramírez, Laura Margarita Cortázar Figueroa, Miriam Edith Fuentes Romero, Virginia Agustina Delgado Reyes, Francisco Javier López Martínez, María de Jesús Cruz Onofre, Ricardo Moisés Gonzáles Reza, Sara Esther Valdés Martínez, Julio Cesar Morales Mejía, Alfonso Acevedo Soriano, Verenice Trujillo Albarrán, Dolores Molina Jasso, Edith Mayela Casados Franco. Gracias por ser una inspiración, gracias por su pasión.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a mi amada Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, incluyendo a todo su personal, que en conjunto me permitieron desarrollarme, crecer y formarme como ingeniera en alimentos, dispuesta a poner en alto el nombre de mi universidad y alma máter. Es un orgullo tener sangre azul y piel dorada.

A todos aquellos compañeros que han decidido realizar tesis, les digo lo siguiente: Para llegar hasta este punto, habrá momentos en los que llorarán, se sentirán estresados, trasnocharán, y habrá días en los que estarán tan cansados que desearán rendirse, días en los que no tendrán ganas de

---

---

seguir adelante. Pero créanme, nada dará más satisfacción que poder decir “lo logré”. Así que no se rindan, porque esto es apenas el comienzo de grandes cosas.

**“Por mi raza hablará el espíritu”**

Karen Alexia Martínez Araujo

Ingeniería en Alimentos

Generación 42

---

---

## AGRADECIMIENTOS

A la Cátedra CI2217 “Desarrollo de nanopartículas a base de quitosán por el método de gelación iónica para fines de terapia génica y encapsulación de proteínas” por brindarme parte del material utilizado en dicho proyecto.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>.....</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
1.1. Frutos .....	3
1.1.1. Mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) .....	6
1.1.1.1. Origen. ....	6
1.1.1.2. Taxonomía. ....	7
1.1.1.3. Descripción botánica.....	7
1.1.1.4. Composición química. ....	9
1.1.1.5. Variedades.....	10
1.1.1.5.1. Temporadas de mango en México. ....	15
1.1.1.6. Producción y exportación.....	16
1.1.1.7. Cambios fisiológicos asociados al proceso de maduración. ....	18
1.1.1.8. Plagas, enfermedades y daños fisiológicos. ....	21
1.1.1.8.1. Antracnosis. ....	23
1.1.1.8.1.1. Manejo de la Antracnosis.....	25
1.1.1.9. Normatividad. ....	27
1.1.1.10. Aprovechamiento.....	29
1.1.1.11. Conservación.....	30
1.1.2. Granada ( <i>Punica granatum</i> L.) .....	32
1.1.2.1. Taxonomía. ....	32
1.1.2.2. Descripción botánica.....	33
1.1.2.3. Componentes bioactivos. ....	34
1.2. Extractos vegetales.....	36
1.2.1. Extracto de granada.....	36
1.2.1.1. Función antimicrobiana.....	38
1.2.1.1.1. Mecanismo de acción de los antimicrobianos naturales. ....	39
1.2.1.2. Función Antifúngica. ....	40
1.2.1.3. Función Antioxidante.....	41
1.3. Polímeros .....	42
1.4. Biopolímeros.....	43
1.5. Quitina.....	44

1.5.1. Desacetilación .....	45
1.6. Qitosano .....	46
1.6.1. Peso molecular .....	47
1.6.2. Propiedades .....	48
1.6.3. Aplicaciones.....	49
1.7. Envasado activo .....	51
1.7.1. Envasado activo antimicrobiano .....	51
1.8. Películas y recubrimientos comestibles .....	52
1.8.1. Características y propiedades.....	53
1.8.2. Recubrimientos y películas de qitosano.....	54
1.9. Nanotecnología .....	55
1.9.1. Nanopartículas poliméricas.....	56
1.9.2. Métodos de elaboración de las nanopartículas.....	57
1.9.3. Nanopartículas de qitosano .....	58
1.9.4. Recubrimientos con nanopartículas .....	59
1.9.5. Objetivos de la Nanotecnología .....	60
1.9.6. Aplicaciones de la nanotecnología en el sector alimentario .....	60
<b>CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL .....</b>	<b>62</b>
2.1. Cuadro Metodológico .....	62
2.2. Objetivos .....	63
2.2.1. Objetivo general.....	63
2.2.2. Objetivos particulares .....	63
2.3. Materiales y métodos .....	64
2.3.1. Preparación medios de cultivo .....	64
2.3.2. Aislamiento y purificación del hongo.....	65
2.3.3. Preparación microcultivos.....	67
2.3.4. Extracción de qitosano .....	68
2.3.5. Caracterización molecular del qitosano .....	69
2.3.5.1. Determinación de viscosidad intrínseca y peso molecular promedio ( $M_w$ ). .....	70
2.3.5.2. Grado de desacetilación (GD).....	72
2.3.6. Obtención del extracto de cáscara de granada (ECG).....	73
2.3.6.1. Extracción Etanólica .....	74
2.3.6.2. Extracción acuosa .....	75
2.3.7. Pruebas <i>in vitro</i> de comparación extractos cáscara de granada .....	75

2.3.8. Síntesis nanopartículas de quitosano (QNP) cargadas con extracto de cáscara de granada (ECG).....	76
2.3.9. Caracterización de nanopartículas de quitosano .....	80
2.3.9.1. Contenido fenólico total (CFT).....	80
2.3.9.2. Eficiencia de encapsulación (EE).....	81
2.3.9.3. Potencial zeta y tamaño de partícula.....	81
2.3.10. Obtención y selección del mango .....	81
2.3.11. Preparación recubrimientos.....	82
2.3.12. Aplicación de recubrimientos .....	83
2.3.13. Determinación de parámetros fisiológicos.....	83
2.3.13.1. Pérdida fisiológica de peso. ....	83
2.3.14. Determinación parámetros fisicoquímicos.....	84
2.3.14.1. Sólidos solubles.....	84
2.3.14.2. pH y acidez.....	85
2.3.14.3. Índice de madurez. ....	86
2.3.14.4. Color. ....	86
2.3.15. Determinación parámetros microbiológicos .....	87
2.3.15.1. Severidad de Antracnosis.....	87
2.3.16. Análisis Estadístico .....	88
<b>CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>89</b>
3.1. Caracterización del hongo.....	89
3.2. Caracterización quitosano .....	90
3.2.1. Rendimiento.....	90
3.2.2. Grado de desacetilación (GD).....	91
3.2.3. Peso molecular promedio viscosimétrico ( $M_w$ ).....	94
3.3. Pruebas <i>in vitro</i> comparación extractos cáscara de granada .....	97
3.4. Caracterización nanopartículas de quitosano.....	100
3.4.1. Eficiencia de encapsulación.....	100
3.4.2. Potencial zeta y tamaño de partícula.....	103
3.5. Parámetros fisiológicos .....	105
3.5.1. Pérdida fisiológica de peso .....	105
3.6. Parámetros fisicoquímicos .....	109
3.6.1. Sólidos solubles.....	109
3.6.2. pH y acidez .....	111
3.6.3. Índice de madurez .....	116

---

---

3.6.4. Color .....	118
3.7. Parámetros microbiológicos.....	123
3.7.1. Severidad de Antracnosis.....	123
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>128</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>130</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>131</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>136</b>

ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Patrón de respiración de frutas climatéricas durante la maduración.. ..... 4

**Figura 2.** Fases de la maduración y su relación con la calidad organoléptica ..... 6

**Figura 3.** Árbol de mango ..... 7

**Figura 4.** Botánica de la planta de *Mangifera indica*.. ..... 8

**Figura 5.** Partes del mango ..... 9

**Figura 6.** Mango variedad “Haden” ..... 11

**Figura 7.** Mango variedad “Tommy Atkins” ..... 11

**Figura 8.** Mango variedad “Keitt” ..... 12

**Figura 9.** Mango variedad “Kent” ..... 12

**Figura 10.** Mango variedad “Ataulfo” ..... 13

**Figura 11.** Mango variedad “Manila” ..... 14

**Figura 12.** Mango criollo ..... 14

**Figura 13.** Calendario de temporalidad de mango en sus diferentes variedades ..... 15

**Figura 14.** Distribución de la exportación mundial de mango en el año 2022..... 16

**Figura 15.** Producción nacional de mango de 2013 a 2020 ..... 17

**Figura 16.** Principales entidades productoras de mango, 2020..... 18

**Figura 17.** Principales cambios fisiológicos del mango durante la maduración ..... 19

**Figura 18.** Plagas y enfermedades más comunes del mango ..... 23

**Figura 19.** Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en mango ..... 25

**Figura 20.** Granada (*Punica granatum* L.) ..... 32

**Figura 21.** Botánica del árbol *Punica granatum* L. .... 33

**Figura 22.** La granada y sus diferentes partes..... 34

**Figura 23.** Mecanismo de acción antimicrobiano de los compuestos fenólicos ..... 40

**Figura 24.** Capacidad de los compuestos fenólicos para neutralizar radicales libres mediante la donación de electrones y proteger biomoléculas del daño oxidativo. .... 42

**Figura 25.** Estructura química de la quitina. .... 45

**Figura 26.** Representación de las cadenas de quitina totalmente acetilada y quitosano totalmente desacetilado..... 46

**Figura 27.** Estructura química del quitosano ..... 47

**Figura 28.** Posibles aplicaciones de la nanotecnología en los productos alimentarios ..... 61

**Figura 29.** Preparación medios de cultivo..... 65

**Figura 30.** Cultivo de hongo *Collectotrichum*. .... 65

**Figura 31.** Colonias aisladas de hongos presentes en mango variedad Manila. .... 66

<b>Figura 32.</b> Colonias aisladas por hisopo presentes en mango variedad Manila.....	<b>66</b>
<b>Figura 33.</b> Microcultivos de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	<b>67</b>
<b>Figura 34.</b> Preparación exoesqueletos de camarón .....	<b>68</b>
<b>Figura 35.</b> Proceso de extracción de quitina y su conversión a quitosano .....	<b>69</b>
<b>Figura 36.</b> Determinación de peso molecular promedio del quitosán por viscosimetría capilar. ....	<b>70</b>
<b>Figura 37.</b> Determinación del grado de desacetilación del quitosán por titulación potenciométrica.....	<b>72</b>
<b>Figura 38.</b> Secado en estufa de cáscara de granada variedad Wonderful. ....	<b>74</b>
<b>Figura 39.</b> Extracto etanólico. ....	<b>74</b>
<b>Figura 40.</b> Extracción acuosa cáscara de granada en baño térmico. ....	<b>75</b>
<b>Figura 41.</b> Medición crecimiento micelial de <i>Colletotrichum</i> . ....	<b>76</b>
<b>Figura 42.</b> Síntesis de nanopartículas de quitosán por el método de gelificación iónica.....	<b>79</b>
<b>Figura 43.</b> Determinación de polifenoles totales .....	<b>80</b>
<b>Figura 44.</b> Mangos variedad “Manila” seleccionados en grado de madurez fisiológica .....	<b>82</b>
<b>Figura 45.</b> Aplicación de recubrimientos en mangos variedad “Manila”. ....	<b>83</b>
<b>Figura 46.</b> Medición peso del mango.....	<b>84</b>
<b>Figura 47.</b> Lectura sólidos solubles en mangos variedad “Manila”.....	<b>85</b>
<b>Figura 48.</b> Determinación de pH.....	<b>85</b>
<b>Figura 49.</b> Determinación de ácido cítrico.....	<b>86</b>
<b>Figura 50.</b> Medición por medio de la aplicación Color Grab .....	<b>87</b>
<b>Figura 51.</b> Medición de las manchas de antracnosis en mangos variedad “Manila” .....	<b>88</b>
<b>Figura 52.</b> Morfología de colonias de <i>Colletotrichum</i> de mango variedad “Manila” .....	<b>90</b>
<b>Figura 53.</b> Curvas de titulación de las soluciones de quitosano.....	<b>92</b>
<b>Figura 54.</b> Primera derivada de las curvas de titulación de las soluciones de quitosano. ....	<b>92</b>
<b>Figura 55.</b> Viscosidad reducida frente a la concentración .....	<b>96</b>
<b>Figura 56.</b> Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de <i>Colletotrichum</i> por extractos de cáscara de granada de <i>Punica granatum</i> en etanol y agua. ....	<b>99</b>
<b>Figura 57.</b> Distribución de tamaño de partícula.....	<b>103</b>
<b>Figura 58.</b> Potencial zeta de las QNP portadoras de extracto de cáscara de granada .....	<b>104</b>
<b>Figura 59.</b> Efecto de la aplicación de recubrimiento (QN y QN con QNP) en mangos variedad “Manila” sobre la pérdida fisiológica de peso .....	<b>105</b>
<b>Figura 60.</b> Mangos variedad “Manila” a) grupo control, b) recubrimiento QN más glicerol y c) recubrimiento QN con QNP .....	<b>108</b>
<b>Figura 61.</b> Efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano en el contenido de sólidos solubles de mango variedad “Manila” .....	<b>109</b>

**Figura 62.** Efecto de la aplicación de recubrimientos a base quitosán en el pH de los mangos variedad “Manila” ..... 112

**Figura 63.** Cambios en el contenido de acidez de los mangos en función del tiempo de almacenamiento ..... 114

**Figura 64.** Índice de madurez (IM) de mangos variedad “Manila” a  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 7 días de almacenamiento ..... 117

**Figura 65.** Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de quitosán y quitosán con QNP en el ángulo de tono de mangos variedad “Manila” ..... 119

**Figura 66.** Efecto de los recubrimientos comestibles a base de quitosano e incorporados con glicerol y nanopartículas encapsuladoras de extracto de cáscara de granada en las coordenadas cromáticas ( $a^*$ ,  $b^*$ ) de mango “Manila” ..... 121

**Figura 67.** Efecto de recubrimientos comestibles a base de quitosano e incorporados con glicerol y nanopartículas encapsuladoras de extracto de cáscara de granada sobre la luminosidad (L) de mango “Manila” ..... 122

**Figura 68.** Severidad de la antracnosis en frutos de mango variedad “Manila” ..... 124

**Figura 69.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable pérdida fisiológica de peso..... 131

**Figura 70.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable sólidos solubles. .... 131

**Figura 71.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable pH. .... 132

**Figura 72.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable acidez titulable. .... 132

**Figura 73.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable índice de madurez..... 133

**Figura 74.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable ángulo de tono. .... 133

**Figura 75.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable luminosidad..... 134

**Figura 76.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable coordenada cromática  $a^*$ ..... 134

**Figura 77.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable coordenada cromática  $b^*$ . .... 135

**Figura 78.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable severidad de antracnosis..... 135

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de Mangifera.....	7
<b>Tabla 2.</b> Composición química del mango.....	10
<b>Tabla 3.</b> Plagas y enfermedades más comunes del mango.....	22
<b>Tabla 4.</b> Clasificación taxonómica de Punica .....	32
<b>Tabla 5.</b> Principales compuestos funcionales en las diferentes partes de la granada. ....	34
<b>Tabla 6.</b> Estructuras moleculares de los polifenoles de la cáscara de granada .....	37
<b>Tabla 7.</b> Condiciones de síntesis de nanopartículas de quitosán portadoras de extracto de cáscara de granada.....	79
<b>Tabla 8.</b> Puntos de inflexión menores (x) y mayores (y); y pesos del quitosano (w) .....	93
<b>Tabla 9.</b> Grado de N-desacetilación (%NH <sub>2</sub> ) del quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón.....	93
<b>Tabla 10.</b> Tiempos de caída; y parámetros viscosimétricos de las soluciones de quitosán .....	95
<b>Tabla 11.</b> Comparación de los diferentes extractos empleados en la inhibición de Colletotrichum gloeosporioides. ....	97
<b>Tabla 12.</b> Efecto de las condiciones de síntesis de nanopartículas de QN sobre la eficiencia de encapsulación.....	101
<b>Tabla 13.</b> Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de QN con glicerol y QN con QNP en mangos de la variedad “Manila” .....	120
<b>Tabla 14.</b> Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de QN con glicerol y QN con QNP en mangos de la variedad “Manila” sobre la severidad de la antracnosis.....	125

## RESUMEN

La importancia de las frutas en la dieta humana es innegable debido a sus beneficios nutrimentales para la salud, y su consumo ha aumentado en los últimos años debido a su asociación con la prevención de enfermedades crónicas y la mejora de la calidad de vida. Sin embargo, la conservación de frutas frescas es un desafío debido a su susceptibilidad a patógenos y a la pérdida de calidad durante el almacenamiento. En respuesta, la ciencia de los alimentos ha explorado los recubrimientos comestibles, como el quitosano, en combinación con la nanotecnología aplicada a la conservación de alimentos, que tiene grandes expectativas enfocadas en la encapsulación de compuestos activos, como el extracto de la cáscara de granada, debido a su riqueza en compuestos bioactivos, como polifenoles, flavonoides y ácido elágico. Estos compuestos han demostrado tener propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano, con y sin nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada, en la inhibición del hongo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* y en la vida útil de los mangos. El mango fue seleccionado en función de su madurez y se les aplicaron recubrimientos comestibles, incluyendo quitosano con glicerol y quitosano con nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada. Se monitorearon parámetros clave como la pérdida fisiológica de peso, sólidos solubles, pH, acidez titulable y parámetros de perfil de color. Los resultados demostraron que los recubrimientos extendieron la vida útil del mango al reducir la respiración y, en el caso del recubrimiento con nanopartículas, se inhibió al 100 % la antracnosis. Sin embargo, este recubrimiento produjo un efecto contraproducente sobre la respiración del fruto, provocando el desarrollo de algunas características indeseables en el mango. En conclusión, el recubrimiento de quitosano en combinación con glicerol fue el tratamiento más efectivo para mantener las propiedades del mango y prolongar su vida útil.

**Palabras clave:** *Colletotrichum*; conservación; mango; nanotecnología; quitosano; recubrimientos.

## INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas ha experimentado un notable aumento en los últimos años, impulsado por un cambio en los hábitos alimenticios hacia productos naturales con alta calidad y apariencia fresca, y por el reconocimiento de su valor nutricional y sus beneficios para la salud. Las frutas, como el mango (*Mangifera indica* L. variedad Manila), son una fuente rica de nutrientes esenciales, antioxidantes y fibras que promueven la salud y el bienestar humano. Sin embargo, el desperdicio de alimentos, particularmente en el caso de frutas y hortalizas, sigue siendo un desafío global. En México, uno de los principales productores de mango a nivel mundial, una parte significativa de la cosecha se pierde debido a la rápida degradación poscosecha, en gran parte atribuida a la antracnosis (Santos et al.,2011).

La antracnosis, causada por el hongo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides*, es una de las principales enfermedades que afecta al mango. Esta enfermedad se manifiesta como lesiones necróticas en la piel de la fruta, lo que no solo reduce su calidad y valor comercial, sino que también contribuye al desperdicio de alimentos. La lucha contra la antracnosis es un desafío constante para los productores de mango y la industria procesadora de frutas (Rondón et al.,2006).

En este contexto, la búsqueda de soluciones innovadoras para prolongar la vida útil de los mangos y reducir las pérdidas poscosecha se vuelve imperativa. Una estrategia prometedora es la aplicación de recubrimientos comestibles, que pueden actuar como barreras físicas para proteger la fruta de factores externos, como la humedad y los patógenos.

El quitosano, un polisacárido natural derivado de la quitina, ha demostrado ser efectivo en la creación de recubrimientos que pueden mejorar la calidad y la vida útil de las frutas (Bautista et al.,2017).

En este estudio, se aborda el desafío de la antracnosis en mangos mediante la aplicación de recubrimientos de quitosano. Además, se explora una dimensión innovadora al incorporar nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada en estos recubrimientos. La granada es conocida por su riqueza en compuestos bioactivos, como polifenoles y ácido elágico, que poseen propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes (Rebolledo et al, 2008).

La nanotecnología ofrece la oportunidad de liberar de manera controlada estos compuestos en la superficie del mango (Ojeda et al.,2019), lo que podría mejorar aún más su capacidad para inhibir el crecimiento del hongo patógeno y prolongar la vida útil del mango.

El objetivo general de este proyecto de tesis es evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano, con y sin nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada, en la inhibición del hongo patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* y en la vida útil de los mangos. Para lograrlo, se llevaron a cabo análisis de cambios físicos, fisicoquímicos y microbiológicos en los mangos tratados.

Este estudio no solo contribuye al conocimiento científico en el campo de la conservación de frutas, sino que también podría tener un impacto significativo en la industria agrícola y en la reducción del desperdicio de alimentos, asegurando una mayor disponibilidad de mangos de alta calidad para los consumidores.

## CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

### 1.1. Frutos

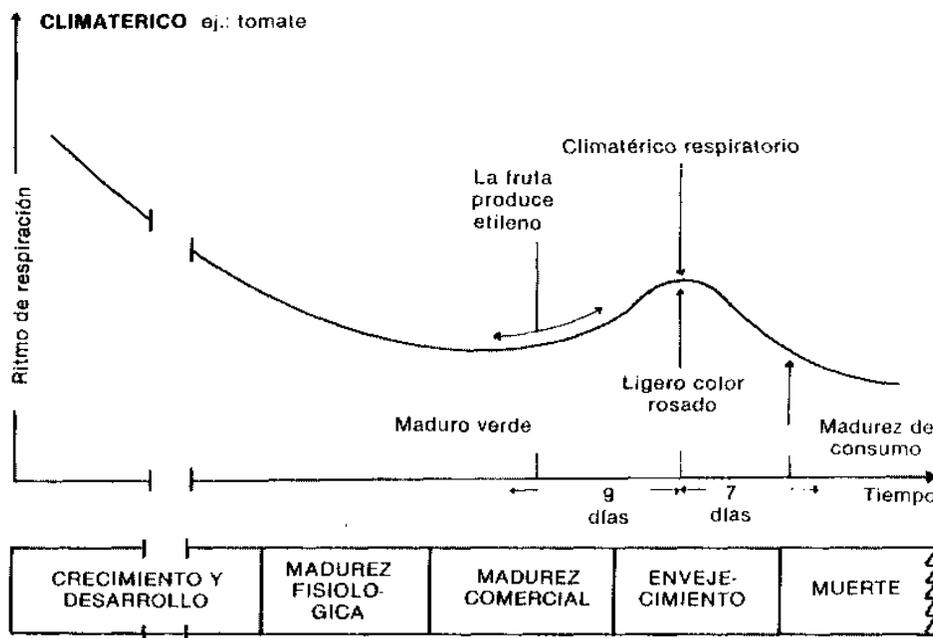
Las frutas son los cultivos hortícolas más deliciosos y atractivos debido a su riqueza en vitaminas, antioxidantes y otros nutraceuticos esenciales para una dieta saludable. Estas cualidades han llevado al reconocimiento de su importancia en la dieta habitual de los consumidores, lo que a su vez ha generado demandas adicionales para la industria hortofrutícola. Se le pide que aseguren la disponibilidad de estos productos durante todo el año en el mercado mundial (FAO, 2020) y que minimicen el uso de productos químicos sintéticos en su producción y manejo postcosecha (Fox & Cameron,2006).

Aunque generalmente se cosechan las frutas cuando han alcanzado su óptimo aspecto visual o comestible, como sistemas biológicos, estas comienzan a perder sus cualidades organolépticas una vez cosechadas, volviéndose inaceptables para el consumidor (Willis, 2002). Es por esto que, en ocasiones, se cosechan antes de alcanzar la madurez adecuada y adquieren sus cualidades sensoriales durante su transporte y almacenamiento, volviéndose más agradables al alcanzar una madurez comestible óptima (Bosques & Colina, 2014).

Es importante destacar que los avances en agrotécnicas, la cosecha oportuna y el manejo adecuado después de la cosecha han contribuido a mejorar la cuota de mercado de los cultivos frutales. Sin embargo, prolongar la vida útil de estos productos enfrenta dos problemas fundamentales. El primero radica en que el tejido vegetal, tanto entero como cortado, permanece metabólicamente activo, lo que desencadena procesos de deterioro como la deshidratación, oxidación, aumento en la tasa de respiración y actividad enzimática. Estos procesos se intensifican

durante el procesamiento y conducen a la pérdida de calidad (Rosen & Kader,1989; Watada et al.,1996). El segundo problema surge cuando se elimina la protección natural del producto, disminuyendo así su vida útil debido al mayor riesgo de desarrollo microbiano, deshidratación superficial, cambios de textura, desarrollo de malos olores y sabores, así como la decoloración u oscurecimiento de la superficie (Kays,1999).

A lo largo de su ciclo de vida, el fruto pasa por una serie de etapas fisiológicas fundamentales: crecimiento, maduración y senescencia. Estas etapas están relacionadas con las demandas del mercado, pero la más significativa y compleja es el proceso de maduración. Esto se debe a que implica una profunda reestructuración metabólica y química dentro del fruto. En el caso de los frutos climatéricos, este proceso está principalmente controlado por el etileno y su actividad respiratoria (Figura 1) (Brezmes, 2001).



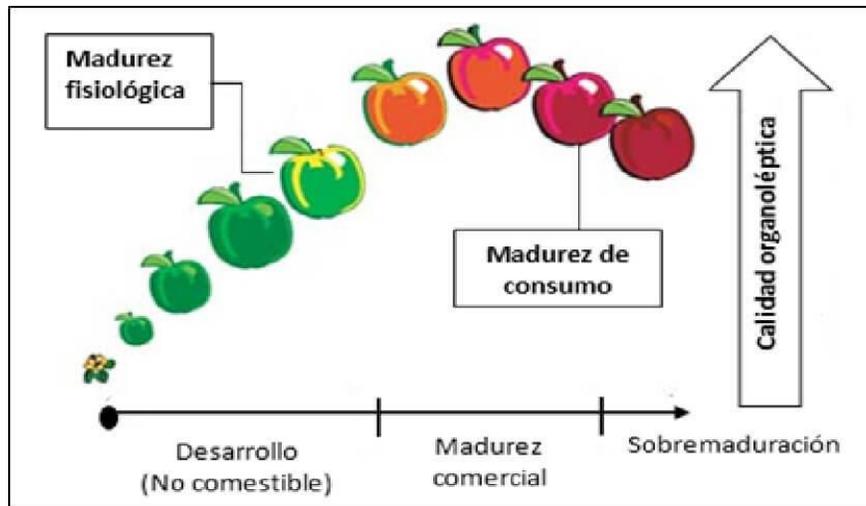
**Figura 1.** Patrón de respiración de frutas climatéricas durante la maduración. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], (1987).

La maduración puede dividirse en dos fases: la fase de maduración fisiológica y la de maduración organoléptica (Figura 2). La primera suele comenzar antes de que finalice el crecimiento celular y concluye, más o menos, cuando el fruto alcanza su tamaño máximo y las semillas están listas para producir nuevas plantas. El crecimiento y la maduración fisiológica se completan adecuadamente únicamente en el árbol (Martínez et al.,2017).

Por otro lado, la maduración organoléptica o de consumo se refiere al proceso mediante el cual las frutas adquieren las características sensoriales que las definen como comestibles. Se trata, por lo tanto, de un proceso que transforma un tejido fisiológicamente maduro pero no comestible en otro que es visual, olfativo y gustativamente atractivo (Leopold & Kriedemann, 1975). La maduración organoléptica puede completarse tanto en el árbol como después de la recolección de la fruta e implica los siguientes cambios en el fruto:

1. La modificación del color mediante alteraciones en el contenido de clorofilas, carotenoides y la acumulación de flavonoides.
2. La modificación de la textura a través de cambios en la turgencia celular y la estructura de la pared celular, así como por cambios metabólicos.
3. La modificación de azúcares, ácidos orgánicos y compuestos volátiles que afecta la calidad nutricional, el sabor y el aroma del fruto.
4. Aumento de la susceptibilidad al ataque de patógenos oportunistas que están relacionados con la pérdida de integridad de la pared celular (Giovannoni,2004; Seymour et al.,2013; Dos Santos et al.,2015).

En general, esta etapa es un proceso que comienza durante los últimos días de maduración fisiológica y que conduce de manera irreversiblemente a la senescencia de la fruta.



**Figura 2.** Fases de la maduración y su relación con la calidad organoléptica. López, (2003).

### 1.1.1. Mango (*Mangifera indica* L.)

#### 1.1.1.1. Origen.

El mango (*Mangifera indica* L.) tuvo su origen en el Noroeste de la India (Assam), la región Indo-Birmánica y las montañas de Chittagong en Bangladesh, donde crecía de forma silvestre. Desde allí se dispersó hacia otras partes del mundo, incluyendo América.

En México, la primera introducción de esta especie se realizó a finales del siglo XVIII. El mango Manila fue traído por los españoles desde China al puerto de Acapulco, donde se cultivó y finalmente se dispersó y desarrolló en la Costa del Golfo de México, especialmente en el estado de Veracruz. La segunda introducción se llevó a cabo a principios del siglo XIX, cuando se importaron mangos desde las Antillas a la Costa del Golfo de México. Estos mangos eran principalmente de variedades monoembriónicas que se diseminaron por la región tropical del país y dieron origen a lo que ahora llamamos mangos criollos. La tercera introducción tuvo lugar en la década de 1950, cuando se propagaron injertos de mango y se diseminaron por los estados del Pacífico, Centro y Norte de México, y más tarde en la región tropical del país. A partir de estos

nuevos cultivos surgieron variedades como Haden, Kent, Keitt y Sensation, que popularmente se les conoce como “mangos petacones”. Este fue el inicio de la producción moderna de mango en México (Villanueva, 2016).

### 1.1.1.2. Taxonomía.

De acuerdo a la clasificación taxonómica el mango se ubica de la siguiente manera:

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de *Mangifera*

Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Suborden	Anacardiineae
Familia	Anacardiaceae
Género	<i>Mangifera</i>
Especie	<i>Indica</i>
Nombre común	Mango



*Gamboa & Mora (2010)*

**Figura 3.** Árbol de mango

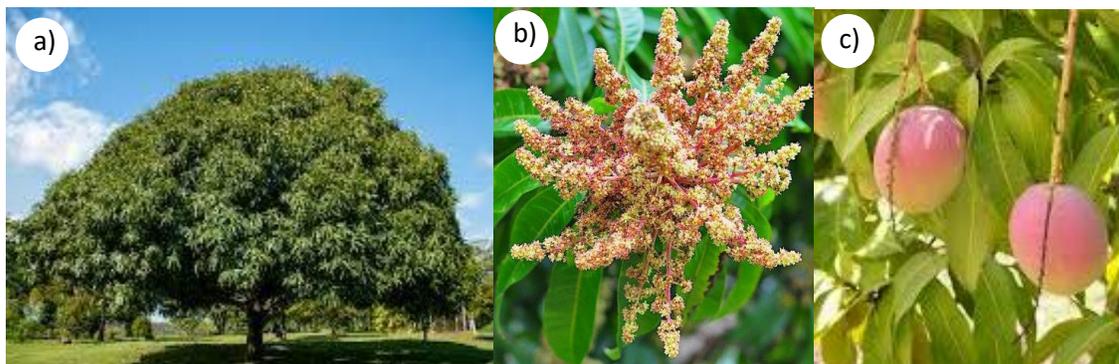
El mango (*Mangifera indica* L.) (Figura 3) es un miembro de la familia de las *Anacardiaceae*, también conocida como la familia del marañón. Esta familia comprende árboles y arbustos que producen flores vistosas dispuestas en grandes racimos, y sus frutos son generalmente drupas o samaroides, a menudo atractivos, vistosos y comestibles.

### 1.1.1.3. Descripción Botánica.

El mango, pertenece al género *Mangifera* (Figura 4), que comprende 49 especies. Se trata de un árbol que suele medir entre 10 y 30 metros de altura. Su tronco es recto y posee una corteza de color gris-café. Las ramas son gruesas, robustas y redondeadas, presentando una superficie lisa y de color opaco.

Las hojas son simples, con formas y tamaños variables, pueden ser oblongo-lanceadas, acuminadas o rectas, y muestran un color verde amarillento en el envés. En su estado inmaduro, estas hojas adquieren un tono violeta rojizo o bronceado, que posteriormente se transforma en verde claro y, finalmente, en verde oscuro a medida que maduran (Coello et al.,1997).

Las flores se distribuyen en una panícula ramificada con apariencia piramidal, la cual posee un tallo de tonalidad morada o rosada. Estas flores, que pueden variar entre tonos amarillos y rojizos, se encuentran en las terminales de las ramas, formando panículas densas que pueden albergar hasta 2000 flores diminutas (Coello et al.,1997).

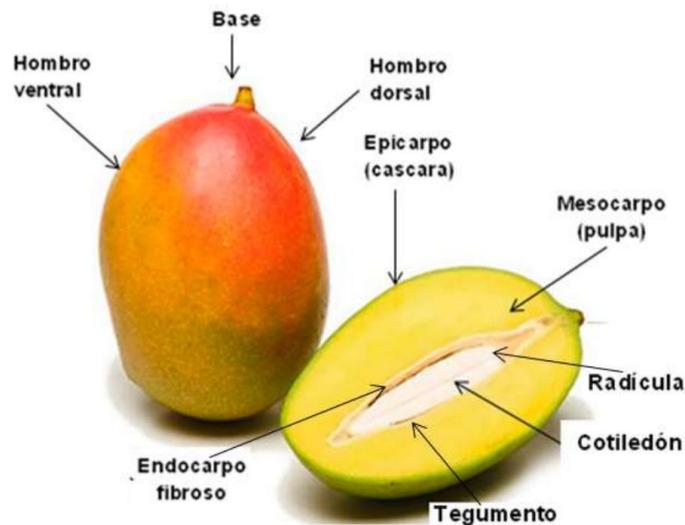


**Figura 4.** Botánica de la planta de *Mangifera indica*. a) Forma de la copa: semiglobosa, b) Disposición de las flores: panícula, c) Composición de las hojas: simple, Tipo de fruto: drupa.

El fruto del mango es una drupa carnosa (Figura 5). Es decir, se trata de un fruto con una sola semilla (endocarpo) que está rodeada por un mesocarpo carnoso y fibroso. En cuanto a su forma, puede ser oblondo, elíptico, ovoide, reniforme u obtuso en ambos extremos (García, 2017).

El color del pericarpo puede ser verde, verde amarillento o amarillo, y algunas variedades presentan matices de rojo, morado o anaranjado. La cáscara es lisa y uniforme, interrumpida ocasionalmente por pequeñas glándulas circulares llamadas lenticelas. La pulpa o mesocarpo es de color amarillo o anaranjado, es jugosa y su contenido de fibra varía.

El endocarpo es grueso, duro y leñoso, y está cubierto por una capa fibrosa en su parte externa. La semilla es aplanada y está recubierta por el tesla y el tegumento, y está compuesta en su mayoría por los cotiledones (García, 2017) .



**Figura 5.** Partes del mango. Hernández (2015).

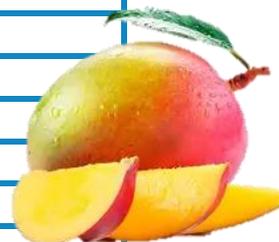
#### 1.1.1.4. Composición Química.

El mango es una fruta tropical versátil y nutritiva. Según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), el mango mexicano es rico en carbohidratos naturales, incluyendo un alto contenido de fibra. Además, es una excelente fuente de vitaminas, como la A, E, C y ácido fólico, así como minerales como el hierro, calcio, cobre, fósforo, potasio y zinc. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural , 2021). Su consumo beneficia al sistema inmunológico y nervioso, además de ayudar en la prevención de enfermedades cardiovasculares.

La composición química del mango varía según la variedad y el grado de madurez, no obstante, la tabla 2 presenta una composición química general de esta fruta.

*Tabla 2. Composición química del mango*

Componente	g/100g
Agua	81.8
Proteína	0.5
Grasa	0.2
Hidratos de carbono	16.2
Fibra	0.8
Minerales	0.5
Potasio (mg)	174.3
Fósforo (mg)	12.3
Calcio (mg)	12.2
Hierro (mg)	0.59
Sodio (mg)	5.0
Magnesio (mg)	20.2
<b>Vitaminas</b>	
Provit. A (mcg)	478.0
Vitamina C (mg)	81.6
Vitamina E (mg)	1.0



Correa (2012)

#### 1.1.1.5. Variedades.

La producción total de mango está compuesta por al menos 6 variedades cuyo cultivo está sistematizado: Haden, Tommy/Atkins, Keitt, Kent, Ataulfo y Manila, además de diversas variedades criollas. Esta diversidad de variedades permite contar con mangos casi durante todo el año, aunque la mayor producción se presenta entre los meses de abril a agosto (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2021).

A continuación, se presenta una breve descripción de cada una de estas variedades:

- **Haden** (Figura 6): El fruto es de forma ovalada y base redonda, con un peso que varía de 270 a 430 gramos; madura en color amarillo y rojo carmín en la base

expuesta al sol, su contenido de fibra es regular y de sabor dulce, la semilla representa del 9 al 10 % del peso de la fruta; se cosecha a fines de mayo y junio (MKT, 2019).



*Figura 6. Mango variedad "Haden"*

- ▶ **Tommy Atkins** (Figura 7): Este mango madura en color amarillo naranja con chapeo rojo a rojo intenso en la base. Tiene una piel gruesa, pulpa firme, jugosa con poca fibra y de color amarillo. La semilla representa del 12.5 al 13.5 % del peso de la fruta, y se cosecha en junio (MKT, 2019). Este tipo de mango es resistente al manejo de la fruta en la plantación y en la poscosecha, y es algo tolerante a la antracnosis, pero susceptible a la pudrición interna de la fruta (Gamboa & Mora, 2010).



*Figura 7. Mango variedad "Tommy Atkins"*

- ▶ **Keitt** (Figura 8): Estos mangos son de gran tamaño y tienen una forma ovalada. Su cáscara es de color amarillo verdoso, con algunas zonas enrojecidas cuando están expuestas al sol (Gamboa & Mora, 2010). La pulpa de este mango es firme y no contiene fibra, pero es altamente nutritiva, siendo rica en  $\beta$ -caroteno y vitamina A (MKT, 2019). Es importante destacar que esta variedad ha experimentado un aumento en la demanda en el mercado europeo en los últimos años.



*Figura 8. Mango variedad "Keitt"*

- ▶ **Kent** (Figura 9): Este mango es muy apreciado por su sabor dulce y su pulpa jugosa y tierna, que tiene una cantidad limitada de fibra. A medida que madura, adquiere una forma ovalada y un color rojo intenso con tonos amarillos, llegando a pesar hasta 470 gramos (MKT, 2019).



*Figura 9. Mango variedad "Kent"*

- ▶ **Ataulfo** (Figura 10): Este mango se caracteriza por su piel delgada y una semilla muy pequeña, lo que resulta en una alta proporción de pulpa con respecto a la semilla. La pulpa es firme, jugosa y prácticamente libre de fibra, con un sabor ligeramente ácido. Tiene una forma pequeña, ovalada y plana, y su color se torna amarillo canario a medida que madura, con un peso que varía de 250 a 750 gramos (MKT, 2019).

El mango Ataulfo es la variedad líder en México, con una cosecha de 646,800 toneladas en 2021, lo que representa el 30 % del total nacional. Esta variedad es 100 % mexicana, y el “Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas” tiene la distinción de denominación de origen, siendo una de las 17 otorgadas en México. (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023)



*Figura 10. Mango variedad “Ataulfo”*

- ▶ **Manila** (Figura 11): Los mangos de la variedad Manila se caracterizan por su color amarillo en estado de madurez. Tienen una cáscara delgada y una pulpa firme y dulce, con un contenido de fibra que varía de medio a bajo. La semilla representa aproximadamente el 12 % del peso del fruto. Sin embargo, es importante destacar que esta variedad tiene una vida útil muy corta, y su manejo requiere una atención

cuidadosa en términos de calidad. Dentro de la variedad Manila, existen dos subdivisiones notables: Manila Rosa y Manila Oro (MKT, 2019).



*Figura 11. Mango variedad "Manila"*

- ▶ **Criollo** (Figura 12): Cuando la fruta de la variedad criolla alcanza la madurez, presenta un color amarillo con un toque rojizo en la base. La pulpa es dulce y de color amarillo, y aunque la semilla es grande, el contenido de fibra se encuentra en el rango de medio a bajo (Larios et al.,2019).



*Figura 12. Mango criollo*

### ❖ *Temporadas de Mango en México.*

La temporada de mango en México comienza en el mes de febrero y se extiende hasta agosto (Figura 13), un período en el cual las condiciones climáticas y del suelo son óptimas para el cultivo de mango en México. Principalmente en los estados de Guerrero, Sinaloa, Nayarit, Chiapas, Oaxaca, Michoacán, Veracruz, Colima, Jalisco y Campeche (MKT, 2019).

	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP
Manila								
Ataulfo								
Haden								
Tommy								
Kent								
Keitt								

**Figura 13.** Calendario de temporalidad de mango en sus diferentes variedades. Adaptada a partir de MKT (2019).

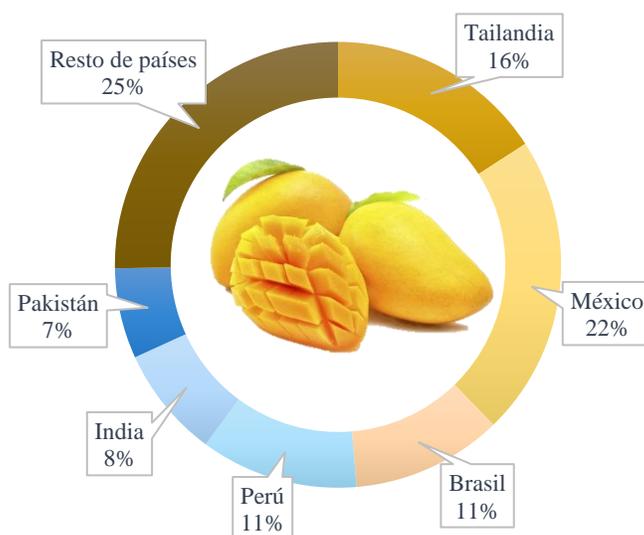
Durante los meses de mayo, junio y julio, se lleva a cabo la cosecha del mango en prácticamente todos los estados productores, lo que da lugar a una fuerte competencia, bajos precios y una reducida rentabilidad.

La acumulación de producto en estos meses requiere estrategias y alternativas en todos los niveles de la cadena de producción de mango para gestionar adecuadamente el fruto y así aprovechar el esfuerzo de los productores. La falta de estrategias y soluciones adaptadas a esta situación suele resultar en la acumulación de frutos en los huertos. Este problema no solo causa pérdidas económicas a los agricultores, sino que también conlleva problemas fitosanitarios.

Cuando los frutos no se cosechan, permanecen en los árboles, lo que favorece el desarrollo de diversas plagas y enfermedades que pueden generar graves y complejas dificultades tanto para el huerto como para toda la cadena de valor (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural , 2021).

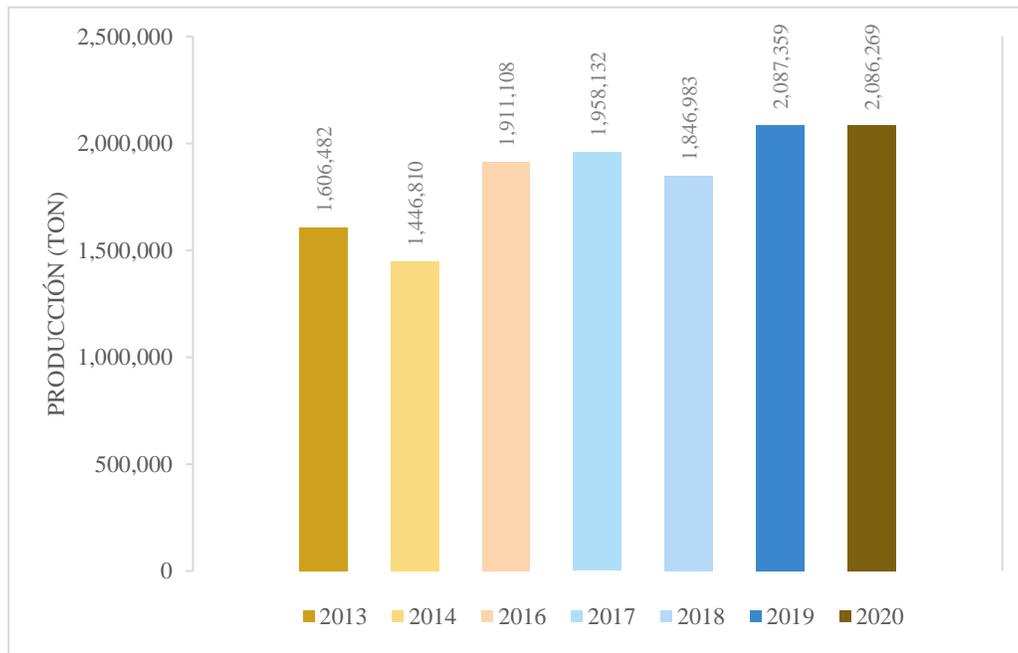
#### 1.1.1.6. Producción y Exportación.

La industria del mango es un negocio que genera alrededor de 500 millones de dólares al año y en el cual México se posiciona como el sexto productor más grande del mundo, con una producción anual de aproximadamente 2.18 millones de toneladas. Esto significa que México contribuye significativamente al suministro global de mango, representando el 3.9 % de la producción mundial. Además, México se destaca como el principal exportador de mango a nivel mundial, con un hito de exportaciones registrado en 2022, alcanzando un total de 468,350 toneladas (Figura 14).



**Figura 14.** Distribución de la exportación mundial de mango en el año 2022. Elaboración propia con datos recopilados de la FAO (2023).

A nivel mundial, los principales productores de mango son India, China, Tailandia, Indonesia y Pakistán. Sin embargo, México ha experimentado un crecimiento sostenido en la producción de mango (Figura 15), gracias a su ventaja climática y a la amplia variedad de mangos que cultiva. Esta diversidad ha encontrado una creciente demanda y aceptación en los mercados internacionales, especialmente en países como Estados Unidos, Canadá y Japón.

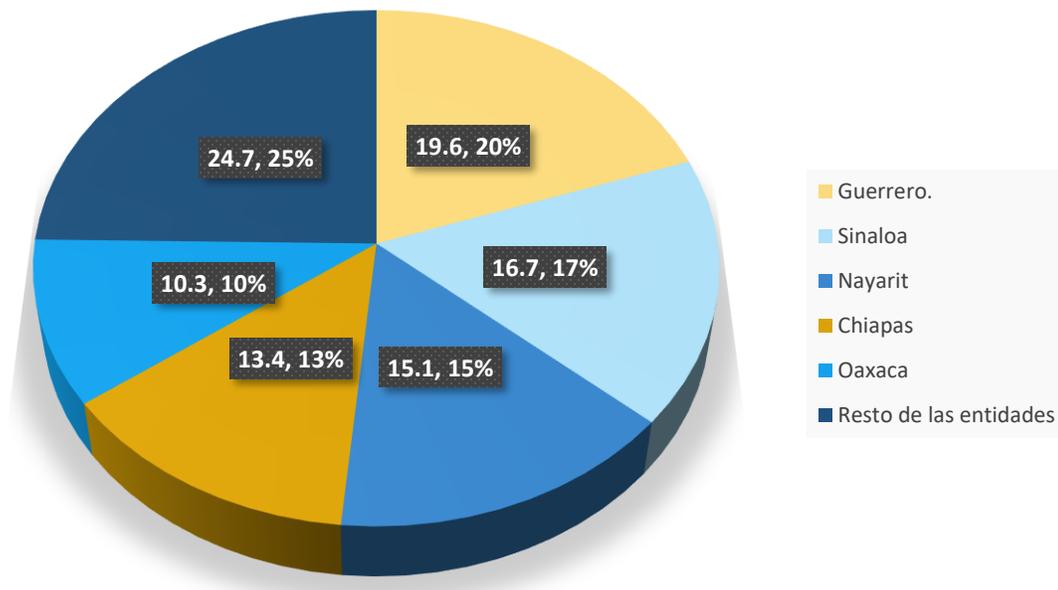


**Figura 15.** Producción nacional de mango de 2013 a 2020. Elaboración propia con datos recopilados del SIAP (2023).

El mango mexicano no solo ha ganado terreno en estos tres mercados principales, sino que también se exporta a otros 15 países, incluyendo Países Bajos, Suiza, Reino Unido, Alemania, España, Francia, Bélgica, Italia, Nueva Zelanda, Guatemala, Noruega, Australia, Suecia, Rusia y Emiratos árabes Unidos (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

El mango es una fruta que prospera en climas cálidos, y en México, se cultiva en 23 estados del país. Sin embargo, los principales estados productores son Sinaloa, Guerrero, Nayarit

y Chiapas, que juntos representan aproximadamente dos terceras partes del volumen cosechado a nivel nacional. Guerrero lidera la producción con un 19.6 %, seguido de Sinaloa con un 16.7 %, Nayarit con un 15.1 %, Chiapas con un 13.4 % y Oaxaca con un 10.3 %. El resto de los estados de la República Mexicana contribuyen con un 24.7 % a la producción total (Figura 16) (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural , 2021).

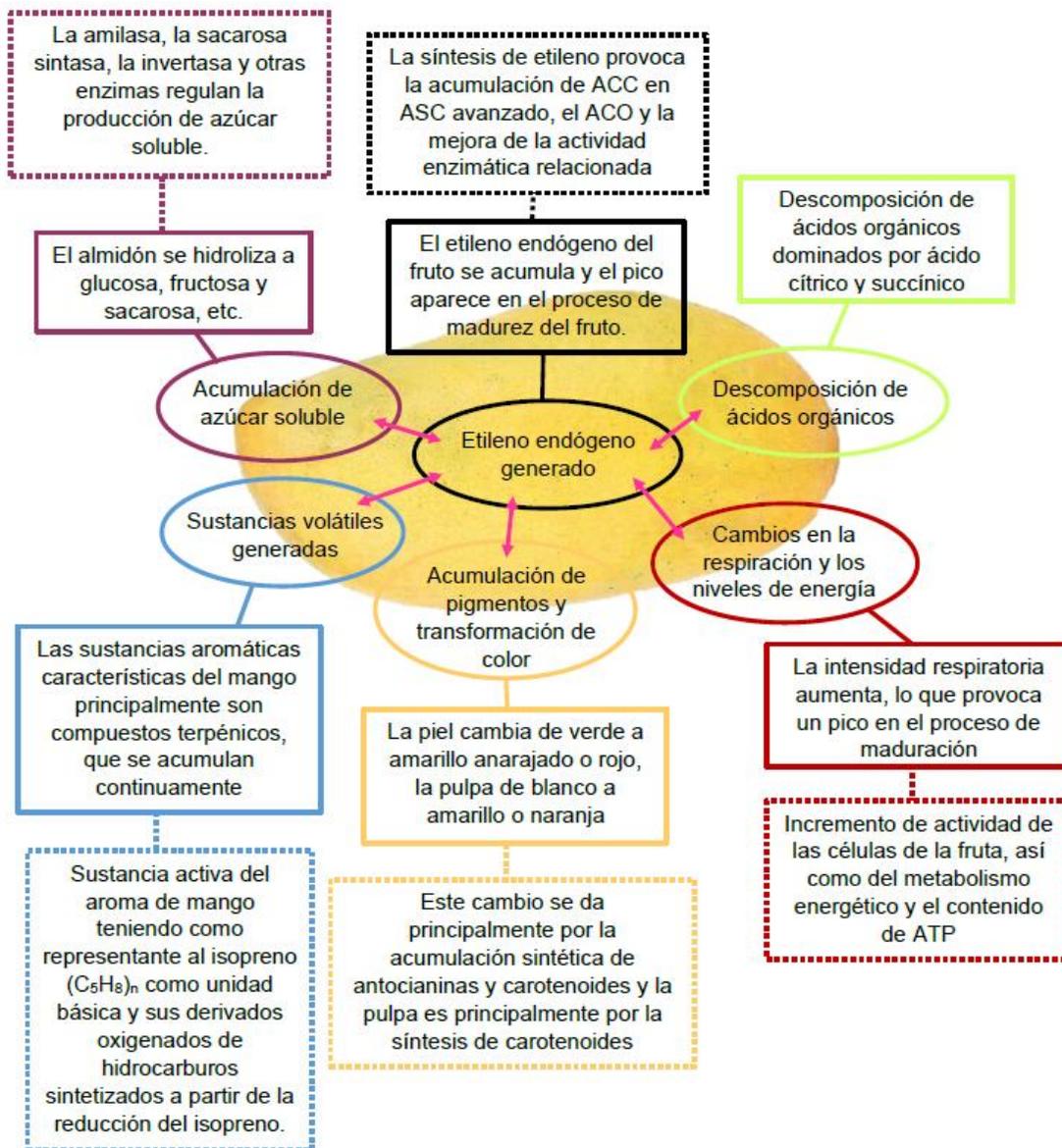


**Figura 16.** Principales entidades productoras de mango, 2020. Elaboración propia con datos obtenidos de PROFECO (2021).

#### 1.1.1.7. Cambios Fisiológicos Asociados al Proceso de Maduración.

El mango maduro se caracteriza por su sabor distintivo, una armoniosa combinación de dulzura y acidez, su pulpa es suave, jugosa y emana un aroma agradable. Estas características sensoriales se atribuyen a una serie de cambios fisiológicos que se desencadenan durante su proceso de maduración poscosecha. Como se aprecia en la Figura 17, estos cambios están relacionados con una serie de reacciones en cadena de moléculas y vías metabólicas específicas. Estos cambios fisiológicos incluyen principalmente un aumento en la tasa de respiración y la

liberación de etileno, modificaciones en la microestructura de la pared celular que resultan en un ablandamiento de la textura, gluconeogénesis, descomposición ácida, síntesis y acumulación de pigmentos, variaciones en el color, y la producción y acumulación de compuestos aromáticos característicos.



**Figura 17.** Principales cambios fisiológicos del mango durante la maduración. Elaboración propia adaptada a partir de Liu (2023). Nota: ACC = ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico, ACS = ACC sintasa, ACO = ACC oxidasa

**Cambios fisiológicos en el mango:**

- ▶ Cambios en los niveles de respiración, etileno y energía: El mango es una fruta climatérica, lo que significa que durante su maduración poscosecha se produce un pico de intensidad en la tasa de respiración, acompañado por una rápida síntesis de etileno.
- ▶ Cambios de textura: Durante la maduración, el mango experimenta un marcado ablandamiento. Esto se debe principalmente a la degradación de la pectina y el almidón en la fruta, y esta degradación está relacionada con cambios en las enzimas responsables de estos procesos.
- ▶ Cambios de color y síntesis de pigmentos: Los pigmentos son fundamentales para la apariencia del mango maduro. El tipo y cantidad de pigmentos determinan la calidad del color y su profundidad en la fruta.
- ▶ Cambios de sabor: Durante la maduración, se producen cambios en el sabor del mango. Esto incluye la degradación de ácidos orgánicos, que son componente clave para su sabor, y el metabolismo de los azúcares, lo que influye en el dulzor del fruto.
- ▶ Metabolismo del azúcar: La acumulación de azúcares solubles aporta dulzor al fruto y potencia su valor comercial. Los cambios en los azúcares solubles durante la maduración poscosecha se atribuyen principalmente a la hidrólisis del almidón, la acumulación de azúcares no reductores y descomposición de azúcares no reductores en azúcares reductores.
- ▶ Síntesis de compuestos aromáticos: El mango es conocido por su aroma distintivo, que se deriva de la síntesis de más de 270 compuestos aromáticos. Estos compuestos

se generan principalmente a partir de aminoácidos, grasas y carbohidratos como precursores (Liu et al., 2023).

En resumen, la maduración del mango es un proceso complejo que involucra una serie de cambios bioquímicos y metabólicos que culminan en las características sensoriales que hacen que el mango sea tan apreciado en todo el mundo.

#### **1.1.1.8. Plagas, Enfermedades y Daños Fisiológicos.**

El mango es una de las especies frutales susceptibles al ataque de insectos, enfermedades y desórdenes fisiológicos, los cuales pueden afectar significativamente su calidad y rendimiento, generando importantes pérdidas económicas.

Las enfermedades se consideran una de las principales causas de estas pérdidas, junto con la infestación de la mosca de las frutas (Arauz & Mora, 1983). Las enfermedades postcosecha tienen su origen en el campo, en este sentido, se ha encontrado que la antracnosis, causada por *Colletotrichum* sp., es la más prevalente con una incidencia del 85.7 %, seguida por la pudrición basal causada por *Lasiodiplodia (Botrydiploia) sp.* con un 10.4 % de incidencia. También se han registrado enfermedades ocasionadas por *Pestalotia sp.* (3.3 %), *Aspergillus sp.* (1.0 %) y *Macrophomina sp.* (0.6 %). Otras enfermedades postcosecha del mango incluyen las putrefacciones del fruto causadas por hongos de los géneros *Rhizopus* y *Phytophthora* (Castillo,1980; Arauz et al.,1994).

En la siguiente tabla se presentan algunas de las plagas y enfermedades más comunes en el mango

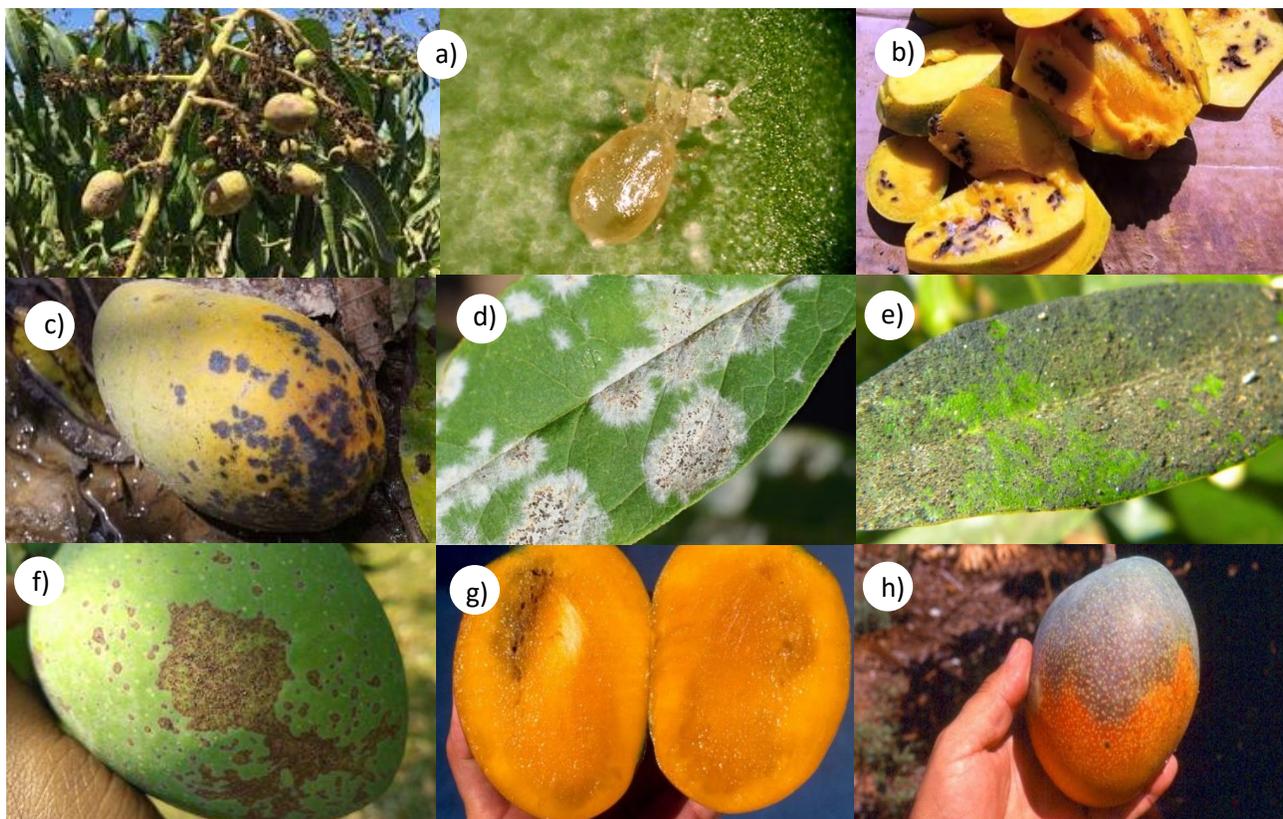
**Tabla 3. Plagas y enfermedades más comunes del mango**

NOMBRE	DAÑOS Y SÍNTOMAS
Trips ( <i>Sekenothrips rubrocinetus</i> G.)	Esta plaga ataca las hojas del mango, chupándoles la savia, lo cual afecta su suficiencia productiva. Las hojas atacadas se forman cloróticas. Frutos severamente atacados se decoloran y presentan cuarteaduras y arrugamientos en la corteza.
Mosca de la fruta Existen varias: Mosca mexicana ( <i>Anastrepha</i> Sp.) Mosca del mediterráneo	Las llamadas moscas de las frutas constituyen un grupo de plagas muy importantes debido a los daños que ocasionan. Las hembras depositan sus huevos en la cáscara de los frutos, de los que nacen las larvas que pueden destruir completamente la pulpa y también ocasionar la madurez prematura del fruto atacado. Las larvas posteriormente abandonan el fruto, caen al suelo donde se entierran para transformarse primero en pulpa y luego en adulto
Antracnosis ( <i>Collectotrichum gloesporoides</i> J.P.)	Es la enfermedad más común en las regiones donde se cultiva el mango. Afecta frutas, hojas, brotes y flores. El ataque en frutas jóvenes induce su caída. En frutas maduras ocasiona manchas oscuras
Mildeu Polvoroso ( <i>Oidium mangiferac</i> B)	Afecta frutas, flores y tallos. Su manifestación principal es la presencia de un tejido micelar blanco. Las frutas atacadas a temprana edad pueden caer.
Fumagina ( <i>Meliolo mangiferac</i> E)	Se reconoce al ataque sobre la planta por la presencia de un polvo oscuro que puede cubrir total o parcialmente la superficie de las ramas y las hojas. El efecto de la enfermedad sobre los árboles es indirecto, ya que interfiere funciones normales de las hojas, retrasando el proceso normal de fotosíntesis y la formación de azúcares y carbohidratos. La fruta puede presentar decoloraciones reduciéndose su valor comercial
Roña ( <i>Elsinoc mangiferac</i> B)	Afecta tejidos jóvenes en crecimiento, hojas, flores y frutos, En frutos jóvenes, la infección es de color gris café con márgenes irregulares oscuros. A medida que la fruta crece, las manchas aumentan de tamaño y los centros se cubren con tejido lechoso fisurado.
Pudrición interna	Se manifiesta por un vacío en la cavidad basal que interrumpe la unión entre los tejidos vasculares del pedúnculo con la semilla. La pulpa presenta un estado avanzado de descomposición al alcanzar la madurez de consumo.

Nariz blanda

Es un ablandamiento de la pulpa del lado ventral de la fruta y hacia el ápice. El daño se puede detectar en frutas recién cosechadas, las cuales muestran un amarillamiento mayor en el ápice, que al presionarlo ofrece poca resistencia

Galvis & Herrera (1996)



**Figura 18.** Plagas y enfermedades más comunes del mango. a) Trips (*Sekenothrips rubrocinetus* G), b) Mosca de la fruta, c) Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), d) Mildeu Polvoroso (*Oidium mangiferac*), e) Fumagina (*Meliolo mangiferac* E), f) Roña (*Elsinoc mangiferac* B), g) Pudrición interna y h) Nariz blanda (Galvis & Herrera, 1996).

#### 1.1.1.8.1. Antracnosis.

La antracnosis es una enfermedad devastadora en el cultivo de mango, causada principalmente por dos especies de hongos relacionados: *Colletotrichum gloeosporioides*, que juega un papel predominante en la mayoría de los casos (Dodd et al., 1997), y *C. acutatum*, que

puede contribuir en menor medida en algunas localidades. Estos patógenos tienen un impacto perjudicial en diversas partes del árbol de mango, incluyendo hojas, ramitas, inflorescencias y, lo más crítico, los frutos, lo que reduce significativamente su calidad.

La antracnosis se origina en el propio árbol de mango, donde el hongo patógeno, transportado por el viento y las gotas de lluvia, encuentra su primera oportunidad de infección en las hojas y ramitas. Las hojas viejas exhiben manchas pardo-oscuros o marrones con un característico halo amarillo (Figura 19). En cambio, las hojas jóvenes desarrollan manchas pequeñas de color oscuro y forma irregular. Estas últimas pueden fusionarse, creando áreas necróticas más extensas que afectan negativamente la fotosíntesis y puede provocar la caída de las hojas (Páez, 2003).

La propagación interna del hongo desde el árbol mismo es un aspecto crucial de la antracnosis en el mango. Esta infección se extiende a las inflorescencias y, posteriormente, a los frutos. Los frutos cuajados infectados adquieren una coloración oscura y se momifican antes de caer, lo que causa pérdidas económicas para los agricultores. Los frutos inmaduros también son vulnerables, mostrando manchas de color pardo claro y aspecto aceitoso, que afecta la calidad del cultivo (Páez, 2003).

Los síntomas más graves y visibles de la antracnosis se presentan en los frutos maduros, donde se observan manchas de color marrón oscuro ligeramente hundidas en la superficie. A veces, se produce un chorreado oscuro en la epidermis del fruto debido a la liberación de esporas del hongo arrastradas por el agua (Figura 19). Las toxinas producidas por el hongo provocan la pudrición de la pulpa, que se torna negruzca y inicialmente blanda. El patógeno puede penetrar directamente en la epidermis del fruto o aprovechar heridas previas, a menudo causadas por insectos.



**Figura 19.** Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en mango. a) Antracnosis en hojas, b) Antracnosis en frutos maduros

Esta propagación interna del hongo desde el árbol es un aspecto crítico que hace que la antracnosis sea una problemática agrícola de suma importancia. Las pérdidas provocadas por esta enfermedad pueden variar ampliamente, oscilando entre el 15 % y el 60 % de la producción, dependiendo en gran medida del clima y otros factores. Esta amenaza es aún más destacable debido a la restricción de acceso a mercados asiáticos y europeos, donde el mango fresco tiene un precio de 3 a 5 veces mayor que en el mercado nacional. La política de “cero tolerancia” adoptada por algunos países impide la entrada de cargamentos de mango afectados por la antracnosis, lo que afecta significativamente la competitividad del mango mexicano a nivel internacional (Ríos, 2018).

Comprender este ciclo de infección es esencial para el manejo efectivo de la enfermedad y la implementación de estrategias de control en los cultivos de mango, ya que la antracnosis sigue representando un desafío importante para los productores y la industria del mango en México.

#### ❖ *Manejo de la Antracnosis.*

A pesar de que la antracnosis es un problema que afecta a nivel internacional, existen pocos registros de investigaciones académicas realizadas por entidades mexicanas sobre el control

efectivo de esta enfermedad en el mango mexicano. No obstante, dado que el manejo exitoso de la antracnosis depende de la comprensión de las condiciones que favorecen su desarrollo, se han propuesto técnicas tanto antes de la cosecha como después de esta que pueden ayudar a inhibir su crecimiento (Ploetz, 2008).

El manejo antes de la cosecha de la antracnosis se basa en:

1. Saneamiento de las plantaciones: eliminación de las fuentes de inóculo.
2. Alteración de la época de floración: esto asegura el desarrollo del fruto durante períodos secos, lo que implica también la producción fuera de temporada para aprovechar oportunidades lucrativas en el mercado.
3. Integración de medidas químicas y biológicas: esto incluye la aplicación de fungicidas y la resistencia inducida, que tiene como objetivo fortalecer la respuesta natural de las plantas ante enfermedades (Johnson & Hofman,2009; Terry & Joyce,2004; Dann et al.,2007; Karunanayake,2011).

En lo que respecta a la postcosecha, esta etapa es de suma importancia, ya que es donde se evidencian con mayor intensidad los daños y se cuantifican las pérdidas.

Los daños en postcosecha pueden deberse a:

1. Alta presión de enfermedad en el campo.
2. Mala selección de frutos: esto favorece la entrada de frutos enfermos en las cajas y otro tipo de empaques.
3. Presencia de infecciones quiescentes o latentes: estas infecciones solo se hacen evidentes cuando los frutos maduran y se encuentran en condiciones de humedad y altas temperaturas de almacenamiento.

La recomendación más importante para evitar problemas en postcosecha es llevar a cabo un manejo eficiente en el campo. Sin embargo, para un mayor control de la antracnosis en postcosecha, se deben considerar las siguientes recomendaciones:

- ▶ Cosecha con tijeras cosechadoras u otra herramienta similar: esto debe hacerse dejando una sección de pedúnculo que evite la entrada de infecciones del campo.
- ▶ Evitar que los frutos se golpeen durante la recolección.
- ▶ Colocar los frutos en un lugar sombreado y dejarlos reposar un tiempo para perder la humedad de la superficie.
- ▶ Hacer una selección de frutos, descartando aquellos que estén manchados, magullados, golpeados y demasiado maduros.
- ▶ Lavar de los frutos.
- ▶ El almacenamiento refrigerado ayuda a inhibir infecciones latentes procedentes del campo (Páez, 2003).

#### **1.1.1.9. Normatividad.**

En cuanto a la normatividad relacionada con el mercado del mango, diversos organismos a nivel internacional y nacional han propuesto estándares y regulaciones. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), a nivel global, y en el ámbito nacional, la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) en colaboración con la Secretaría de Economía (SE), se han establecido normas para orientar la comercialización del mango.

A nivel internacional, la FAO a través del CODEX ha definido las características de calidad que deben cumplir los mangos de las variedades Haden, Keitt, Kent y Tommy Atkins destinadas al consumo humano y con destino a la exportación después de su acondicionamiento. Según esta normativa, los mangos deben ser frescos, limpios, enteros y bien desarrollados, mantener la forma, sabor y aroma característicos de su variedad, tener una consistencia firme, un pedúnculo de máximo 1 cm de longitud y estar libres de humedad exterior, descomposición o pudrición, además de mantener el color característico de la variedad.

A nivel nacional, se establece la NOM-188-SCFI-2012 “Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas (*Mangifera caesia* Jack ex Wall). Especificaciones y métodos de prueba”, que respalda la denominación de origen del “Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas”. Esta norma establece requisitos como el tamaño y peso promedio del producto, el contenido mínimo de sólidos solubles, la textura lisa, la apariencia libre de magulladuras y defectos visuales, así como los requisitos de información comercial.

Además, en México se cuenta con otras normas y especificaciones relacionadas con el etiquetado y características de los productos de mango, como la NOM-129-SCFI-1998 y la NMX-F-104-1981. Asimismo, para productos no industrializados destinados al consumo humano, como las frutas frescas de mango, existe la NMX-FF-058-SCFI-2006.

Junto a estas normas, se encuentra el PC-005-2005, que establece las condiciones para el uso de la marca oficial “México Calidad Suprema en mango”. Este pliego tiene como objetivo desarrollar mercados de mayor valor mediante la diferenciación de productos de alta calidad respaldados por certificaciones independientes, garantizando al consumidor que el producto adquirido es de calidad suprema. Define las especificaciones que debe cumplir el mango para llevar esta marca oficial y establecer condiciones para la autorización de su uso (Secretaría de

Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).; Secretaría de Economía (SE), 2005).

Por otro lado, es crucial destacar que estas normativas no solo influyen en la calidad del producto terminado, sino que también inciden considerablemente en la competitividad del mango mexicano a escala global. Al cumplir con dichas regulaciones y estándares de calidad, los productores y exportadores pueden acceder a mercados internacionales con demanda de productos de primer nivel.

#### **1.1.1.10. Aprovechamiento.**

En promedio, alrededor del 12 % al 16 % de la producción total de mango en el país se destina a la exportación, mientras que del 84 % al 88 % restante se utiliza para el consumo nacional. Dentro de este último porcentaje, aproximadamente del 13 al 16 % se destina a la industrialización, mientras que el resto se consume fresco o se desperdicia. La industrialización del mango es llevada a cabo por empresas especializadas y abarca una variedad de productos, tales como:

- ▶ Jugos y néctares de mango.
- ▶ Pulpas congeladas.
- ▶ Mango congelado en trozos o cubos.
- ▶ Mango deshidratado, a menudo con sabores como el mango deshidratado con chile.
- ▶ Puré y conservas de mango.
- ▶ Jalea de mango.
- ▶ Helado de mango.
- ▶ Productos “frescos” (mínimamente procesados).
- ▶ Snacks deshidratados.

Sin embargo, cada año, una porción de la fruta fresca no llega a comercializarse, lo cual especialmente notable entre los pequeños productores, quienes constituyen alrededor del 85 % del total de productores de mango. Este rezago se origina por diversas razones, incluyendo limitaciones en el tamaño o daños mecánicos que dificultan su comercialización. Además, se presentan casos en que la madurez del mango está avanzada y no puede resistir todo el período de distribución y venta (Villanueva, 2016).

#### 1.1.1.11. Conservación.

La respiración de un fruto después de la cosecha constituye un factor limitante para su conservación en estado fresco. Sin embargo, se han desarrollado diferentes métodos de conservación postcosecha para minimizar los daños causados por plagas o enfermedades. A continuación, se mencionan algunos de los más comunes:

**Encerado:** El mango posee una capa de cera natural en la corteza que a menudo se elimina durante el lavado. El encerado de frutos es un proceso de aplicación de una capa delgada de cera, generalmente cera de origen natural o sintético sobre la superficie de las frutas. Al aplicar una capa adicional de cera con el grosor y la permeabilidad adecuada, que no genere condiciones anaeróbicas dentro del fruto, se logra prolongar su vida útil retrasando la maduración. Los objetivos principales de encerar los frutos son:

- ▶ Proporcionar brillo natural a la superficie de los frutos, aumentando su atractivo visual.
- ▶ Aumentar la vida útil del fruto al reducir la tasa respiratoria durante el almacenamiento.
- ▶ Reducir las pérdidas de peso debido a la deshidratación durante la postcosecha.

- ▶ Proporcionar protección contra los organismos causantes de la pudrición (Galvis & Herrera, 1996).

**Retardantes de maduración:** Consiste en aplicar sustancias químicas como las quitinas, quinetinas, ácido giberélico, óxido de etileno, permanganato de potasio y cloruro de calcio para retrasar el proceso natural de maduración de las frutas (Galvis & Herrera, 1996).

**Almacenamiento en atmósfera normal:** Es un método de conservación basado en el control de las condiciones de oxígeno, dióxido de carbono y humedad alrededor de las frutas con el objetivo de prolongar su vida útil. Este tipo de almacenamiento asegura que el contenido de oxígeno no sea inferior al 21 %, permitiendo la maduración de los frutos según la temperatura de almacenamiento (Galvis & Herrera, 1996).

**Almacenamiento en atmósfera modificada controlada:** Consiste en colocar los mangos en cámaras refrigeradas donde se controlan rigurosamente los gases involucrados en la fotosíntesis y la respiración. Regulando la cantidad de oxígeno y anhídrido carbónico aplicados, se puede retrasar la producción de etileno, y por lo tanto la maduración del mango. Algunos aspectos clave de este tipo de almacenamiento son:

- ▶ Reducción del ritmo de senescencia relacionada con los cambios fisiológicos y químicos de los frutos.
- ▶ Disminución de la sensibilidad de los frutos al etileno.

**Almacenamiento en atmósfera modificada:** Implica mantener el fruto en un envase hermético, permitiendo su actividad respiratoria pero cambiando la composición de la atmósfera circundante con el tiempo. Concentraciones de O<sub>2</sub> tan bajas como el 0 % y niveles de CO<sub>2</sub> tan altas como el 30% o más pueden ser producidos, pudiendo dañar el producto. Los factores clave para el éxito del almacenamiento en atmósferas modificadas son:

- ▶ La mezcla de gases, que depende de la naturaleza del producto y sus principales formas de deterioro, como el crecimiento microbiano y la oxidación.
- ▶ El CO<sub>2</sub>, que inhibe el crecimiento de una amplia gama de microorganismos.
- ▶ La permeabilidad de la película a los gases, que deberá permitir la entrada de suficiente O<sub>2</sub> para evitar condiciones anaeróbicas y la difusión del exceso de CO<sub>2</sub> para prevenir niveles perjudiciales (Ospina & Cartagena, 2008).

### 1.1.2. Granada (*Punica granatum L.*)

#### 1.1.2.1. Taxonomía.

El granado (Figura 20) se encuentra clasificado taxonómicamente como se muestra en la Tabla 4:



**Figura 20.** Granada (*Punica granatum L.*)

**Tabla 4.** Clasificación taxonómica de *Punica*

División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Myrtales</i>
Familia	<i>Punicaceae</i>
Género	<i>Punica</i>
Especie	<i>P. granatum</i>
Nombre científico	<i>Punica granatum L.</i>

*Punica granatum L.* pertenece al orden *Myrtales* y a la familia *Punicaceae*, la cual está representada por un solo género, *Punica*, y dos especies: *P. granatum* y *P. protopunica*. Sin embargo, solamente la primera de estas especies se cultiva por sus frutos, que son comestibles. Su primera denominación científica fue *Pomunni granatum*, que significa “manzana con semillas” (Medina, 2019).

### 1.1.2.2. Descripción Botánica.

La especie *Punica granatum L.* es un árbol pequeño o arbusto leñoso densamente ramificado desde la base, que puede alcanzar hasta 6-7m de altura. Sus ramas presentan espinas largas, pero no las ramillas. Tiene hojas oblongo-lanceoladas, con bordes enteros y coriáceos, de color verde oscuro brillante en su estado adulto. Además, cuenta con flores muy vistosas, hermafroditas, de color rojo encendido y brillante (Figura 21) (López & López, 2010).



**Figura 21.** Botánica del árbol *Punica granatum L.* a) Árbol de la granada, b) Hojas, c) Flor. (Calín & Carbonell, 2022)

Su fruto tiene un cuerpo grande de forma globosa, con un diámetro de aproximadamente 6 a 12 centímetros, y cuenta con un cáliz en forma de corona. La corteza del fruto varía de color, yendo desde el amarillo rojizo hasta el verde con zonas rojizas e incluso al rojo escarlata. Es delgada y correosa, cubriendo una gran cantidad de granos ordenadamente distribuidos, que son jugosos y con un sabor que va desde el agridulce hasta el dulce, dependiendo de la variedad. Los granos están separados por delgados tabiques membranosos de calidad astringente. Las semillas se encuentran dentro de una envoltura transparente llamada arilo (Figura 22) (López & López, 2010).



**Figura 22.** La granada y sus diferentes partes. (Calín et al., 2015)

### 1.1.2.3. Componentes Bioactivos.

La granada tiene una compleja combinación de compuestos químicos de alto valor biológico en sus diferentes partes: corteza, membranas carpelares, arilos y semillas. La tabla 5 enumera los principales componentes del árbol y el fruto de *Punica granatum*, así como sus componentes bioactivos correspondientes.

**Tabla 5.** Principales compuestos funcionales en las diferentes partes de la granada.

Partes de la granada	Componente bioactivo
Jugo de la granada	Antocianinas, glucosa, ácido ascórbico, ácido elágico, ácido gálico, ácido cafeico, catequina, quercetina, rutina, numerosos minerales, especialmente hierro.
Aceite de semilla de granada	95% de ácido punícico; otros componentes, incluido el ácido elágico, ácido linolénico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido púnico, ácido eleosteárico, ácido catálpico, esteroides, etc.
Pericarpio de granada (cáscara, corteza)	Punicalaginas fenólicas, ácido gálico y otros ácidos grasos como el ácido elágico; catequina, quercetina, rutina y otros flavonoides; flavonas, flavononas, antocianinas, antocianidinas.
Hojas de granada	Taninos (punicalina y punicafolina); y glucósidos de flavona, como la luteolina y la apigenina.

Flor de granada	Ácido gálico, ácido ursólico; triterpenoides, incluidos el ácido maslínico y el ácido asiático; así como otros componentes no identificados.
Raíces y corteza de granada	Elagitaninos, como la punicalina y la punicalagina; numerosos alcaloides de piperidina.

*(Jurenka, 2008)*

La parte comestible de la fruta de granada (50 %) se compone de un 40 % de arilos y un 10 % de las semillas; el otro 50 % se compone de las membranas y la cáscara (Viuda et al., 2010). Las membranas y las cáscaras son desechadas y no son aprovechadas; principalmente la cáscara contiene diferentes compuestos bioactivos que podrían ser aprovechados.

La composición de los granos de granada es la siguiente: agua (85 %); azúcares (10 %), principalmente fructosa y glucosa; ácidos orgánicos (1.5 %), principalmente ácido ascórbico, cítrico y málico; compuestos bioactivos tales como polifenoles y flavonoides (principalmente antocianinas) (Calín & Carbonell, 2022).

La cáscara de granada contiene un alto contenido de polifenoles en comparación con su concentración en cualquier otra parte de la fruta, principalmente taninos hidrolizables (punicalina, punicalagina, ácido gálico y elágico) y flavonoides (antocianinas, catequinas y otras sustancias complejas) (Akhtar et al., 2014). Estos compuestos ejercen efectos beneficiosos para la salud a través de su captación de radicales libres y su potencial antioxidante (Fischer et al., 2010). Por lo tanto, la cáscara como subproducto es rica en elagitaninos, tales como la punicalagina (15.7%) y sus isómeros, así como pequeñas cantidades de punicalina (2%), ácido gálico, ácido elágico (3%) y oligómeros (77%) (Aguilar et al., 2008).

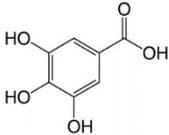
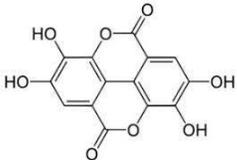
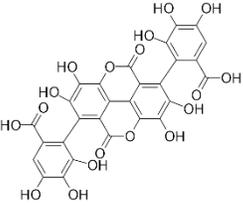
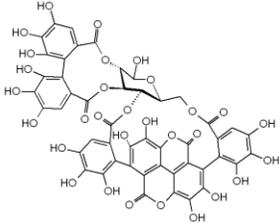
## 1.2. Extractos Vegetales

Los extractos vegetales son muy prometedores y pueden tener diversas aplicaciones en la industria alimentaria. La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales puede deberse a diferentes componentes fitoquímicos, los cuales cuentan con propiedades antimicrobianas. Es muy probable que la actividad antibacteriana se deba a los efectos combinados de la absorción de los polifenoles en las membranas de las bacterias, lo que ocasionaría su ruptura y la posterior fuga de contenidos celulares (Ikigai et al., 1993; Otake et al.,1991), así como la generación de hidroperóxidos de polifenoles (Akagawa et al.,2003). Los extractos de plantas también han mostrado actividad antifúngica contra una amplia gama de hongos (Davidson & Parish,1989; Grange & Ahmed,1988; Jayaprasha et al.,2001; Negi et al.,2002); Además, poseen propiedades antioxidantes, son antimutagénicos e inhiben la oxidación de los lípidos en los alimentos.

### 1.2.1. Extracto de Granada

En la producción industrial de jugo de granada, una tonelada de fruta fresca genera 669 kg de subproducto que contiene 78% de cáscara y un 22% de semillas (Qu et al.,2009). En consecuencia, la cáscara de granada constituye hasta el 50% de la fruta entera y podría transformarse en una valiosa materia prima, ya que se considera una buena fuente de compuestos naturales con actividad antimicrobiana y antioxidante. Esto la hace adecuada para aplicaciones en la industria alimentaria como ingrediente potencial en la elaboración de alimentos funcionales, así como inhibidores antimicrobianos. En la tabla 6 se muestran los principales constituyentes de los polifenoles de la cáscara de granada.

**Tabla 6.** Estructuras moleculares de los polifenoles de la cáscara de granada

Molécula	Descripción	Estructura química
Ácido gálico	Anillo de benceno con 1 grupo carboxilo en la posición 1 y 3 grupos hidroxilo en las posiciones 3,4 y 5	
Ácido elágico	ácido gálico + ácido gálico	
Ácido galagico	ácido elágico + ácido elágico	
Punicalagina (monómero polifenol hidrolizable)	ácido galagico + ácido elágico + glucosa	

(Taberner,2011.; Martín et al.,2009)

Las propiedades funcionales del extracto de granada se han asociado principalmente a la presencia de elagitaninos, taninos hidrolizables derivados del ácido elágico (AE), así como a las antocianinas, cuya concentración depende del método de extracción utilizado (Mena et al.,2011).

El ácido elágico presenta propiedades antioxidantes, antimutagénicas, antivirales, antibacterianas, entre otras, gracias a su capacidad para actuar como formador de puentes de hidrógeno y aceptor de electrones (De la Cruz et al., 2011). Este compuesto se encuentra en pequeñas proporciones en el jugo de granada. Sin embargo, la mayor aportación de ácido elágico al organismo proviene de la hidrólisis de la punicalagina, que es el elagitanino más abundante de

la granada (Seeram et al.,2005). La cáscara de la fruta es una rica fuente de elagitaninos (ETs), los cuales representan el 80-85% de los fenoles solubles en la cáscara (De la Cruz et al.,2011).

Se ha demostrado que los taninos hidrolizables pueden actuar como antioxidantes, agentes antitumorales o antihepatotóxicos, y mejorar la salud cardiovascular. Además, se ha observado que poseen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antivirales, antidiabéticas, entre otras (Viuda-Martos et al.,2010).

Otros componentes encontrados en la piel de la granada con actividad antibacteriana y antifúngica, aparte de los mencionados anteriormente, son la castalagina, granatina, catequina, galocatequina, kemferol y quercetina (Jayaprakasha et al.,2006).

#### **1.2.1.1. Función Antimicrobiana.**

En la etapa de postcosecha de los frutos, los microorganismos representan uno de los factores cruciales que provocan el deterioro. Los subproductos derivados de la cáscara de granada exhiben propiedades antimicrobianas capaces de inhibir el deterioro ocasionado por estos microorganismos en varios tipos de alimentos, asociándose esta capacidad a la presencia de compuestos fenólicos.

La actividad antibacteriana de estos compuestos en general se puede entender en función de su estructura fenólica. Se cree que los mecanismos responsables de la toxicidad fenólica contra los microorganismos incluyen la inhibición de enzimas por parte de los compuestos oxidados. Esto posiblemente ocurre a través de reacciones con grupos sulfhidrilos o mediante interacciones más específicas con proteínas. En muchos casos, esto conduce a la inactivación de las proteínas y la pérdida de su función. Los posibles blancos en las células microbianas incluyen las adhesiones expuestas en la superficie, los polipéptidos de la pared celular y las enzimas unidas a la membrana.

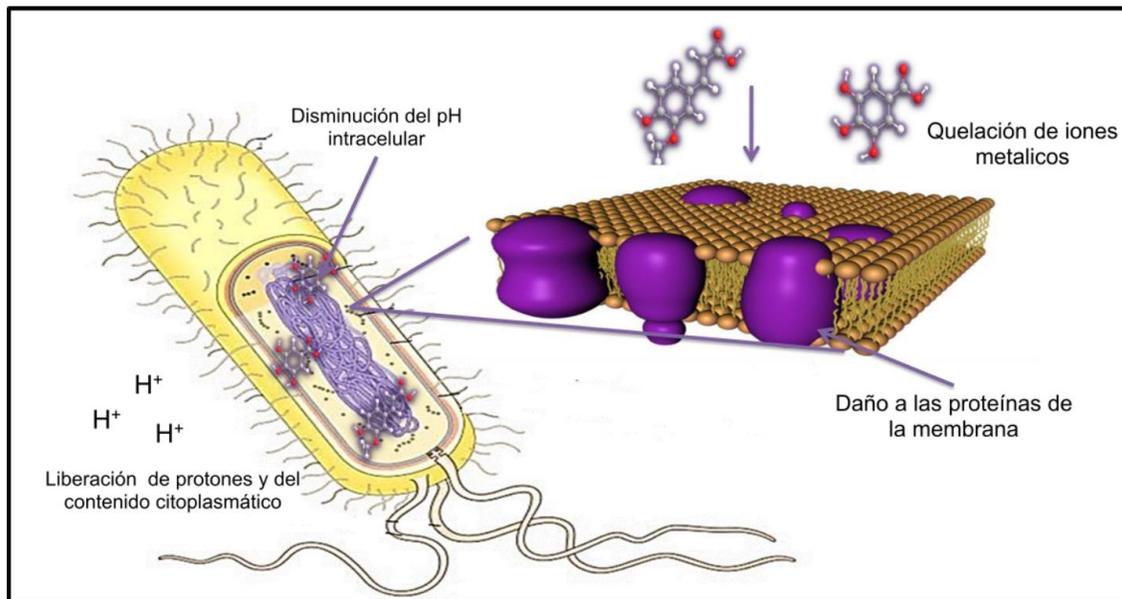
Además, los fenoles pueden interferir con la disponibilidad de sustratos para los microorganismos (Stern et al.,1996.; Naz,2007).

#### *1.2.1.1.1. Mecanismo de Acción de los Antimicrobianos Naturales.*

El mecanismo subyacente a la actividad antimicrobiana de los conservantes naturales no se comprende completamente. No obstante, se cree que los terpenoides y los fenoles provocan alteraciones en la membrana, mientras que los fenoles y los flavonoides pueden quelar metales, lo que podría inhibir el crecimiento de los microorganismos (Cowan,1999).

En muchos casos, no se han definido con precisión los blancos específicos de los antimicrobianos naturales, ya que es complicado identificar el lugar de acción exacto, dado que muchas de estas reacciones interactúan de forma simultánea. Los compuestos que afectan la membrana celular pueden dar lugar a la fuga de contenido celular, interferir con el transporte activo o con las enzimas metabólicas, e incluso agotar la energía celular en forma de ATP (Figura 23) (Davidson,2001).

La degradación de la pared celular, el daño a la membrana citoplasmática y a las proteínas membranosas, la liberación de contenido intracelular, la coagulación del citoplasma y la disminución de la fuerza motriz de los protones son mecanismos que pueden provocar la muerte de la célula (Burt,2004; Nychas et al.,2003; Tiwari et al.,2009; Negi,2012).



**Figura 23.** Mecanismo de acción antimicrobiano de los compuestos fenólicos que afectan la funcionalidad de enzimas y de la membrana microbiana Ayala (2014).

### 1.2.1.2. Función Antifúngica.

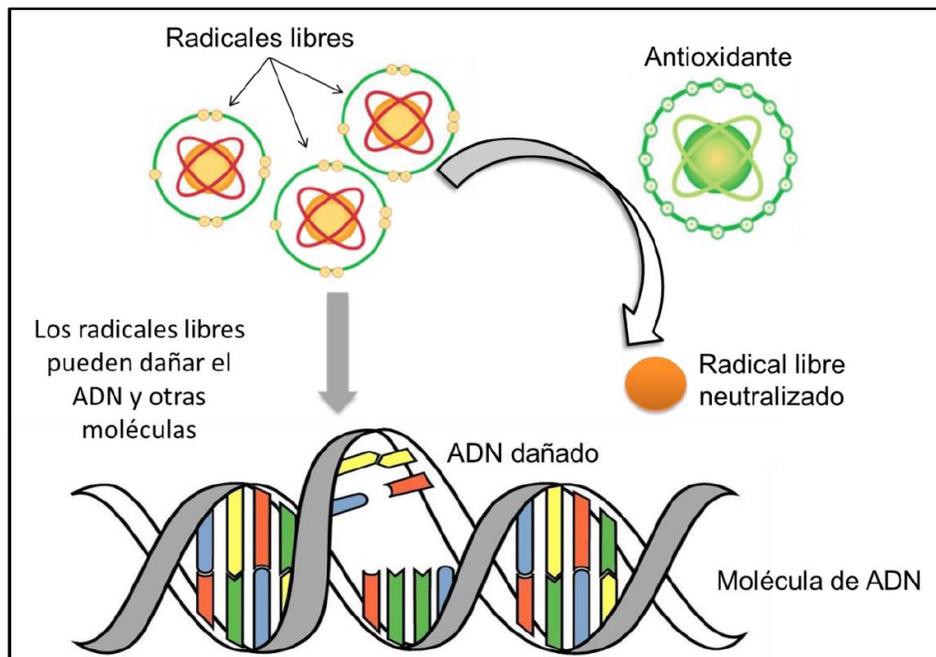
La fruta de granada y, en particular, su cáscara, son notables por ser ricas en compuestos polifenólicos. Numerosos estudios han documentado sus destacadas propiedades antifúngicas, junto con otras virtudes como sus efectos antiprotozoarios, antioxidantes, anticancerígenos, antiinflamatorias y antibacterianos (Abdullah, 2014).

En relación con su capacidad antifúngica, se han propuesto varios mecanismos de acción. Algunas investigaciones sugieren que los compuestos en la cáscara de granada pueden afectar la integridad de las estructuras celulares de los hongos, lo que resulta en la inhibición del crecimiento micelial. Además, estos compuestos pueden provocar alteraciones en la morfología celular de los hongos. En conjunto, estos efectos contribuyen a su acción antifúngica.

### 1.2.1.3. Función Antioxidante.

Los antioxidantes son sustancias que, cuando se agregan a los alimentos, pueden extender su vida útil. En los últimos años, ha habido un aumento significativo en la búsqueda de antioxidantes naturales, especialmente aquellos de origen vegetal. Una alternativa que ha ganado interés es el uso de la cáscara de granada, ya que demuestra un fuerte potencial antioxidante al combatir la peroxidación de lípidos, la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). Esto respalda su aplicación como agente antiaterosclerótico y conservante natural en alimentos (Aviram & Dornfeld 2001; Aviram, 2002; Singh et al., 2002).

Los antioxidantes, en su mayoría, están compuestos principalmente por compuestos fenólicos y tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres (Gil et al., 2000; Noda et al., 2002). A estos compuestos fenólicos se le atribuye su poder antioxidante debido a su capacidad para inhibir los radicales libres, que pueden desencadenar reacciones de oxidación y dañar moléculas críticas. Los antioxidantes pueden contrarrestar estos radicales libres, evitar su formación o propagación, y también pueden quelar metales que son esenciales para las enzimas de oxidación (Figura 24). La actividad antioxidante de los compuestos polifenólicos depende del número y la ubicación de los grupos hidroxilo en el anillo aromático (Sánchez et al., 2007).



**Figura 24.** Capacidad de los compuestos fenólicos para neutralizar radicales libres mediante la donación de electrones y proteger biomoléculas del daño oxidativo Ayala (2014).

### 1.3. Polímeros

Un polímero puede definirse como una macromolécula formada por la unión de moléculas más pequeñas, llamadas monómeros, mediante enlaces covalentes (Labeaga, 2018). Estos pueden clasificarse de diversas maneras, ya sea según su origen, la estructura de las macromoléculas o su aplicación. Sin embargo, la clasificación más común se basa en su origen, y en este sentido, existen dos categorías principales:

- ▶ **Polímeros naturales:** Los polímeros naturales son aquellos que provienen del reino vegetal o animal, son sustancias producidas por organismos vivos y se utilizan sin modificar. Esta categoría abarca una amplia variedad de ejemplos, como la celulosa, el almidón y el caucho natural. Además, incluye polímeros vitales en los organismos, como las proteínas, los polisacáridos y los ácidos nucleicos, que a menudo se denominan biopolímeros (Hermida, 2011; Cianciosi, 2014).

- ▶ **Sintéticos:** Estos polímeros se obtienen mediante procesos de polimerización controlados por el ser humano, a partir de materias primas de bajo peso molecular. Pueden o no estar compuestos por monómeros naturales. En esta categoría también se encuentran los polímeros semisintéticos, que resultan de la modificación o purificación de monómeros naturales (Cianciosi, 2014).

#### 1.4. Biopolímeros

Los polímeros naturales, también conocidos como biopolímeros, han surgido como la mejor alternativa para abordar los problemas de contaminación asociados al uso de polímeros sintéticos. Estos compuestos son producidos por organismos vivos y desempeñan funciones biológicas, estructurales (como los polisacáridos) y de defensa o regulación de la actividad acuosa (como las biopelículas) (Marroquín, 2020).

Las fuentes naturales de biopolímeros comprenden diversos grupos biológicos, incluyendo algas, plantas, animales, bacterias y hongos. Estos biopolímeros presentan ventajas significativas en comparación con los materiales sintéticos, como su biocompatibilidad, baja antigenicidad y capacidad de renovación. Además, son biodegradables, lo que significa que pueden convertirse en agua, dióxido de carbono, metano, compuestos inorgánicos o biomasa (Siracusa et al., 2008; Song et al., 2009).

Los biopolímeros abarcan una amplia variedad de moléculas con propiedades fisicoquímicas específicas que actualmente se están aprovechando en diversos sectores. En la industria alimentaria, por ejemplo, se utilizan para modificar las propiedades reológicas de los productos, actuar como estabilizantes y emulsificantes debido a su capacidad para interactuar con

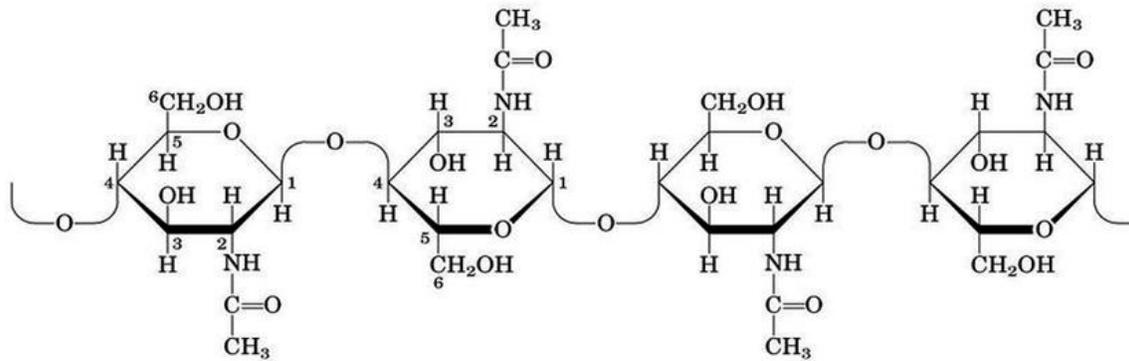
el agua, encapsular sabores y aromas, desempeñar un papel como nutraceúticos y formar geles o películas (Vijayendra & Shamala,2014; Mohammadinejad et al.,2020, Marroquín et al.,2020).

Los polisacáridos son biopolímeros ampliamente empleados en aplicaciones de recubrimientos comestibles debido a su solubilidad en agua, disponibilidad y bajo contenido de alérgenos. Sus propiedades mecánicas y estructurales se deben a una red hidrófila de enlaces de hidrógeno con una estructura ordenada y compacta (Adiletta et al.,2021).

### 1.5. Quitina

La quitina se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza y es el segundo biopolímero más abundante y naturalmente disponible después de la celulosa. Se encuentra como componente estructural y de soporte en una variedad de organismos, como el exosqueleto de animales invertebrados, incluyendo artrópodos (insectos, arácnidos o crustáceos), anélidos, moluscos (cefalópodos), celentéreos y braquiópodos. También se encuentran en las paredes celulares de hongos (micelios y esporas), levaduras y algas (Kurita, 2006; Rinaudo, 2006; Tharanathan & Kittur, 2003). Sin embargo, comercialmente, la quitina se recupera principalmente de fuentes marinas, es decir, de residuos del procesamiento de crustáceos. De hecho, se podrían obtener más de 10,000 toneladas al año a partir de estos residuos de crustáceos (Merzendorfer, 2011).

La quitina es un polímero de  $\beta$ -N-acetil-glucosamina compuesto por aminoazúcares unidos entre sí mediante enlaces glicosídicos  $\beta(1\rightarrow4)$ , formando una cadena lineal de unidades de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa. La quitina, mediante una reacción de desacetilación que elimina al menos un 50 % de sus grupos acetilo, se convierte en quitosano (poli( $\beta$ -N-acetil-glucosamina-co- $\beta$ -glucosamina)) (Figura 25) (Ramírez, 2010).



**Figura 25.** Estructura química de la quitina.

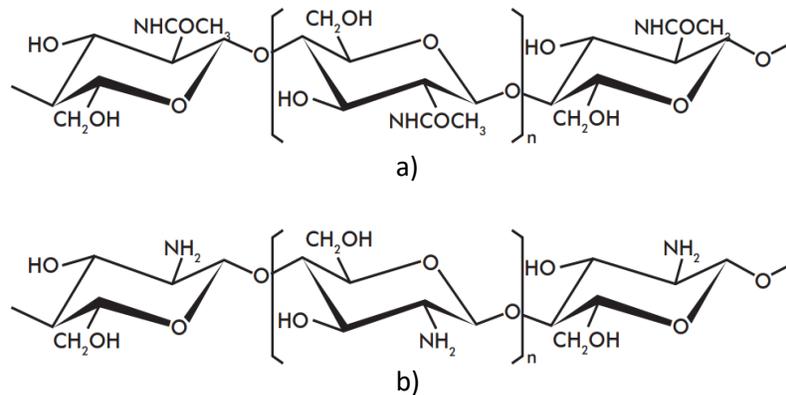
### 1.5.1. Desacetilación

Los grupos amino de la quitina nativa se encuentran en forma acetilada, los cuales pueden estar unidos a cadenas proteicas o como aminas libres. No obstante, durante los procesos comunes de extracción con ácidos y álcalis, se produce una inevitable desacetilación (Kurita et al.,2006; Pacheco,2010). El objetivo de este proceso es obtener quitosano, el cual es un polímero más versátil.

La desacetilación de la quitina a quitosano se lleva a cabo en estado sólido bajo condiciones alcalinas utilizando NaOH concentrado, o mediante hidrólisis enzimática en presencia de la enzima quitina desacetilasa. Este proceso implica la eliminación de grupos acetilos de la cadena de quitina hasta alcanzar un grupo amino completo ( $\text{NH}_2$ )(Figura 26)(Arachchi et al.,2018). La diferencia principal entre la quitina y el quitosano radica en el porcentaje de grupos acetilos que presentan, siendo superior en el caso de quitina.

El grado de desacetilación es un parámetro importante, ya que tiene un efecto significativo en la solubilidad y las propiedades de ambos biopolímeros. La quitina presenta un grado de

acetilación típico de 0.90, mientras que el quitosano posee un grado de acetilación de menos de 0.35 (Cárdenas,2010; Curbelo et al,2021).

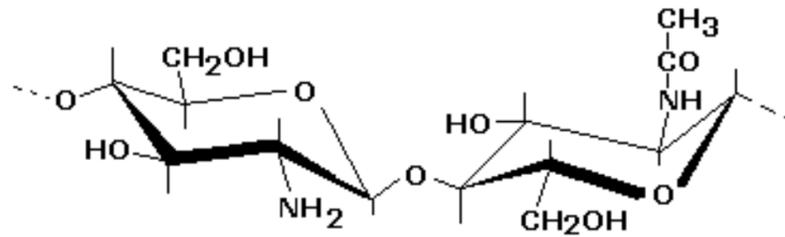


**Figura 26.** Representación de las cadenas de a) quitina totalmente acetilada y b) quitosano totalmente desacetilado Ramírez (2010).

## 1.6. Quitosano

El quitosano, también conocido como quitosán, es un polímero natural derivado de crustáceos como cangrejos, gambas y langostas. Además, es un polisacárido policationico que se encuentra de forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos, como el *Mucor rouxii*. No obstante, la fuente más importante de quitosano a nivel industrial es la quitina.

El quitosano es un polisacárido lineal compuesto por unidades de N-acetil-D-glucosamina unidas por enlaces  $\beta(1\rightarrow4)$ -glicosídicos, y se obtiene mediante la N-desacetilación parcial de la quitina (Aider,2010). El grado de acetilación suele ser inferior al 30-40 %, aunque para que el quitosano sea considerado como tal, debe alcanzar al menos un grado de desacetilación del 50 % (Rinaudo, 2006; Shahidi & Abuzaytoun, 2005; Contreras, 2015).



**Figura 27.** Estructura química del quitosano (unidad repetitiva) Cusihamán (2017).

### 1.6.1. Peso Molecular

El peso molecular del quitosano puede afectar algunas de sus características fisicoquímicas y sus efectos antimicrobianos. Se ha demostrado que el quitosano de bajo peso molecular, con un peso molecular medio inferior a 10 kDa, posee una mayor actividad antimicrobiana en comparación con el quitosano nativo de alto peso molecular (Uchida et al. 1989; Aider,2010).

Este comportamiento puede explicarse por el hecho de que el quitosano de bajo peso molecular es más soluble en medios acuosos que el quitosano de alto peso molecular. Esta solubilidad es de gran importancia, ya que permite que el quitosano interactúe con los sitios activos de los microorganismos objetivo (Aider,2010).

El quitosano de menor peso molecular tiene la capacidad de penetrar en el núcleo celular, interfiriendo en la síntesis de ARNm y, en última instancia, inhibiendo la síntesis de proteínas. Por otro lado, el quitosano de mayor peso molecular puede interactuar con la membrana celular, alterando su permeabilidad. Además, el quitosano actúa como un agente quelante al unir selectivamente los metales de transición traza, lo que contribuye a inhibir la producción de toxinas y el crecimiento microbiano (Atay,2018).

### *1.6.2. Propiedades*

El quitosano es uno de los biopolímeros que ha atraído considerable atención debido a su versatilidad y su capacidad para ser utilizado en diversas industrias. Se trata de un compuesto biocompatible, biodegradable, bifuncional y no tóxico que presenta diversas propiedades biológicas. Entre ellas, se destacan su fuerte actividad antimicrobiana y antifúngica, así como sus propiedades emulsionantes, dietéticas, quelantes, antioxidantes, floculantes y prebióticas (Maleki & Milani, 2020; Yang et al., 2016; Assadpour,2019; Aider,2010).

Además de estas propiedades, el quitosano es un polímero versátil que exhibe buenas propiedades mecánicas y posee la capacidad de formar películas. También muestra permeabilidad selectiva a los gases (Caner et al.,1998; Wiles et al.,2000), lo que le permite modular la atmósfera interna de productos, reduciendo la cinética de procesos biológicos vitales en tejidos vegetales, como la tasa de transpiración y respiración. Esto a su vez, contribuye a prolongar la vida útil de los productos (Caner, 1998; El Ghaouth,1991a; El Ghaouth,1991b).

El uso del quitosano para el control de enfermedades fúngicas en la poscosecha ha ganado considerable interés debido a los problemas asociados con el uso de agentes químicos y al aumento de la tolerancia de los agentes patógenos poscosecha a los fungicidas. El quitosano ha demostrado reducir el crecimiento de numerosos hongos in vitro, retrasando tanto el inicio como el desarrollo de las infecciones (Muzzarelli, et al.,1977). Esta propiedad se relaciona con su naturaleza policatiónica.

### 1.6.3. Aplicaciones

Desde una perspectiva biológica, el quitosano presenta propiedades singulares, lo que ha conducido a su uso en una amplia gama de sectores, ya sea de manera independiente o en combinación con otros polímeros naturales. Estos sectores abarcan la industria alimentaria, farmacéutica, textil, agrícola, médica, tratamiento de aguas y cosmética (Roberts,1992; Arvanitoyannis et al.,1998; Arvanitoyannis,1999; Haque et al.,2005; Kim & Rajapakse.,2005; Yamada et al.,2005).

#### ► Alimentos

La creciente exigencia de los consumidores en cuanto a la calidad y seguridad microbiológica de los alimentos, junto con la necesidad de prolongar la vida útil de los productos, ha impulsado a la industria a desarrollar nuevas estrategias de conservación. En este contexto, el quitosano se emplea principalmente como aditivo alimentario o conservante, además de formar parte de materiales de envasado. Su aplicación no solo busca ralentizar el crecimiento de microorganismos en los alimentos, sino también mejorar la calidad y duración de los productos (Kong,2010).

Dentro de sus usos específicos se incluye su función como espesante, emulsionante, estabilizante de color y aroma, antioxidante y agente antimicrobiano. También se utiliza en procesos de clarificación y desacidificación de zumos y bebidas fermentadas, en la floculación y recuperación de residuos sólidos, así como en la elaboración de productos alimenticios con valor agregado, como películas y recubrimientos comestibles con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Higueras, 2015).

En la industria de frutas y hortalizas, se ha confirmado que el quitosano posee la capacidad de retrasar el desarrollo de microorganismos que pueden ocasionar deterioro durante la etapa postcosecha (Ziani et al.,2009; Fernández,2015). Además, puede ser utilizado en la formulación de sistemas de liberación controlada para ingredientes activos, como vitaminas o sabores.

► **Fabricación de sensores**

El quitosán sirve como matriz para la inmovilización de enzimas, anticuerpos y otras moléculas sensibles a la detección de analitos específicos.

► **Agricultura**

En la agricultura, el quitosano se emplea como biopesticida o biofungicida para el control de plagas y enfermedades, al mismo tiempo que regula el crecimiento de las plantas, mejorando la disponibilidad y las propiedades de los nutrientes y la calidad del suelo. También se utiliza como recubrimiento de semillas para su preservación y almacenamiento.

► **Farmacéutica y biomedicina**

El quitosano encuentra aplicaciones en la industria farmacéutica y biomédica, donde se utiliza como anticoagulante sanguíneo, biomaterial para la regeneración ósea, agente antimicrobiano, apósitos para heridas, lentes de contacto, implantes dentales, inmunoadyuvante, sistemas de liberación de principios activos, microcápsulas, microsferas, entre otros (Espinoza,2020; Higuera,2015).

## 1.7. Envasado activo

En los últimos años, ha surgido un nuevo concepto de envase conocido como “envase activo”, que va más allá de las funciones de un envase tradicional. Este tipo de envase tiene la capacidad de interactuar con el producto y/o su entorno con el objetivo de mejorar uno o varios aspectos relacionados con su calidad y seguridad (Catalá & Gavara, 2001; Rooney, 1995; Contreras,2015).

En el envasado activo, el sistema formado por el alimento, el envase y su entorno actúa de manera coordinada para lograr diversos objetivos, que incluyen la prolongación de la vida útil de los alimentos, la mejora de sus características organolépticas, la preservación de su calidad y seguridad alimentaria, así como la facilitación de su procesamiento y consumo (Catalá y Gavara, 2001; Fernández & Álvarez, 2000). El envase activo se diseña específicamente para incorporar intencionadamente agentes activos que pueden liberarse en el alimento envasado o en su entorno, o bien, pueden absorber sustancias del alimento o su entorno (CE, 2004, CE, 2009; Contreras,2015).

### 1.7.1. *Envasado Activo Antimicrobiano*

El envasado activo antimicrobiano es una técnica de envasado diseñada para mejorar la seguridad y la vida útil de los alimentos, al prevenir y controlar el crecimiento de microorganismos, como bacterias y hongos, que pueden causar deterioro y riesgos para la salud. Esta estrategia innovadora implica la inclusión de componentes antimicrobianos en los propios envases, lo que permite una interacción beneficiosa con los alimentos envasados.

Estos envases contienen ingredientes con propiedades antimicrobianas, que pueden ser de origen natural, como aceites esenciales, extractos de plantas, o compuestos específicamente diseñados para esta función. Los componentes antimicrobianos liberan gradualmente sustancias que inhiben el crecimiento y la proliferación de microorganismos en la superficie de los alimentos o del envase (Appendini & Hotchkiss, 2002). Al extender la vida útil de los alimentos, este tipo de envase contribuye a reducir el desperdicio de alimentos, al minimizar el deterioro y la contaminación microbiana.

Por lo tanto, los envases activos antimicrobianos se presentan como una alternativa viable, ya que permiten liberar de manera controlada y sostenida agentes antimicrobianos en la superficie del alimento (Appendini y Hotchkiss, 2002; Coma, 2008; Ouattara et al., 2000; Contreras, 2015; Higuera, 2015). Esta estrategia se ha convertido en una solución prometedora y económicamente eficiente, respaldando la seguridad y calidad de los productos alimenticios sin afectar negativamente sus propiedades sensoriales.

### **1.8. Películas y Recubrimientos Comestibles**

La creciente demanda de los consumidores de alimentos de alta calidad y mayor seguridad microbiológica obliga a los investigadores y a la industria a desarrollar nuevas estrategias de conservación de alimentos. Para satisfacer estos requerimientos, la industria alimentaria utiliza varias películas o recubrimientos comestibles biodegradables basados en polímeros y proteínas de grado alimentario, polisacáridos y lípidos que podrían servir como materiales comestibles (Olivas & Barbosa-Canovas, 2008; Sothornvit & Rodsamran, 2008).

Un recubrimiento comestible se puede definir como una matriz continua, transparente, delgada y comestible que se estructura alrededor de un alimento. Por lo general, se forma sumergiendo el alimento en una solución que crea el recubrimiento con el fin de preservar su calidad y servir como envoltura. En cambio, una película comestible es una matriz preformada que se obtiene mediante moldeo y tiene un grosor siempre mayor que el de los recubrimientos (Del Valle *et al.*,2005; Fernández,2015).

Las películas y recubrimientos comestibles basados en biopolímeros tienen la finalidad de funcionar como barreras contra la humedad, el oxígeno, el sabor y el aroma, mejorando así la calidad de los alimentos y prolongando su vida útil (Maura *et al.*,2008; Yu *et al.*,2012). También pueden brindar protección física a los alimentos, reduciendo los golpes y las roturas, lo que mejora aún más su calidad. Además, las películas de biopolímeros son excelentes para incorporar una amplia variedad de aditivos como antioxidantes, agentes antifúngicos, antimicrobianos, colores y otros nutrientes (Maura *et al.*2009; Pilon,2015).

### *1.8.1. Características y Propiedades*

Las películas o recubrimientos deben cumplir ciertas exigencias funcionales que les permiten controlar o reducir las causas de alteraciones de los alimentos que recubren. Algunas de las características y propiedades con las que deben contar incluyen:

- ▶ Deben ser seguros para la salud, libres de sustancias tóxicas.
- ▶ Deben estar hechos de materiales biodegradables y biocompatibles, reconocidos como seguros para su uso en alimentos (GRAS) o aditivos alimentarios.
- ▶ Deben poder ser fabricados con tecnología sencilla.

- ▶ Deben mantener el brillo y la transparencia dentro de un rango adecuado para su aplicación específica.
- ▶ Deben ofrecer protección contra factores físicos, químicos y mecánicos que puedan afectar al alimento.
- ▶ Deben ser transparentes y no afectar negativamente al sabor, el olor o la textura durante su consumo.
- ▶ Deben mejorar las propiedades mecánicas del alimento y preservar su textura.
- ▶ Deben prolongar la vida útil de los alimentos al controlar el desarrollo de microorganismos.
- ▶ Deben regular diversas condiciones superficiales o de interfaz del alimento mediante la adición de aditivos como antioxidantes, agentes antimicrobianos y nutrientes.
- ▶ Deben actuar como barreras para la transferencia de sustancias, ser permeables al vapor de agua y solutos, y tener una permeabilidad selectiva a gases y compuestos volátiles, tanto hacia el interior como hacia el exterior del alimento.
- ▶ Deben mejorar la integridad estructural de productos alimentarios frágiles.

(Fernández,2015 ; Deng et al.,2017 ; Bajpai et al.,2010)

### *1.8.2. Recubrimientos y Películas de Quitosano*

Los recubrimientos de polisacáridos han demostrado ser eficaces en la conservación de productos frescos. Los elaborados con base en quitosano se consideran los mejores recubrimientos comestibles y biológicamente seguros (Hirano,1999). Esto se debe a la alta densidad de grupos amino y grupos hidroxilos presentes en la estructura polimérica del quitosano, que permiten el transporte eficiente de diversas sustancias funcionales, como antioxidantes, antimicrobianos y

aromas, para su liberación controlada (Dutta et al.,2009). Además, el quitosano posee propiedades antibacterianas y antifúngicas que protegen de manera innata los alimentos (Aider,2010).

Las películas de quitosano han sido utilizadas exitosamente como materiales de envasado para conservar la calidad de diversos alimentos (Ouattara et al.,2000). Estas películas presentan una permeabilidad selectiva a los gases ( $\text{CO}_2$  y  $\text{O}_2$ ) y buenas propiedades mecánicas. Sin embargo, su alta permeabilidad al vapor de agua limita sus aplicaciones (Butler et al.,1996; Caner et al.,1998), lo cual es un inconveniente significativo, ya que un control efectivo de la transferencia de humedad es una propiedad deseable para la mayoría de los alimentos. No obstante, las propiedades funcionales de las películas a base de quitosano pueden mejorarse al combinarlas con otros hidrocoloides (Park et al., 2002; Xu et al., 2004).

## 1.9. Nanotecnología

En 1959, Richard Feynman introdujo la idea de la nanotecnología, mientras que el término “nanotecnología” en sí fue acuñado en 1974 por el ingeniero japonés Norio Taniguchi (Warad & Dutta,2005). La nanotecnología se enfoca en estructuras que tienen un tamaño de 100 nm o menos en al menos una dimensión y se utilizan para desarrollar dispositivos o materiales dentro de estos límites de tamaño. En términos generales, la nanotecnología se define como el estudio, la fabricación y la aplicación de sistemas estructurados con dimensiones a nanoescala, que van desde 1 a 100 nm (Momin et al.,2013; Neethirajan & Jayas,2010).

La nanotecnología implica el diseño y desarrollo de materiales tanto orgánicos como inorgánicos a escala nanométrica, con propiedades físicas, químicas y biológicas personalizadas. Cuando el tamaño de las partículas se reduce por debajo de este umbral, el material resultante

exhibe propiedades físicas y químicas significativamente diferentes a las de los materiales a macroescala compuestos por la misma sustancia base.

El estudio de los alimentos a nivel nanométrico también se conoce como nanotecnología alimentaria y se puede definir como un conjunto coherente y sistemático de conocimientos que se centra en la nanoescala de los materiales alimentarios y su comportamiento en diversas condiciones. Esto se hace con el propósito de desarrollar nuevos sistemas y procesos para modificar los alimentos y agregarles valor. Esta tecnología tiene una amplia aplicación en el procesamiento y la conservación de los alimentos modernos.

### *1.9.1. Nanopartículas Poliméricas*

El término “nanopartícula” se refiere a un sólido coloidal compuesto de materiales considerados seguros, como polímeros biodegradables o no, lípidos, proteínas, etc. En estas partículas, una sustancia activa de interés puede ser incorporada, absorbida o unida químicamente, y su tamaño oscila generalmente entre 10 y 100 nm (Quintanar et al.,1998; Pilon,2015).

Existen dos tipos principales de nanopartículas poliméricas según el método de preparación: las nanoesferas y las nanocápsulas. Las nanoesferas son sistemas matriciales esféricos en lo que el agente activo se dispersa de manera uniforme dentro de una matriz polimérica. Por otro lado, las nanocápsulas son sistemas vesiculares que rodean el agente activo en una cavidad encapsuladora por una cubierta polimérica. Esta cubierta controla la liberación de el según su naturaleza. Estas diferencias en la estructura dan lugar a diferentes propiedades en cuanto a la liberación del contenido. El tipo de nanopartícula que se elija dependerá del método de elaboración, y de las propiedades químicas, físicas y las características del compuesto activo que se va a encapsular (Urrejola, 2018).

### 1.9.2. *Métodos de Elaboración de las Nanopartículas*

Existen diversos métodos para sintetizar nanopartículas que permiten el encapsulamiento de moléculas tanto hidrófobas como hidrófilas. Los principales métodos de síntesis de nanopartículas se describen a continuación:

- ▶ **Método de emulsión/evaporación:** Este método implica la emulsión de dos fases, una acuosa con un agente emulsionante y una fase orgánica inmisible en agua, que contiene un principio activo y un polímero que formará la matriz. Para lograr una dispersión homogénea, se requiere un sistema de agitación mecánica. Una vez formada la emulsión, comienza la evaporación del solvente orgánico, que debe ser adecuadamente volátil. Esto conduce a que el polímero se precipite, encapsulando principios activos hidrófobos (Lee et al.,2016; Urrejola,2018).
- ▶ **Método de doble o múltiple emulsión:** Este método permite el encapsulamiento de moléculas hidrofílicas mediante la doble emulsión (Pinto et al.,2006; Lee et al.,2016). En este proceso, una molécula hidrófila se combina con un surfactante y se disuelve en agua. Luego, se forma una emulsión mediante la dispersión de la fase acuosa en una fase orgánica que contiene un polímero disuelto (Urrejola,2018).
- ▶ **Método de difusión de emulsificación:** Este método utiliza un solvente parcialmente soluble, como la acetona, en la que se disuelven polímeros o compuestos bioactivos. Luego, esta solución se emulsiona en una fase acuosa que contiene un estabilizador para evitar la agregación de las gotas en la emulsión. Finalmente, se agrega agua a la emulsión para disolver el solvente y precipitar las nanopartículas (Pinto et al.,2006).
- ▶ **Método de nanoprecipitación:** En este método, las moléculas bioactivas y el polímero se disuelven en acetona, y luego se añade una solución acuosa que contiene tensoactivos. La

acetona se evapora, y las nanopartículas permanecen suspendidas en una solución acuosa (Pinto et al.2006; Lee et al.2016; Urrejola,2018).

- **Gelificación ionotrópica:** En este enfoque, las nanopartículas se forman mediante la agregación de moléculas poliméricas debido a la interacción entre un polisacárido de carga positiva y especies cargadas negativamente. El tripolifosfato de sodio (TPP) se utiliza como agente entrecruzante, lo que provoca la formación de nanopartículas al agregarlo a la solución de quitosano bajo condiciones adecuadas de temperatura y agitación, debido a la interacción de cargas opuestas (Calvo et al.,1997; Caro,2019).

### *1.9.3. Nanopartículas de Quitosano*

El quitosano ha demostrado ser un material sumamente versátil utilizado en la encapsulación de una amplia variedad de vitaminas, proteínas, nutrientes y compuestos activos (Hu et al.,2008; Jang & Lee,2008) debido a su no toxicidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad y su capacidad para formar películas, geles, perlas y partículas (Feyzioglu & Tornuk,2016). Las nanopartículas de quitosano, en particular, presentan ventajas adicionales al ser modificables con ligandos específicos que les permiten interactuar más equilibradamente con las membranas celulares. Esto facilita una entrega precisa de ingredientes activos en el sistema alimentario. Además, debido a su tamaño, estas nanopartículas tienen la capacidad de penetrar en las células del hongo causante de antracnosis, interfiriendo con sus procesos metabólicos. Como resultado, se reduce significativamente la capacidad del patógeno para causar daños en las plantas de mango, especialmente en los frutos (Duceppe & Tabrizian, 2010; Sabaghi et al., 2021; Assadpour,2019).

Más aún de su papel en la inhibición de la antracnosis, las nanopartículas de quitosano ofrecen múltiples ventajas en aplicaciones alimentarias y agrícolas. La encapsulación con quitosano resulta útil para minimizar el sabor y el olor desagradable de ciertos extractos volátiles,

como aquellos utilizados en la fortificación de productos alimenticios. Así mismo, brinda protección a los ingredientes activos encapsulados, permitiéndoles resistir condiciones ambientales adversas, como la humedad y la oxidación, garantizando así su estabilidad y eficacia a lo largo del tiempo.

En resumen, las propiedades únicas de las nanopartículas de quitosano las convierten en una herramienta valiosa para mejorar la calidad y la resistencia de los frutos de mango frente a la antracnosis (Irastorza et al., 2021; Milani & Maleki, 2012; Rattanawongwiboon et al., 2020).

#### *1.9.4. Recubrimientos con nanopartículas*

La aplicación de nanocompuestos promete ampliar el uso de películas y recubrimientos comestibles y biodegradables (Lagarón et al.,2005; Sinha Ray & Bousmina,2005; Sorrentino et al.,2007), ya que proporciona un nivel adicional de seguridad y funcionalidad que, a su vez, aumenta potencialmente la vida útil de los alimentos (Bourbon et al.,2011; Shanmuga et al.,2015).

Cuando se incorporan a una matriz polimérica, las nanopartículas pueden mejorar las propiedades mecánicas y de barrera, además de actuar como agentes antimicrobianos, como en el caso del quitosano, lo que beneficia la calidad y la seguridad de los alimentos (Belbekhouche et al.,2011; Martelli et al.,2013).

Con cargas relativamente bajas de nanopartículas, los compuestos poliméricos se refuerzan, ya que las cadenas dentro de estos nanocompuestos se restringen a dominios confinados entre las láminas de las películas. Por ejemplo, la combinación de la restricción de cadenas, la alineación de nanopartículas (es decir, nanoestructura) y una fuerte interacción superficial da como resultado mejoras en las propiedades mecánicas, así como una disminución en la permeabilidad a gases y líquidos (De Morua et al.,2009).

### *1.9.5. Objetivos de la Nanotecnología*

Los científicos y tecnólogos de alimentos se dedican a satisfacer la demanda de los consumidores y aumentar el suministro mundial de alimentos diseñando productos con características distintivas, como ser saludables, apetecibles, estables en el tiempo, nutritivos y seguros. En este sentido, la nanotecnología busca ofrecer formas novedosas de producir productos superiores de manera sostenible, manteniendo claros los siguientes objetivos:

- ▶ Garantizar una mejor respuesta sensorial mediante sabores nanoencapsulados.
- ▶ Mejorar el valor nutricional y nutracéutico de los alimentos mediante la encapsulación y suministro directo de nutrientes en los tejidos objetivo, lo que aumenta la biodisponibilidad y mejora el estado de salud general.
- ▶ Mejorar la vida útil del producto mediante la introducción de nanoestructuras antibacterianas en la matriz alimentaria o en el envase que los rodea.
- ▶ Controlar la calidad y seguridad del producto final utilizando nanosensores.
- ▶ Desarrollar y formular alimentos fortificados y funcionales.

Sin embargo, los beneficios de la nanotecnología no se limitan a los alimentos, sino que también se extienden al material que rodea a los alimentos, como los sistemas de procesamiento, los aditivos y los envases del producto.

### *1.9.6. Aplicaciones de la Nanotecnología en el Sector Alimentario*

En los últimos años, la nanotecnología ha revolucionado la industria alimentaria, mejorando la calidad y seguridad de los productos. Esta tecnología se emplea en diversas fases de la producción, incluyendo el procesamiento, envasado, etiquetado, transporte y en los controles de calidad posteriores a la producción de los alimentos.

La nanotecnología tiene una amplia gama de aplicaciones en la industria alimentaria. Estas van desde el uso de nanosensores, dispositivos de seguimiento, suministro selectivo de componentes esenciales, seguridad alimentaria, hasta la generación de alimentos funcionales, mejora sensorial, prolongación de la vida útil, procesamiento de precisión, envasado inteligente, entre otros (Huang et al.,2010; Duncan,2011; Shukla,2012).

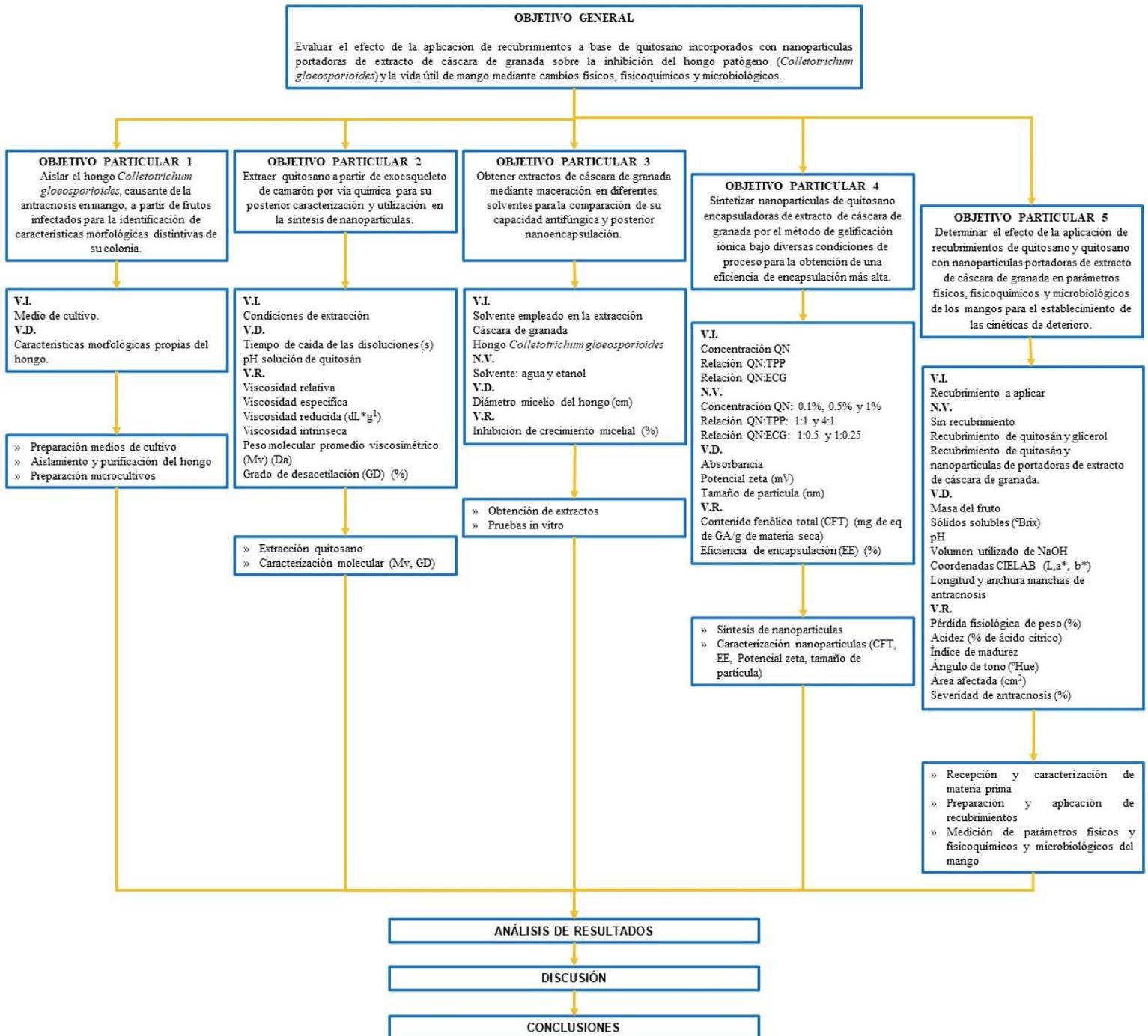
Un resumen de este diverso campo de aplicaciones de la nanotecnología en el sector alimentario se representa en la Figura 28.



**Figura 28.** Posibles aplicaciones de la nanotecnología en los productos alimentarios. Elaboración propia adaptada a partir de Grumezescu & Holban, (2018).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1. Cuadro Metodológico



## 2.2. Objetivos

### 2.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano incorporados con nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada sobre la inhibición del hongo patógeno (*Colletotrichum gloeosporioides*) y la vida útil de mango mediante cambios físicos, fisicoquímicos y microbiológicos.

### 2.2.2. Objetivos particulares

1. Aislar el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, causante de la antracnosis en mango, a partir de frutos infectados para la identificación de características morfológicas distintivas de su colonia.
2. Extraer quitosano a partir de exoesqueleto de camarón por vía química para su posterior caracterización y utilización en la síntesis de nanopartículas.
3. Obtener extractos de cáscara de granada mediante maceración en diferentes solventes para la comparación de su capacidad antifúngica y posterior nanoencapsulación.
4. Sintetizar nanopartículas de quitosano encapsuladoras de extracto de cáscara de granada por el método de gelificación iónica bajo diversas condiciones de proceso para la obtención de una eficiencia de encapsulación más alta.
5. Determinar el efecto de la aplicación de recubrimientos de quitosano y quitosano con nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada en parámetros físicos, fisicoquímicos y microbiológicos de los mangos para el establecimiento de las cinéticas de deterioro.

## 2.3. Materiales y métodos

### 2.3.1. Preparación Medios de Cultivo

Los medios que se utilizaron para el crecimiento de la cepa del hongo *Collectotrichum* fueron agar papa-dextrosa (PDA) y agar papa-mango-dextrosa (MPDA), uno preparado con cáscara de mango y otro con la pulpa de este.

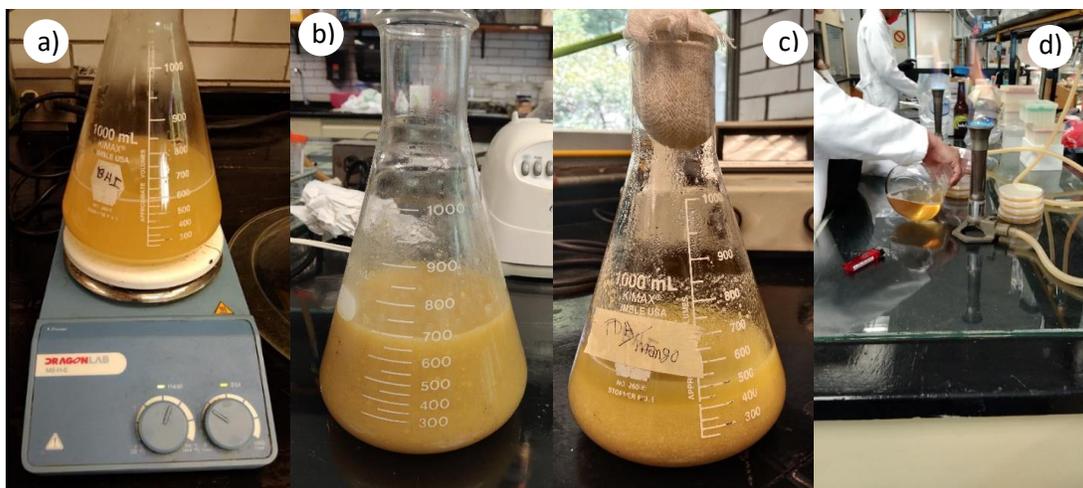
#### ► Agar papa-dextrosa (PDA)

La preparación de este medio se llevó a cabo usando papa natural, por lo que se colocaron 500 g de papa previamente lavada y picada en trozos medianos en 1 L de agua destilada hasta la cocción de esta. Una vez transcurrido este tiempo, se filtró y en el líquido obtenido se disolvieron 15 g de agar bacteriológico marca MCD LAB y 10 g de Dextrosa Anhídrida en polvo marca J.T.Baker. con ayuda de un agitador magnético. El cultivo se esterilizó en autoclave a 15 lb de presión durante 15 minutos, posteriormente se enfrió y vertió el contenido en cajas Petri estériles manteniendo un ambiente estéril con ayuda de mecheros Bunsen.

#### ► Agar papa-mango-dextrosa (MPDA)

Como en el caso del agar papa-dextrosa (PDA) este agar se preparó con papa y mango natural. Se colocaron 500 g de papa previamente lavada y picada en trozos medianos en 1 L de agua destilada hasta la cocción de esta. Una vez transcurrido este tiempo, se filtró y en el líquido obtenido se disolvieron 15 g de agar bacteriológico marca MCD LAB y 10 g de Dextrosa Anhídrida en polvo marca J.T.Baker, así como 20 g de cáscara de mango triturada. El cultivo se esterilizó en autoclave a 15 lb de presión durante 15 minutos, posteriormente se enfrió y vertió el contenido en cajas Petri estériles manteniendo un ambiente estéril con ayuda de mecheros Bunsen.

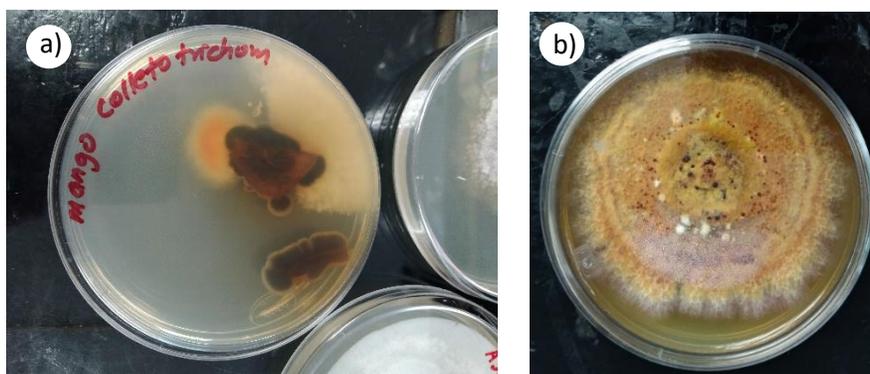
En lo concerniente al preparado con pulpa, se repitió la misma metodología cambiando la cáscara de mango triturada por 20 g de pulpa de mango molida como se muestra en la Figura 29.



**Figura 29.** Preparación medios de cultivo a) Agar papa-dextrosa (PDA), b) Agar papa-mango-dextrosa (MPDA), c) Agar papa-mango dextrosa (MPDA) pulpa de mango, d) Vaciado del medio en cajas Petri.

### 2.3.2. Aislamiento y Purificación del Hongo

El aislamiento de las cepas de hongo *Colletotrichum* se realizó a partir de tejido vegetal infectado de mangos variedad Manila. Primeramente, se hicieron cortes de 5 x 5 mm con navajas estériles; procurando tomar parte sana e infectada del epicarpio. Los cortes se depositaron en cajas petri con medio agar papa dextrosa (PDA), estas se sellaron con parafilm y se incubaron a 25 °C hasta obtener el desarrollo de las colonias (Figura 30).



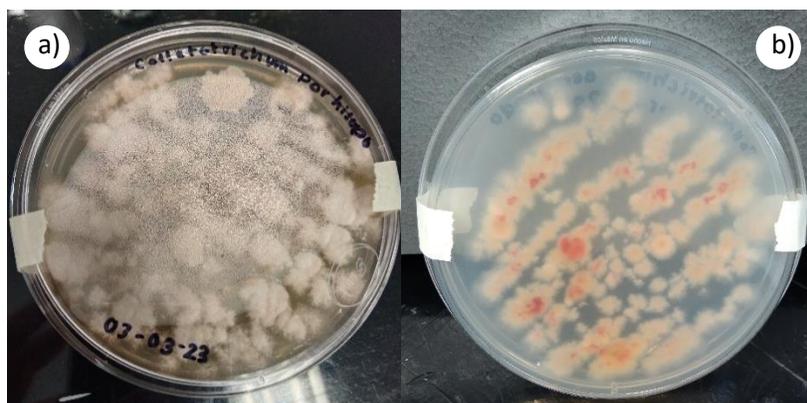
**Figura 30.** Cultivo de hongo *Collectotrichum* a) Colonias presentes b) Cultivo 10 días de incubación.

Dado que, en el medio de cultivo crecieron múltiples colonias de hongos, se tuvo que realizar el aislamiento de cada una de estas (Figura 31); para esto se utilizó un sacabocados y cajas con cultivo PDA, dichas cajas fueron incubadas a 25°C hasta el desarrollo de las colonias.



**Figura 31.** Colonias aisladas de hongos presentes en mango variedad Manila.

Por cada muestra, se humedeció un hisopo con solución salina isotónica estéril y se pasó sobre las colonias tratando de recolectar la mayor cantidad de muestra posible. El hisopo se estrió en cajas petri con PDA (Figura 32), con la finalidad de dispersar las colonias y observar que no existiera la presencia de múltiples cepas.



**Figura 32.** Colonias aisladas por hisopo presentes en mango variedad Manila a) Vista frontal cultivo, b) Vista posterior colonias aisladas

### 2.3.3. Preparación Microcultivos

Las colonias fúngicas resultantes fueron sometidas a identificación por asociación de aspectos macroscópicos y microscópicos, utilizando microcultivos. Según Arenas (1993), este método es el más preciso y permite la observación de las estructuras fúngicas *in situ*.

Para llevar a cabo este proceso, se colocó una varilla de vidrio en forma de “v” dentro de una caja Petri. Se añadieron 5 mL de agua destilada estéril junto con 10 gotas de glicerol en la caja, lo cual previno la posterior desecación del medio. Sobre la varilla se posicionó un portaobjetos y, encima de este, se dispuso un cuadro de 1 cm x 1 cm de PDA utilizando instrumentos estériles. Con un asa de platino, se tocó ligeramente el hongo a propagar y se sembró en un ángulo de 45° en las esquinas del cuadro de PDA. Luego, se colocó un cubreobjetos sobre este para evitar la formación de burbujas, lo que también promovió el crecimiento del micelio en este. El microcultivo se incubó durante 7 días a 25 °C. Al finalizar el período de incubación, se retiró el cubreobjetos y se aplicó una gota de azul de algodón (Figura 33). Luego, la muestra se observó al microscopio con un aumento de 40X.



**Figura 33.** Microcultivos de *Colletotrichum gloeosporioides* en trozos de PDA incubados en caja Petri para su observación en el microscopio a) Microcultivo en PDA, b) Sembrado de hongo *Colletotrichum*, c) Tinción muestras con azul de algodón.

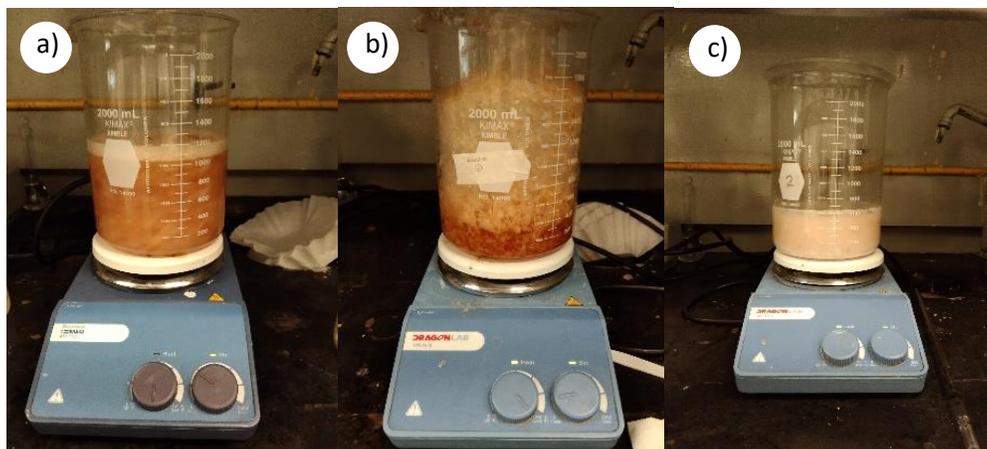
### 2.3.4. Extracción de Quitosano

El quitosano se extrajo de la quitina obtenida del exoesqueleto de camarón, procedente del restaurante “Costeño” localizado en la Ciudad de México. Los caparazones se envasaron en una bolsa de polietileno y se transportaron a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC) en un plazo de 48 horas. A su llegada, las muestras se lavaron con agua corriente de grifo y cloro para eliminar los restos orgánicos. Después se secaron a 60 °C durante 24 h en una estufa (Figura 34a). Tras el secado las muestras se redujeron en una licuadora marca Osterizer hasta obtener hojuelas (Figura 34b).



**Figura 34.** Preparación exoesqueletos de camarón. a) Secado de exoesqueleto de camarón, b) Hojuelas de exoesqueleto de camarón.

La obtención del polímero se llevó a cabo de acuerdo con la Patente Mexicana No. 293022 “Proceso para la extracción de quitina a partir de exoesqueletos de crustáceos y su conversión a quitosano”. Dicho proceso consistió en tres etapas principales, una desmineralización con HCl, una desproteínización con NaOH y finalmente la desacetilación con NaOH concentrado, mediante la cual se obtuvo el quitosán como derivado de la quitina (Figura 35).



**Figura 35.** Proceso de extracción de quitina y su conversión a quitosano. a) Desmineralización, b) Desproteínización y c) Desacetilación.

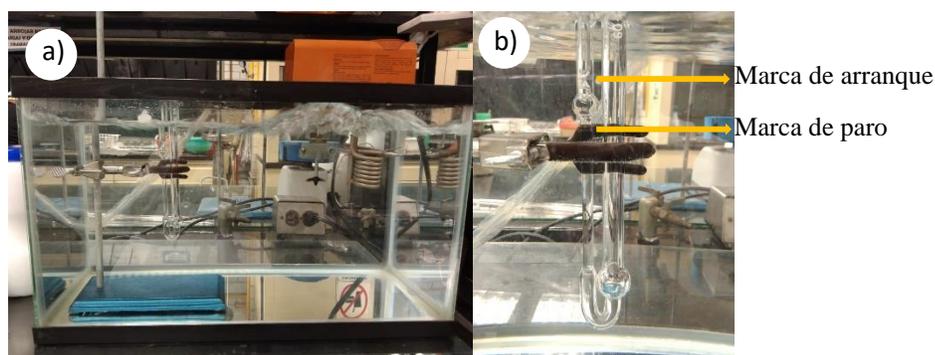
El quitosán obtenido se almacena en una bolsa de polietileno hermética y se conservó a temperatura ambiente. Se pesaron las muestras al inicio y al final de cada etapa para determinar el rendimiento de extracción de cada una de ellas.

### 2.3.5. Caracterización Molecular del Quitosano

El quitosano puede ser caracterizado por numerosas técnicas y métodos analíticos que definen tanto sus propiedades como sus características fisicoquímicas y morfológicas (Romero & Pereira, 2020). Dichas características se ven directamente influenciadas por las diferencias propias de la especie de donde proviene la quitina, así como los métodos de extracción y desacetilación (Hidalgo, 2015; Romero & Pereira, 2020). El grado de desacetilación (DA) y el peso molecular ( $M_w$ ), son las características más críticas en la definición de la funcionalidad del quitosano, por esta razón, el quitosán se caracterizó física y químicamente antes de evaluar su capacidad antimicrobiana y encapsulante. La caracterización se centró fundamentalmente en la determinación del grado de desacetilación (DA) y peso molecular promedio viscosimétrico ( $M_w$ ).

### 2.3.5.1. Determinación de Viscosidad Intrínseca y Peso Molecular Promedio ( $M_w$ ).

Se determinó la viscosidad intrínseca y el peso molecular ( $M_w$ ) promedio del quitosán (QN) por el método de viscosimetría capilar. El biopolímero se secó a 105 °C en una estufa hasta peso constante. Una vez libre de humedad, se pesaron 0.2 g de éste y se disolvieron en 100 mL de una solución buffer de acetato con un pH ~4.6 compuesto por ácido acético ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 0.3 M y acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ) 0.2 M (Murray, 1990) bajo agitación constante por 24 h, transcurrido este tiempo, la solución se filtró. A partir de esta solución de quitosán (0.2 g/dL), se realizaron diluciones de 0.18, 0.16, 0.14, 0.12, 0.10, 0.08, 0.06, 0.04 y 0.02 g/dL. Las viscosidades de las soluciones se midieron empleando un viscosímetro capilar de Ostwald sumergido en un baño termostático a  $25 \pm 1$  °C bajo agitación constante (Figura 36a). Una vez establecidas las condiciones de trabajo, se midió el tiempo de caída entre las dos marcas del viscosímetro (Figura 36b), tanto para la solución buffer como para las diluciones biopoliméricas, efectuándose tres mediciones de tiempo por cada dilución.



**Figura 36.** Determinación de peso molecular promedio del quitosán por viscosimetría capilar. a) Viscosímetro capilar de Ostwald en baño termostático, b) Marcas de inicio y término del viscosímetro.

Con los valores obtenidos, se calculó la viscosidad relativa, específica y reducida de las soluciones de quitosán (Ecuaciones 1,2 y 3). Posteriormente se graficó la viscosidad reducida en función de las concentraciones para determinar la ecuación de la recta y por lo tanto obtener la

viscosidad intrínseca, siendo ésta, la ordenada al origen. El  $M_w$  del quitosán se determinó de acuerdo con la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS)(Ecuación 4), la cual da una relación entre la viscosidad intrínseca  $[\eta]$  y el peso molecular  $M_w$  de un polímero.

$$\eta_{rel} = \frac{t}{t_0} \quad \text{viscosidad relativa} \quad [1]$$

Donde,  $\eta_{rel}$  es la viscosidad relativa,  $t$  es el tiempo de caída de la solución de quitosán (s) y  $t_0$  es el tiempo de caída del buffer (s).

$$\eta_{sp} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad \text{ó} \quad \eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad \text{viscosidad específica} \quad [2]$$

Donde,  $\eta_{sp}$  es la viscosidad específica,  $t$  es el tiempo de caída de la solución de quitosán (s),  $t_0$  es el tiempo de caída del buffer (s) y  $\eta_{rel}$  es la viscosidad relativa.

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad \text{viscosidad reducida} \quad [3]$$

Donde,  $\eta_{red}$  es la viscosidad reducida (dL/g),  $\eta_{sp}$  es la viscosidad específica y  $C$  es la concentración de la solución de quitosán (g/dL).

$$[\eta] = KM_w^\alpha, \quad M_w = 10^{\left(\frac{\log [\eta] - \log K}{\alpha}\right)} \quad [4]$$

Donde;  $[\eta]$  es la viscosidad intrínseca;  $M_w$  es el peso molecular promedio viscosimétrico (Da); y  $K$  y  $\alpha$  son parámetros de Mark-Houwink que dependen de la naturaleza polímero-disolvente a una temperatura determinada.

Los valores reportados de las constantes  $K$  y  $\alpha$  para el quitosán en el buffer utilizado (0.3 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  y 0.2 M  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  con pH  $\sim$  4.6 a 25°C) son  $76.0 \times 10^5$  (dL  $\text{g}^{-1}$ ) y 0.76 respectivamente (Kasaai, 2006).

### 2.3.5.2. Grado de Desacetilación (GD).

El grado de desacetilación (GD) del quitosán se determinó por el método de titulación potenciométrica. El biopolímero se secó a 105 °C en una estufa hasta peso constante. Una vez libre de humedad, se pesaron 0.3 g de éste y se disolvieron en 45 mL de HCl 0.2 M bajo agitación constante por 24 h y se filtró la solución. La solución de quitosán se tituló con NaOH 0.1 M previamente valorado con biftalato de potasio como patrón primario. La medición se realizó empleando un medidor de pH (HORIZON, modelo 5997-20). El pH metro se calibró con soluciones buffer estandarizadas de pH = 4,7 y 10; para lograr mediciones precisas. La titulación se llevó a cabo midiendo el cambio de pH a razón de mililitro de base añadido, registrando los valores de pH en cada adición hasta llegar a pH~12 (Figura 37); la adición se realizó de forma lenta y bajo agitación continua para homogeneizar la solución y evitar errores debido a la posible precipitación del biopolímero (Hidalgo et al.,2008). Se realizaron tres réplicas.



**Figura 37.** Determinación del grado de desacetilación del quitosán por titulación potenciométrica

De esta manera, se obtuvo una curva de titulación (pH frente volumen de base añadida), la cual, presenta dos puntos de inflexión: el primero corresponde a la neutralización del HCl y el segundo a la neutralización de los iones amonio del quitosán (De Alvarenga, 2011). Por lo tanto,

la diferencia entre las dos abscisas corresponde a la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosano (Cárdenas, 2010).

El grado de desacetilación se determinó empleando la ecuación 5 (Hernández et al.,2009). Los puntos de inflexión de las curvas potenciométricas de las soluciones biopoliméricas se determinaron de acuerdo con el criterio de la primera derivada utilizando el programa computacional *OriginPro 8*.

$$\%NH = \frac{16.1(y-x)}{w} f \quad [5]$$

Donde:

y = punto de inflexión mayor [mL]

x = punto de inflexión menor [mL]

f = molaridad de la solución de NaOH

w = peso de la muestra [g]

16.1 = valor relacionado con el peso del grupo amino (-NH<sub>2</sub>)

#### ***2.3.6. Obtención de Extracto de Cáscara de Granada (ECG).***

Las cáscaras de granadas frescas fueron obtenidas como un subproducto de la venta de los arilos preparados. Se utilizó granada variedad Wonderful, proporcionada por un puesto local en la Ciudad de México. A estas cáscaras se les retiró el mesocarpo y el endocarpo fibroso, se partieron en trozos pequeños y se enjuagaron en tres ocasiones con agua. Posteriormente, se secaron en una estufa a 60 °C durante 72 horas (Figura 38) y luego se trituraron en un molino de

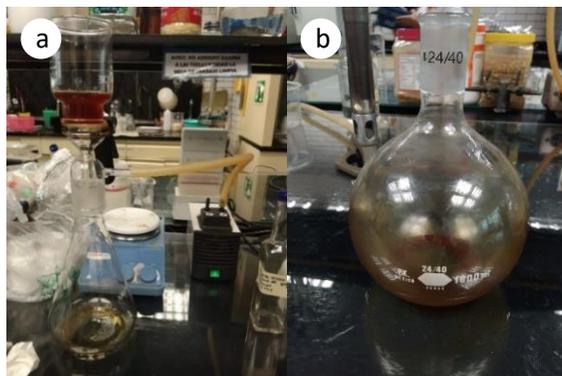
café marca KRUPS, modelo GX4100. Con el objetivo de homogeneizar el tamaño de partícula, se pasó la cáscara molida a través de un tamiz.



**Figura 38.** Secado en estufa de cáscara de granada variedad Wonderful.

### 2.3.6.1. Extracción Etanólica

El ECG se obtuvo mediante extracción convencional sólido-líquido, siguiendo el método reportado por Coca, 2021 con algunas modificaciones. Para ello, se maceraron 100 g de cáscara de granada seca y molida en 900 mL de etanol, en una proporción de 1:9 m/v, durante 3 días. Este proceso se llevó a cabo en una incubadora agitadora de ambiente controlado (EDISON. N.J.). Después de este período, se realizó el filtrado al vacío utilizando un embudo Büchner, seguido por la filtración a través de una membrana Millipore de 0.22  $\mu\text{m}$  (Figura 39a). El extracto resultante fue evaporado en un rotavapor hasta lograr un estado completamente seco (Figura 39b).



**Figura 39.** Extracto etanólico. a) Filtración ECG por membrana millipore de 0.22 $\mu\text{m}$ , b) Extracto cáscara de granada (ECG) evaporado.

### 2.3.6.2. Extracción acuosa

Por otra parte, el extracto acuoso se obtuvo de acuerdo con el método informado por Gutiérrez et al., 2019, con ciertas adaptaciones. La cáscara de granada seca y molida se mezcló con agua destilada en una proporción 1:9 m/v, y la mezcla se sometió a un baño térmico a 65 °C durante 30 minutos (Figura 40). A continuación, se procedió a la centrifugación a 4500 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. Una vez alcanzado este punto, se separaron los sobrenadantes de los sedimentos. El sobrenadante resultante fue filtrado al vacío mediante un embudo Büchner y posteriormente a través de una membrana Millipore de 0.22 µm. El extracto obtenido se almacenó a 4 °C en tubos de centrifuga.



**Figura 40.** Extracción acuosa cáscara de granada en baño térmico.

### 2.3.7. Pruebas *in vitro* de Comparación Extractos Cáscara de Granada

De cada extracto se tomaron 200 µL y se mezclaron con 20 mL de PDA. Cada mezcla se vertió en una caja Petri. Luego, en cada caja se colocó un disco de agar de 5 mm de diámetro con micelio del hongo aislado con cinco días de crecimiento. El grupo control consistió en medio de cultivo sin ECG. En total, se obtuvieron tres tratamientos que incluyeron los dos extractos y grupo control. Las cajas con los extractos se incubaron a  $25 \pm 2$  °C durante 14 días; cada día se

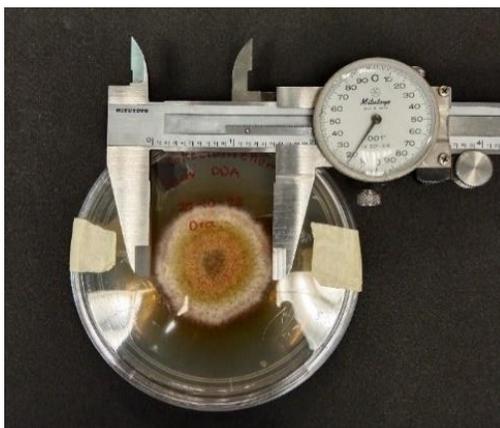
midió el crecimiento micelial (Figura 41). A partir del crecimiento micelial, se calculó el porcentaje de inhibición de dicho crecimiento para cada uno de los tratamientos, utilizando la ecuación 6 (Yenjit *et al.*2010):

$$\text{ICM (\%)} = \frac{\text{DCMT} - \text{DCMt}}{\text{DCMT}} * 100 \quad [6]$$

Dónde: ICM = inhibición del crecimiento micelial

DCMT = Diámetro del crecimiento micelial del testigo [cm]

DCMt= Diámetro del crecimiento micelial del tratamiento [cm]



**Figura 41.** Medición crecimiento micelial de *Colletotrichum*.

### **2.3.8. Síntesis Nanopartículas de Quitosano (QNP) Cargadas con Extracto de Cáscara de Granada (ECG)**

Las nanopartículas de quitosano se sintetizaron por el método de gelificación iónica tomando como base los procedimientos de Soltanzadeh *et al.*,2021 y Calvo *et al.*, 1997 con ciertas modificaciones. Ambos métodos utilizaron tripolifosfato de sodio (TPP) como agente de reticulación.

► Metodología Soltanzadeh,2021

El quitosano (QN) previamente caracterizado, se disolvió en una solución acuosa de ácido acético glacial (1% v/v) para obtener una solución de concentración final de 0.5% p/v. Luego se agitó magnéticamente durante 24 horas a temperatura ambiente para lograr una solución transparente. El pH inicial resultante fue de 3.5, pero fue ajustado a 4.6 utilizando NaOH 1M. Posteriormente, se filtró al vacío para remover residuos de partículas insolubles.

A continuación, se agregó ECG a diferentes contenidos de carga a la solución de QN manteniendo las siguientes relaciones QN:ECG 1:0, 1:0.25 y 1:0.50, las cuales hacen referencia a la concentración del QN. Las soluciones de quitosano que contenían ECG se agitaron magnéticamente a 500 rpm durante 1 hora a temperatura ambiente (23 °C).

Se preparó una solución madre de TPP en agua destilada con una concentración de 0.2 % p/v, la cual fue filtrada a través de un filtro de jeringa de 0.22  $\mu\text{m}$ . Seguidamente, se ajustó su pH a 5.6 con HCl 1 M y se almacenó a 4 °C antes de uso. Las nanopartículas de quitosano (QNP) se formaron de manera espontánea al añadir gradualmente la solución fría de TPP a la solución de quitosano que contenía ECG (con caudal de 2 mL /min), manteniendo una relación 1:1, con agitación vigorosa a 1400 rpm durante 50 minutos (Figura 42a). El sobrenadante se separó para su posterior análisis, por lo que, las nanopartículas se centrifugaron a 4500 rpm durante 1 hora y las QNP sedimentadas se recolectaron como pelets (Figura 42b), los cuales se mantuvieron refrigerados para su posterior análisis.

► Metodología Calvo, 1997

Las nanopartículas se prepararon siguiendo las metodologías propuestas por Calvo *et al.* (1997) con algunas modificaciones. El quitosano de alto peso molecular se disolvió en una solución acuosa de ácido acético glacial (1 % v/v) para obtener una solución de concentración final de 0.1 % p/v. Esta solución se mantuvo en agitación por 24 h a temperatura ambiente utilizando un agitador magnético, y se ajustó el pH a 4.9. Posteriormente, se filtró al vacío la solución para remover residuos de partículas insolubles.

Luego, se preparó una solución de TPP, disolviéndolo en agua destilada hasta obtener una concentración final de 0.1% p/v, con la ayuda de agitación magnética. También se ajustó el pH a esta solución a 5.5.

A continuación, se agregó ECG en diferentes proporciones a la solución de QN, manteniendo las siguientes relaciones QN:ECG 1:0, 1:0.25 y 1:0.50; en referencia a la concentración de QN. Las soluciones de quitosano que contenían ECG se agitaron magnéticamente a 500 rpm durante 1 hora a temperatura ambiente (23 °C). El TPP fue agregado gota a gota utilizando una bureta con un caudal de 2 mL/min a la solución de quitosano (Figura 42b), con el fin de obtener las nanopartículas de QN-TPP en una relación QN:TPP 4:1. La mezcla se mantuvo en constante agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, la suspensión resultante con las nanopartículas se centrifugó a 4500 rpm por 1 hora. Los pellets obtenidos se separaron del sobrenadante para su posterior análisis.



**Figura 42.** a) Síntesis de nanopartículas de quitosán por el método de gelificación iónica, b) Nanopartículas centrifugadas.

Tomando como base los métodos descritos, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas bajo condiciones modificadas, con concentraciones de QN al 1% p/v y TPP al 0.3 % p/v, así como la modificación de pH de las mismas a 4.2 y 5.7 respectivamente. En la tabla 7 se resumen las condiciones empleadas.

**Tabla 7.** Condiciones de síntesis de nanopartículas de quitosán portadoras de extracto de cáscara de granada

Variables	Condiciones empleadas			
Concentración QN	0.1 % p/v	0.5 % p/v	1 % p/v	0.1 % p/v
Concentración TPP	0.1 % p/v	0.2 % p/v	0.3 % p/v	0.1 % p/v
pH QN	4.9	4.6	4.2	4.9
pH TPP	5.5	5.6	5.7	5.5
Relación QN:TPP	4:1	1:1	1:1	1:1
Relación QN:ECG	1:0 , 1:0.25 y 1:0.50			
Agitación	500 rpm	1400 rpm	1400 rpm	500 rpm
Temperatura	23°C	23°C	23°C	23°C
Caudal volumétrico	2 mL/min	2 mL/min	2 mL/min	2 mL/min
Referencia	(Calvo, 1997)	(Soltanzadeh, 2021)		

### 2.3.9. Caracterización de Nanopartículas de Quitosano

#### 2.3.9.1. Contenido Fenólico Total (CFT).

El contenido fenólico total (CFT) fue determinado utilizando una versión modificada del método de Folin Ciocalteu (Fol-Ci). Inicialmente, se mezcló una alícuota de 125  $\mu\text{L}$  del reactivo Fol-Ci con 300  $\mu\text{L}$  muestra y 1825  $\mu\text{L}$  de agua destilada, agitando la mezcla durante 5 minutos. Luego, se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20% p/v y se agitó durante 5 minutos adicionales. Posteriormente, la solución se dejó reposar durante 30 minutos en un baño de agua a 40°C (Figura 43).



**Figura 43.** Determinación de polifenoles totales por método de Folin Ciocalteu

Para cuantificar el CFT, se midió la absorbancia de las muestras utilizando un espectrofotómetro UV-vis (SHIMADZU UV-1601) a una longitud de onda de 765 nm. La cantidad de ECG se estimó mediante una curva de calibración [7] previamente reportada por Soltanzadeh, 2021. Para generar esta curva, se utilizaron concentraciones conocidas de ácido gálico (GA) que variaron desde 0 hasta 250  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Los resultados del contenido fenólico total se expresaron en mg de equivalente de GA/g de materia seca.

$$Y=0.105x + 0.005 \quad R^2 = 0.99 \quad [7]$$

### 2.3.9.2. Eficiencia de Encapsulación (EE).

La eficiencia de encapsulación (EE) se define como el contenido real de material cargado en las NP. Se centrifugaron 20 mL de nanopartículas cargados con ECG sintetizadas bajo las diferentes condiciones de proceso a 4500 rpm durante 1 hora a 25 °C. El sobrenadante se analizó en busca de ECG utilizando espectrofotometría UV-vis con la metodología reportada para medir el contenido fenólico total. Para determinar la EE se determinó la cantidad inicial de ECG, que era igual al contenido inicial colocado previo a la síntesis de las nanopartículas y el ECG libre, es decir el que no fue encapsulado y se encontraba libre en el sobrenadante. Luego se calculó la eficiencia de encapsulación utilizando la ecuación [8]

$$EE = \frac{\text{Cantidad inicial de ECG} - \text{Cantidad de ECG libre}}{\text{Cantidad inicial de ECG}} \times 100 \quad [8]$$

### 2.3.9.3. Potencial Zeta y Tamaño de Partícula.

El diámetro medio (DM) y el potencial zeta (PZ) de las QNP recién preparadas con carga de ECG se estudiaron mediante dispersión de luz dinámica (ZETASIZER PRO, Malvern). Los valores de PZ de las nanopartículas muestran el impacto de la carga del material en la carga superficial de las nanopartículas, lo que indica la estabilidad de las mismas.

### 2.3.10. Obtención y Selección del Mango

Los mangos variedad “Manila” fueron adquiridos en un mercado ambulante de Cuautitlán Izcalli. Estos frutos se seleccionaron siguiendo las especificaciones para el grado de madurez fisiológica,

conforme a lo establecido por la norma NMX-FF-058-SCFI-2006: “Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-fruta fresca-mango (*Mangifera indica* L.)-Especificaciones” en cuanto a calibre, forma uniforme y lisa, consistencia firme, sin daños físicos ni interacciones fúngicas, además de contar con un color de epicarpio verde cenizo con matices amarillo pálido (Figura 44). Los mangos se distribuyeron aleatoriamente en 3 lotes, cada uno con 21 mangos de calibres homogéneos. En total, se destinaron 7 lotes por cada tratamiento:

1. Grupo control: mangos sin recubrimiento.
2. Grupo quitosán compuesto: mangos con recubrimiento de quitosán y glicerol.
3. Grupo quitosán con nanopartículas: mangos con recubrimientos de quitosán y nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada.



**Figura 44.** Mangos variedad “Manila” seleccionados en grado de madurez fisiológica

### **2.3.11. Preparación Recubrimientos**

Se elaboraron dos tipos de recubrimientos: quitosán compuesto y quitosán con nanopartículas. Para el primero, se preparó una solución de quitosano al 1 % p/v ( $M_v = 277.12$  kDa,  $GD = 68.77$  %) en ácido acético glacial al 1 %, y se le añadieron 0.5 mL de glicerol como plastificante. En cuanto al segundo tipo, se preparó una solución de quitosán al 1 % bajo las

condiciones previamente mencionadas, a la cual se le incorporó la solución de nanopartículas de quitosano portadoras del extracto de cáscara de granada manteniendo una relación 4:1 QN:QNP.

### 2.3.12. Aplicación de Recubrimientos

Previo a la aplicación del recubrimiento, los mangos variedad “Manila” fueron sometidos a un proceso de lavado y desinfección mediante una solución de hipoclorito de sodio al 0.1 %. Luego, se procedió a su secado antes de sumergirlos individualmente en las soluciones de quitosán. Una vez recubiertos, los mangos se colocaron sobre rejillas de metal para que escurriera el exceso de líquido y luego se dejaron secar a temperatura ambiente. Tras el proceso de secado, los mangos fueron almacenados a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C (Figura 45).



**Figura 45.** Aplicación de recubrimientos en mangos variedad “Manila”. a) inmersión de mangos en la solución de recubrimiento, b) secado por convección natural, c) grupos de mangos en estudio.

### 2.3.13. Determinación de Parámetros Fisiológicos

#### 2.3.13.1. Pérdida Fisiológica de Peso.

La pérdida de peso se determinó por gravimetría, empleando una balanza semianalítica (marca OHAUS, modelo Scout Pro SP601), y aplicando la ecuación [9]. Para la medición se designaron tres grupos (control, quitosán compuesto y quitosán con nanopartículas), cada uno conformado por 3 mangos. Se registraron los pesos de los frutos después se la aplicación del

recubrimiento (Figura 46), considerando este valor como el peso inicial. Se llevó a cabo un seguimiento diario del peso hasta que las pérdidas alcanzaron el 10 %, punto en el cual los frutos dejan de ser aptos para el mercado.

$$\%PFP = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} * 100 \quad [9]$$

Donde:

%PFP = Porcentaje de pérdida fisiológica de peso

$P_f$  = Peso final [g]

$P_i$  = Peso inicial [g]

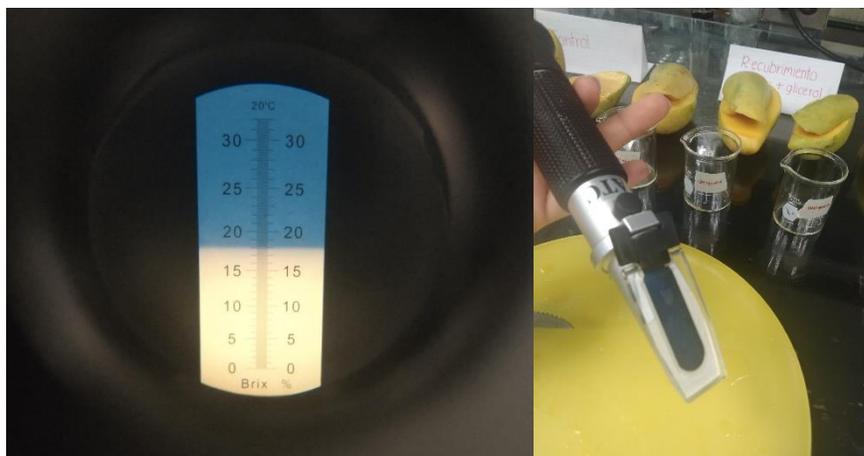


**Figura 46.** Medición peso del mango.

### 2.3.14. Determinación Parámetros Fisicoquímicos

#### 2.3.14.1. Sólidos Solubles.

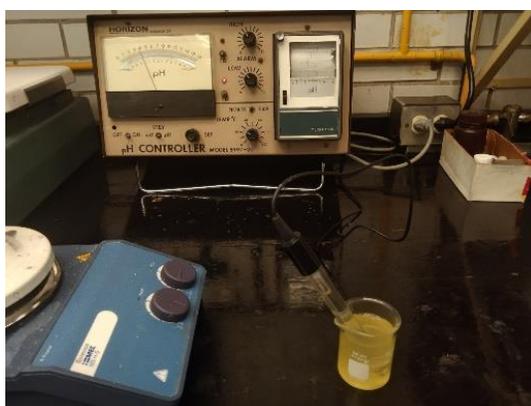
El contenido de sólidos solubles se midió de acuerdo con la norma NMX-FF-058-SCFI-2006. La medición se realizó calibrando el equipo con agua destilada a  $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ . Posteriormente, se efectuó la lectura directa de los °Brix del mango utilizando un refractómetro manual (marca Vikye 0-32 %), depositando una gota de jugo del fruto sobre la superficie del refractómetro (Figura 47). Se llevó a cabo la prueba en triplicado para cada día de almacenamiento.



**Figura 47.** Lectura sólidos solubles en mangos variedad “Manila”

### 2.3.14.2. pH y Acidez.

Para determinar estos parámetros, se tomaron 10 g de pulpa de mango y se homogeneizaron en 90 mL de agua destilada; la solución obtenida se filtró. El filtrado resultante se utilizó para medir el pH mediante un pHmetro (marca HORIZON, modelo 5997-20), sumergiendo el electrodo para obtener el valor del pH directamente (Figura 48). La prueba se realizó por triplicado para cada día de almacenamiento.



**Figura 48.** Determinación de pH.

La acidez se determinó mediante titulación directa, siguiendo el método descrito por la AOAC, (2000). La titulación se llevó a cabo utilizando una solución previamente valorada de

NaOH 0.1 N (Figura 49). Se tomó una alícuota de 10 mL de la solución filtrada y se añadieron 3 gotas de fenoftaleína como indicador. Los resultados obtenidos fueron expresados en porcentaje de ácido cítrico, utilizando la ecuación [10].

$$\% \text{ acidez} = \frac{(N)*(v)*(factor \text{ de meq de ácido cítrico})}{m} * 100 \quad [10]$$

Donde:

N = Normalidad del NaOH

v = Mililitros de NaOH gastados

m = gramos de muestra

f de meq = 0.064



*Figura 49. Determinación de ácido cítrico*

#### **2.3.14.3. Índice de Madurez.**

El índice de madurez (IM) se expresó como la relación de sólidos solubles totales/acidez titulable (Rodríguez-Félix *et al.*, 2005) presentes en el jugo.

#### **2.3.14.4. Color.**

Para medir el color del mango, se realizaron mediciones en el epicarpio del fruto (Figura 50a), utilizando la aplicación *Color Grab*. Los datos obtenidos por lectura directa fueron luminosidad (L), a\* y b\*. Los valores a\* en el eje de las abscisas van de los valores negativos para

el verde hasta valores positivos para el rojo, mientras que los valores de  $b^*$  en el eje de ordenadas van de los valores negativos para el azul hasta valores positivos para el amarillo. Por su parte,  $L$  representa la luminosidad desde la reflexión nula ( $L=0$ , color negro) hasta la reflexión difusa perfecta ( $L=100$ , color blanco) (Figura 50b).

A partir de los valores de  $a^*$  y  $b^*$ , se calculó el ángulo de tono ( $H$ ) mediante la ecuación [11], que es un valor angular indicativo del cuadrante que corresponde al color de la muestra en un sistema cartesiano (McGuire,1992). Se realizaron 10 lecturas de color para cada tratamiento diariamente hasta concluir los días de almacenamiento.

$$H = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad [11]$$

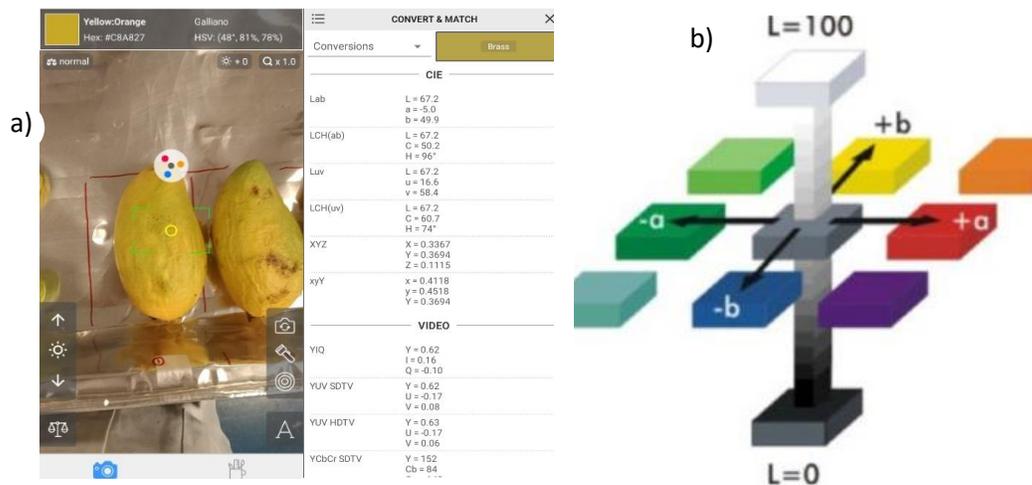


Figura 50. a) Medición de por medio de la aplicación Color Grab , b) Sistema de color Hunter Lab

### 2.3.15. Determinación Parámetros Microbiológicos

#### 2.3.15.1. Severidad de Antracnosis.

La severidad de la antracnosis fue evaluada en términos del porcentaje de área afectada por el hongo en los frutos. Las lesiones en toda la superficie de los frutos fueron medidas diariamente durante los 7 días de almacenamiento. Dado que el fruto del mango tiene una

envoltura mayoritariamente convexa con una forma predominantemente elipsoidal, para los propósitos de este objetivo, se consideró el cálculo del área como una elipse, sin tomar en consideración las deformaciones en el área vertical y horizontal debido a las curvas inherentes del fruto. La determinación del área de los frutos se llevó a cabo midiendo su longitud y anchura.

El cálculo del área afectada se realizó midiendo tanto la longitud como la anchura de las lesiones (Figura 51). Por lo tanto, el cálculo total del área infectada se obtuvo sumando el área total de todas las lesiones presentes. La severidad se calculó relacionando el área total del fruto con el área total afectada por las lesiones.



**Figura 51.** Medición de las manchas de antracnosis en mangos variedad “Manila”

### **2.3.16. Análisis Estadístico**

Los resultados de los parámetros obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con un nivel de significancia de 5 % aplicando prueba de media Tukey para establecer la diferencia significativa entre los tratamientos aplicados mediante el programa estadístico PRISMA.

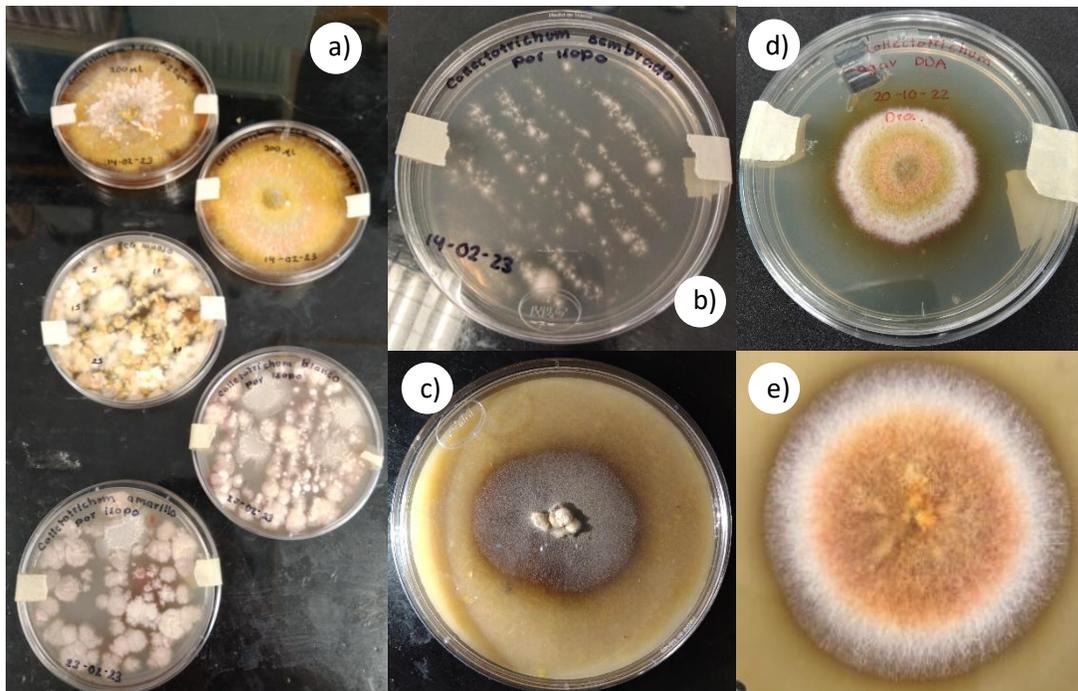
## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Caracterización del Hongo

Las especies del género *Colletotrichum* son agentes causales de la antracnosis en una amplia variedad de hospedantes. *C. gloeosporioides* y *C. acutatum* son las principales especies reportadas que afectan a un gran número de hospedantes, entre los cuales se destaca el mango. Este amplio rango de hospedantes puede deberse a la habilidad del hongo para emplear diferentes estrategias de infección: colonización intramural subcuticular o colonización intracelular (Rojo et al., 2017).

Tradicionalmente, la identificación de las especies del género *Colletotrichum* se ha basado en caracteres morfológicos que incluyen el tamaño y la forma de los conidios, y apresorios, la presencia o ausencia de setas, esclerocios, acérvulos, estado teleomorfo; así como características como el color de la colonia, textura y tasa de crecimiento (Hyde et al., 2009). Por lo tanto, para la identificación de la especie se consideró tanto la morfología macroscópica como algunas características micromorfológicas.

Como se puede observar en la figura 52, la cepa aislada de los mangos infectados se caracterizó macroscópicamente por presentar una textura algodonosa o aterciopelada con la presencia de anillos concéntricos, un crecimiento irregular de borde indefinido y ondulado, y una colocación blanca grisácea que, con el tiempo, desarrolló tonalidades de color anaranjado en el centro de la colonia. La esporulación fue abundante, formando una capa visible de esporas de colores pálidos, principalmente en tono anaranjados brillantes. Estas características macroscópicas se presumen que corresponden con la especie *Colletotrichum* descrita en el estudio realizado por Rojo, et al. (2017) y Quirós et al. (2013).



**Figura 52.** Morfología de colonias de *Colletotrichum* de mango variedad “Manila”. a) Secuencia de cajas involucradas en el aislamiento del hongo *Colletotrichum*, b) *Colletotrichum* sembrado por hisopo, c) Colonia inicial de *Colletotrichum* en MPDA, d) Colonia aislada de *Colletotrichum* en PDA, e) Colonia aislada de *Colletotrichum* en MPDA .

A nivel microscópico, en la cepa de *Colletotrichum*, se observaron hifas septadas con conidióforos en los extremos de las hifas. Los conidios tenían forma ovoide y se producían en cadenas ramificadas. Los apresorios presentaban una forma de gancho o garra. Resultados similares fueron reportados por Miles et al. (2008).

## 3.2. Caracterización Quitosano

### 3.2.1. Rendimiento

Se extrajo quitosano a partir de exoesqueleto de camarón de acuerdo al procedimiento previamente descrito. La obtención del polímero se llevó a cabo en tres procesos: desmineralización, desproteinización y desacetilación. Del 100 % de cáscara seca y molida, en el proceso de desmineralización se obtuvo 57.8 % de la materia prima, del proceso de

desproteínización se obtuvo 38.4 % de quitina y finalmente el rendimiento global (RG) del proceso después de la desacetilación fue de 31.4 %. De acuerdo con la literatura, el rendimiento ideal en los procesos de extracción a partir de exoesqueletos se encuentra en un rango de 10 a 30% con respecto al peso inicial (Mahdy et al., 2013), lo que quiere decir que teniendo en cuenta los resultados obtenidos, éste se encuentra en el rango.

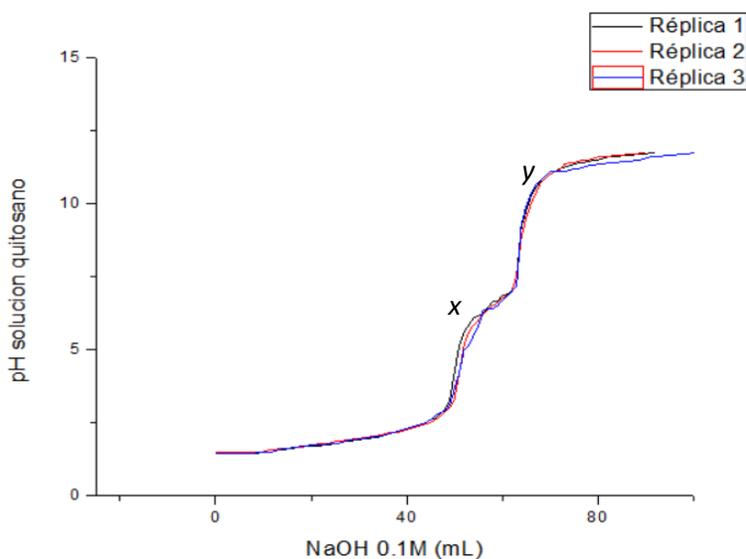
Durante el proceso de extracción de quitosano, la materia prima pierde peso debido a que durante la desmineralización se remueven los minerales del exoesqueleto de camarón, principalmente carbonato de calcio y fosfato presente en menor cantidad. Este proceso ocurre de forma rápida y se genera la transformación de carbonato de calcio en sales solubles y gas CO<sub>2</sub> (Romero & Pereira, 2020). Posteriormente en la desproteínización se rompe la estructura de la matriz y se hacen solubles las proteínas, arrastrando consigo grasas y pigmentos (Ramonés, 1997; Conde, 2007; Mármol et al., 2011; Díaz, 2006). Finalmente, en la desacetilación se hidrolizan los grupos acetamida de la quitina hasta grupos amino, que es el grupo funcional característico del quitosano (Martínez, 2009).

El rendimiento de extracción depende fuertemente de las condiciones de cada proceso, sin embargo algunos autores recomiendan tener más de una etapa de desproteínización, pero utilizando concentraciones más bajas de NaOH, con la finalidad de proteger la estructura nativa de la quitina, además del rendimiento (Romero & Pereira, 2020).

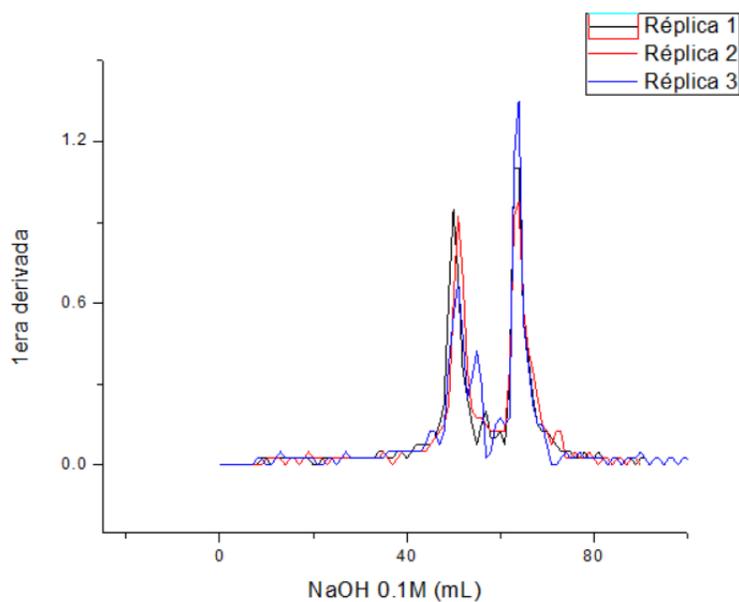
### ***3.2.2. Grado de Desacetilación (GD)***

En la figura 53 se muestran las curvas de titulación, donde se observa la variación de pH de la solución de quitosano frente al volumen de base añadido; estas presentan dos puntos de inflexión, *x* y *y*. Los valores de estos puntos se determinaron según el criterio de la primera

derivada con la utilización del programa computacional *OriginPro 8* y se muestran en la figura 54. Los puntos de inflexión menores ( $x$ ) y mayores ( $y$ ) extraídos de dicha figura; así como los pesos del biopolímero empleados en la preparación de las soluciones se muestran en la tabla 8.



**Figura 53.** Curvas de titulación de las soluciones de quitosano



**Figura 54.** Primera derivada de las curvas de titulación de las soluciones de quitosano.

**Tabla 8.** Puntos de inflexión menores ( $x$ ) y mayores ( $y$ ); y pesos del quitosano ( $w$ )

Réplica	Punto de inflexión menor, $x$ (mL)	Punto de inflexión mayor, $y$ (mL)	Peso del quitosán, $w$ (g)
Réplica 1	50	63	0.3031
Réplica 2	51	64	0.3050
Réplica 3	51	64	0.3049

Para determinar el grado de desacetilación (GD) del quitosán obtenido, los valores de la tabla 8 se sustituyeron en la ecuación 5, donde la diferencia entre ambos puntos de inflexión proporciona la razón de la cantidad de ácido requerido para protonar los grupos amino del quitosán. Una vez se obtuvieron los grados de desacetilación, se calculó la media aritmética ( $\bar{x}$ ), desviación estándar ( $\sigma$ ) y coeficiente de variación (C.V.) de estos, para así determinar el GD promedio de biopolímero (tabla 9).

**Tabla 9.** Grado de *N*-desacetilación (%  $\text{NH}_2$ ) del quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón.

Réplica	Grado de desacetilación (%)
Réplica 1	69.05
Réplica 2	68.62
Réplica 3	68.65
$\bar{x}$	68.77
$\sigma$	0.1960
C.V. (%)	0.28

En la tabla 9, se establecen los grados de desacetilación, con el fin de conocer el contenido de grupos aminos presentes en las muestras de quitosano. El GD promedio del biopolímero obtenido fue del  $68.77 \pm 0.19$  %.

El GD es equivalente al porcentaje de grupos amino ( $\text{NH}_2$ ) presentes en la cadena polimérica del quitosano y es la característica que permite la solubilidad de la molécula. De hecho, el quitosano se define como la quitina que ha sido desacetilada en más de un 60% (Ramírez,2016; Arguelles et al., 2004; Khan et al.,2002).

El grado de desacetilación obtenido ( $68.77 \pm 0.19$  %) es consistente con el grado de desacetilación (64 %) reportado por Hernández et.al.,2009 donde se obtuvo quitosano a partir de exoesqueletos de camarón por vía química, así como al reportado por Ramírez, 2016 (64.4 %).

En el quitosano extraído se puede apreciar que la proporción de grupos amino esta por arriba de lo mínimo para ser considerado quitosano, sin embargo existen quitosanos de alto grado de desacetilación, los cuales rondan del 80 a 90 % (Gacen & Gacen,1996); esta diferencia posiblemente se debe a que este depende mayormente del método de purificación y las condiciones de reacción (Martínez, 2009).

### ***3.2.3. Peso Molecular Promedio Viscosimétrico ( $M_w$ )***

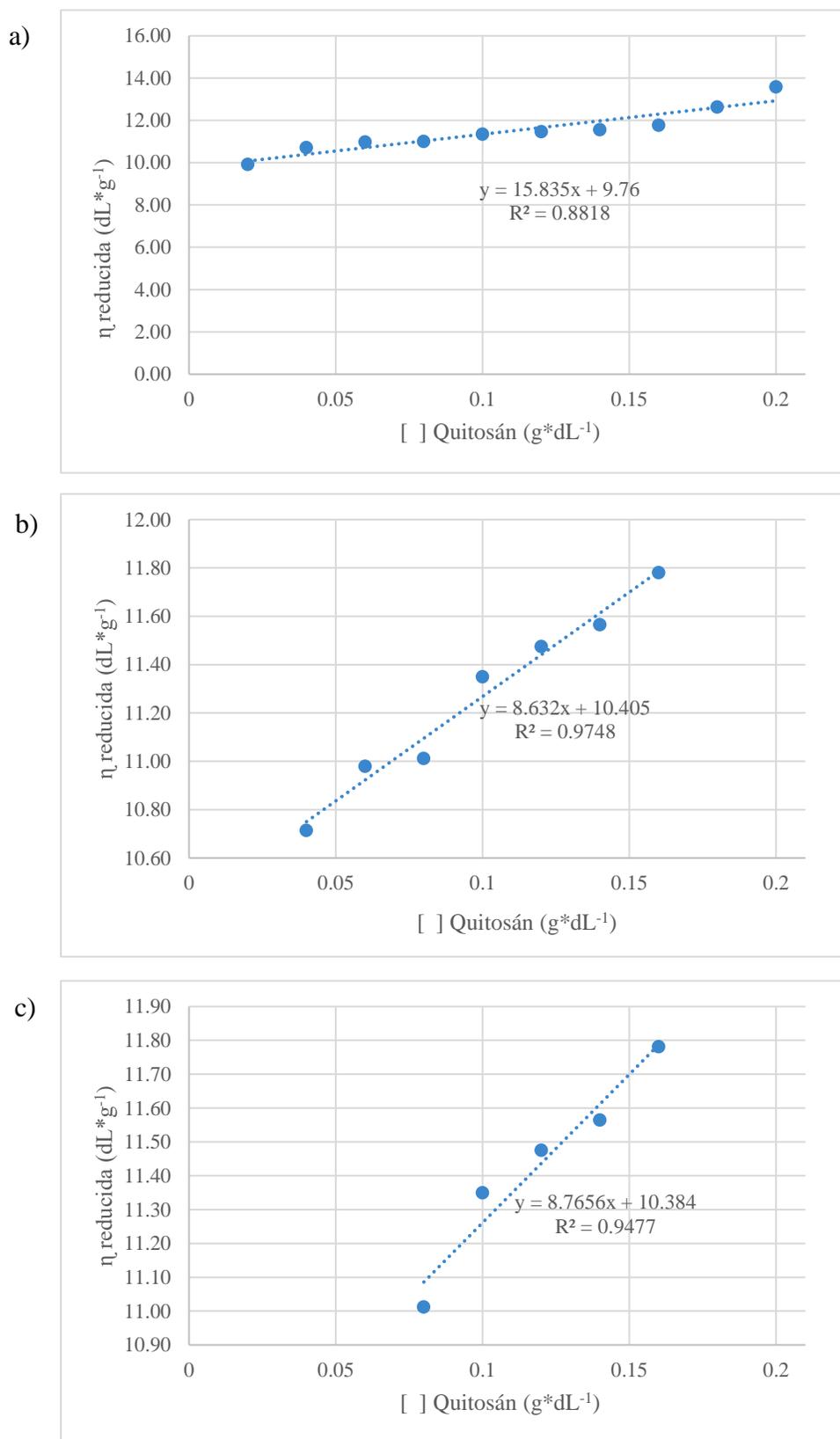
Para determinar el peso molecular promedio viscoso se utilizó un viscosímetro capilar. Una vez establecidas las condiciones de trabajo se obtuvieron los tiempos de caída tanto de la solución buffer como de cada una de las disoluciones poliméricas, con cinco réplicas, para así determinar los parámetros viscosimétricos (viscosidad relativa, específica y reducida) de acuerdo a las ecuaciones 1,2 y 3 respectivamente.

Los resultados obtenidos de la aplicación de la técnica de viscosimetría capilar, se muestran en la tabla 10. En la misma se resumen los tiempos de caída antes mencionados. Estos tiempos son el promedio de cinco mediciones, además se pueden observar los parámetros viscosimétricos calculados a partir de dichos resultados.

*Tabla 10. Tiempos de caída; y parámetros viscosimétricos de las soluciones de quitosán*

Concentración quitosán (g*dL <sup>-1</sup> )	Tiempo de caída (s)	Viscosidades		
		$\eta_{rel}$	$\eta_{esp}$	$\eta_{red}$ (dL*g <sup>-1</sup> )
buffer	84.00			
0.02	100.67	1.20	0.20	9.92
0.04	120.00	1.43	0.43	10.71
0.06	139.33	1.66	0.66	10.98
0.08	158.00	1.88	0.88	11.01
0.10	179.33	2.13	1.13	11.35
0.12	199.67	2.38	1.38	11.47
0.14	220.00	2.62	1.62	11.56
0.16	242.33	2.88	1.88	11.78
0.18	275.00	3.27	2.27	12.63
0.20	312.33	3.72	2.72	13.59

Se construyó el gráfico de viscosidad reducida ( $\eta_{red}$ ) en función de la concentración, dado que la viscosidad intrínseca es el valor de la viscosidad reducida extrapolada a concentración cero. Del mismo modo el valor de la viscosidad intrínseca permitió el cálculo del peso molecular viscosimétrico ( $M_w$ ). En las figuras 55a, 55b y 55c se muestran dichos gráficos, con la diferencia de que en la figura 56a se muestra el comportamiento de esta variable en todas las soluciones biopoliméricas y en las figuras 55b y 55c sólo se muestra en algunas de ellas. Esto se realizó con el fin de seleccionar el coeficiente de correlación lineal ( $R^2$ ) que se aproximara más a la unidad. De acuerdo con los resultados obtenidos, la Figura 55b presentó la mayor  $R^2$  de 0.9748. Por lo tanto, la viscosidad intrínseca  $[\eta]$  fue de 10.405 dL\*g<sup>-1</sup> de acuerdo con la ecuación de la recta, misma que se sustituyó en la ecuación Mark-Houwink-Sakurada (MHS) (Ecuación 4) para determinar el peso molecular promedio viscosimétrico ( $M_w$ ) del quitosán. El peso molecular obtenido fue de 277.12 kDa. Este valor se encuentra dentro del rango reportado (100-600 kDa) de acuerdo con las condiciones experimentales en las que se trabajó (Kasaai, 2007).

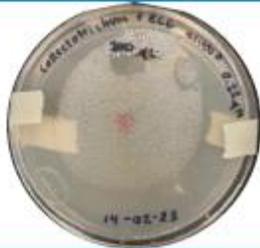


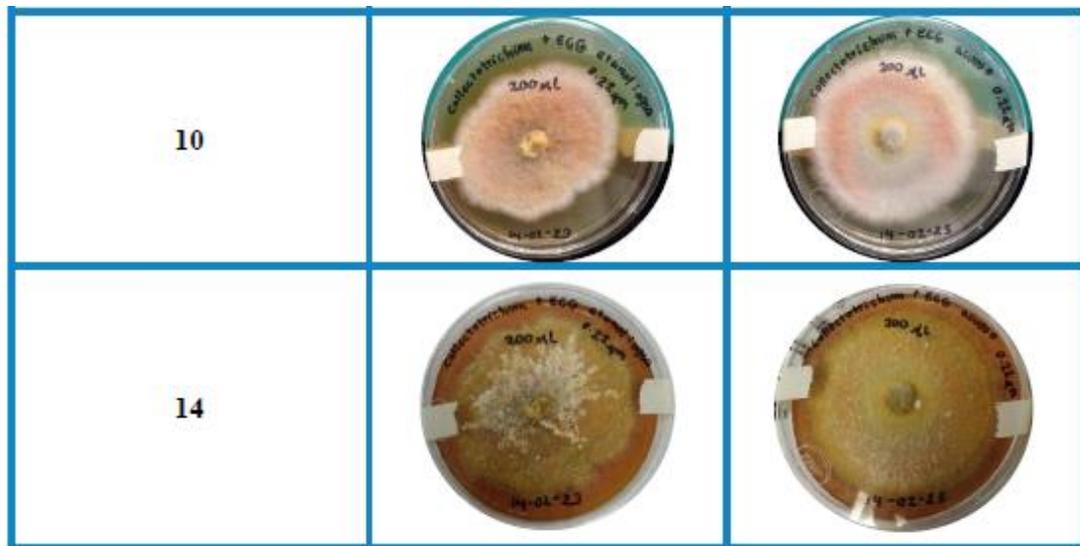
**Figura 55.** Viscosidad reducida frente a la concentración de a) Todas las soluciones de quitosán; y b) y c) sólo algunas soluciones de quitosán.

### 3.3. Pruebas *in vitro* Comparación Extractos Cáscara de Granada

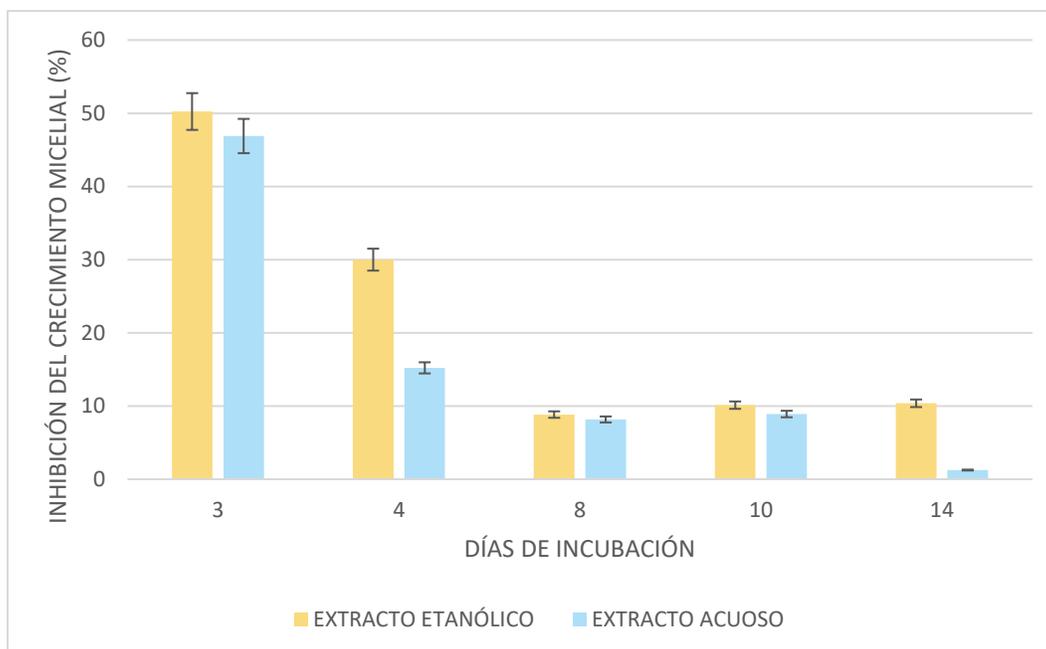
Para evaluar el efecto *in vitro* de los extractos, se realizó la medición del crecimiento micelial del hongo. La variable independiente fue la presencia de dos extractos de cáscara de granada y un grupo testigo, mientras que la variable de respuesta fue el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, calculado durante un período de incubación de 14 días. En la tabla 11 se muestra la comparación de los resultados obtenidos.

**Tabla 11.** Comparación de los diferentes extractos empleados en la inhibición de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Día de incubación	Extracto etanólico	Extracto acuoso
1		
3		
4		
8		



Los resultados de la actividad antifúngica de los dos extractos evaluados sobre el desarrollo micelial de *Colletotrichum* se presentan en la Figura 56. En el tercer día de incubación, ambos extractos mostraron su mayor porcentaje de inhibición, alcanzando valores del 50.24 % para el extracto etanólico y del 46.89 % para el extracto acuoso. Sin embargo, en ambos casos, los porcentajes de inhibición disminuyeron a medida que pasaron los días de incubación, finalizando con valores del 10.38 % y 1.25 %, respectivamente. Como se pudo observar, el extracto etanólico presentó la mayor actividad antifúngica, lo cual coincide con el hecho de que el etanol, al ser un solvente orgánico más lipofílico que el agua, tiene una mayor afinidad por los compuestos lipofílicos presentes en la cáscara de granada. Esta mayor capacidad de extracción por parte del etanol puede resultar en una concentración más alta de polifenoles y flavonoides, los cuales han demostrado tener propiedades antifúngicas en numerosos estudios. Por otro lado, el agua es más polar y podría haber extraído compuestos con diferentes perfiles químicos y, por lo tanto, con una menor actividad antifúngica.



**Figura 56.** Porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Colletotrichum* por extractos de cáscara de granada de *Punica granatum* en etanol y agua.

La presencia de componentes químicos como flavonoides, terpenoides, polifenoles y taninos en el fruto *Punica granatum* confiere la capacidad de inhibir el crecimiento de las especies debido a su acción en la célula, específicamente en la membrana celular, precipitando proteínas.

Diferentes autores como Anibal et al. (2013), Scalbert (1991) y Sujanamulk, et al. (2020) han propuesto diferentes mecanismos de acción de los extractos sobre las células fúngicas. Estos involucran:

- I) Inhibición de enzimas microbianas extracelulares.
- II) Privación de sustratos e iones metálicos necesarios para el crecimiento.
- III) Alteraciones morfológicas, agregación celular e inhibición del crecimiento.
- IV) Ruptura de las hifas con descamación.
- V) Alteración en la membrana citoplasmática.

VI) Inducción de disfunción mitocondrial y la síntesis de ARN y proteínas.

Por otra parte, *Colletotrichum gloeosporioides* ha mostrado una tendencia a presentar una extraordinaria capacidad de adaptación y una variabilidad genética elevada. Por lo tanto, la disminución de la inhibición con el tiempo puede sugerir que el hongo desarrolló resistencia o adaptación a los compuestos presentes en el extracto.

### **3.4. Caracterización Nanopartículas de Quitosano.**

#### **3.4.1. Eficiencia de encapsulación**

La eficiencia de encapsulación constituye un parámetro crítico en la nanoencapsulación de compuestos activos, puesto que determina cuánta de la sustancia objetivo se retiene dentro de las nanopartículas. Este indicador refleja la capacidad del sistema de encapsulación para proteger y entregar eficazmente los compuestos encapsulados. Una alta eficiencia de encapsulación no solo aumenta la estabilidad de los compuestos encapsulados, sino que también mejora la precisión de la liberación controlada, lo que la convierte en una métrica esencial en el diseño de sistemas con aplicaciones específicas.

En la tabla 12 se presentan los resultados de la eficiencia de encapsulación obtenida para las diferentes condiciones de procesamiento empleadas en la síntesis de nanopartículas de QN.

**Tabla 12.** Efecto de las condiciones de síntesis de nanopartículas de QN sobre la eficiencia de encapsulación.

Relaciones	Solución QN	Solución TPP	Relación QN:TPP	[ ] Extracto mg GA/ g de materia seca	Eficiencia de encapsulación (%)
QN: ECG 1:0.25	[ ] 0.5% pH = 4.6	[ ] 0.2% pH = 5.6	1:1	0.64	82.22%
QN: ECG 1:0.5				2.01	58.00%
QN: ECG 1:0.25	[ ] 0.1% pH = 4.9	[ ] 0.1% pH = 5.5	4:1	6.64	37.38%
QN: ECG 1:0.5				11.96	21.17%
QN: ECG 1:0.25	[ ] 1% pH = 4.2	[ ] 0.3% pH = 5.7	1:1	27.22	57.52%
QN: ECG 1:0.5				45.44	53.94%
QN: ECG 1:0.25	[ ] 0.1% pH = 4.9	[ ] 0.1% pH = 5.5	1:1	2.40	62.00%
QN: ECG 1:0.5				5.44	51.13%

Estos resultados sugieren que las condiciones de proceso, como la concentración de la solución de QN, la relación QN:TPP y la relación QN:ECG, ejercen un impacto en la eficiencia de encapsulación de los compuestos del extracto de cáscara de granada. En lo que respecta a la concentración de QN, se observa que la eficiencia de encapsulación tiende a aumentar con respecto a esta, al menos hasta cierto punto. Esto podría deberse al hecho de que una mayor concentración de QN proporciona más sitios para que las moléculas del extracto de cáscara de granada se adhieran durante el proceso de encapsulación, formando una matriz más densa y estable. Sin embargo, a medida que la concentración de QN se incrementa, la viscosidad del sistema también tiende a

umentar, dificultando la dispersión uniforme de los compuestos del extracto de cáscara de granada en la matriz de quitosán, lo que a su vez reduce la eficiencia de encapsulación. Los compuestos del ECG podrían enfrentar dificultades para dispersarse en la matriz de quitosán (Castromonte et al., 2020). Partiendo de lo antes mencionado, la mayor eficiencia de encapsulación (82%) se obtuvo utilizando una solución al 0.5% p/v de QN. Esta concentración se considera adecuada ya que equilibra la viscosidad del sistema, lo que favorece la retención de compuestos del ECG.

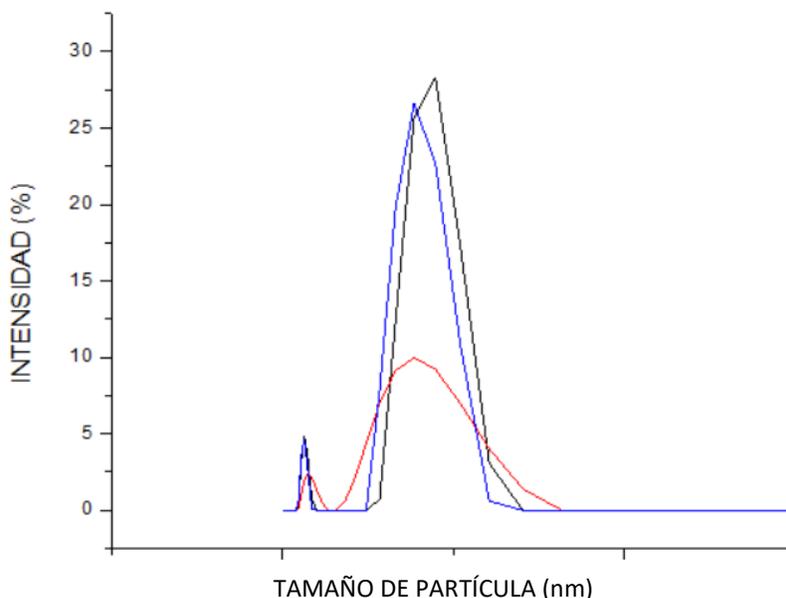
En cuanto a la relación QN:TPP, este factor también incide en las características de las nanopartículas. Se sabe que la capacidad del QN para unirse rápidamente al TPP se basa en la formación de enlaces cruzados inter e intramoleculares entre los grupos amino y el fosfato. Por ello, cuando la relación QN:TPP es alta (es decir, la cantidad disponible de TPP es baja), el TPP puede producir un entrecruzamiento inter e intramolecular más rápido con el QN, lo que resulta en nanopartículas más grandes en comparación con una relación 1:1 de QN:TPP, donde se alcanza un equilibrio más adecuado para la reacción de entrecruzamiento. Esto conduce a la síntesis de QNP más estables y eficientes en la retención del extracto. La eficiencia de encapsulación disminuyó del 62% al 37.38 % a medida que aumentaba la relación QN:TPP. En términos generales, una relación 1:1 de QN:TPP favorece una mayor eficiencia de encapsulación.

Con respecto a la relación QN:ECG, puede observarse que las mayores eficiencias se obtuvieron al emplear relaciones 1:0.25. Estos resultados podrían deberse a que, al aumentar la relación de QN con respecto al ECG, se forman más interacciones mediante puentes de hidrógeno con el quitosano, lo que puede resultar en la compactación de las cadenas del polímero o en una mayor solubilidad de los compuestos del extracto de cáscara de granada en la matriz de quitosán, lo que facilitaría una dispersión uniforme. Resultados similares han sido reportados por Cliek

(2012) y Castromonte, et al. (2020), donde relaciones más altas de agente de recubrimiento en relación con el agente activo (1:20) demostraron mayores eficiencias de encapsulación.

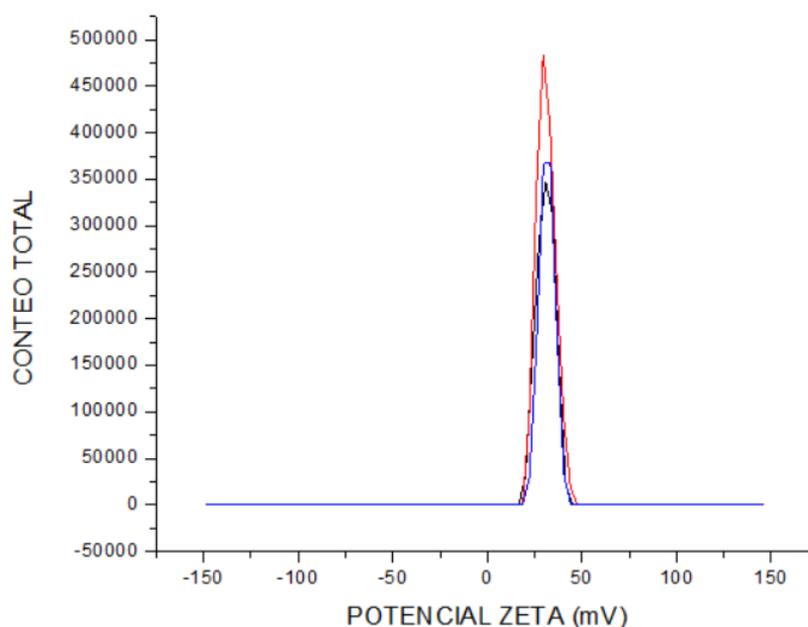
### 3.4.2. *Potencial Zeta y Tamaño de Partícula*

Basándonos en los resultados mencionados, se optó por utilizar en los recubrimientos aquellas nanopartículas que mostraron una eficiencia de encapsulación del 82 %. Estas nanopartículas fueron obtenidas mediante el uso de una solución de QN al 0.5 % p/v, una relación QN:TPP de 1:1 y una relación QN:ECG de 1:0.25. A dichas nanopartículas se les realizó una evaluación de la estabilidad coloidal mediante medidas del tamaño de partícula y potencial Z (PZ). En la Figura 57 se exhibe la distribución de tamaño de partícula ponderada por intensidad. Como se puede observar, las QNP cargadas con ECG presentaron una distribución de tamaños bimodal, mostrando tamaños de partícula grandes que oscilan entre 782 nm y 800 nm. Esto se debe a que, al contar con concentraciones de carga elevadas, el ECG podría influir en la expansión de la matriz de quitosán, desplazando las curvas de distribución hacia dominios de tamaño de partícula más grandes.



**Figura 57.** Distribución de tamaño de partícula basada en la intensidad de las QNP portadoras de extracto de cáscara de granada empleando condiciones específicas de síntesis (Solución de QN al 0.5% p/v, relación QN:TPP 1:1 y relación QN:ECG 1:0.25)

La evaluación del potencial zeta de las nanopartículas es indicativa de su carga superficial y, por ende, de su estabilidad (Karlsson et al., 2005). Según la teoría de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek, existe un equilibrio entre las fuerzas atractivas "van der Waals" y las fuerzas repulsivas "electrostáticas" en la superficie de las nanopartículas estables debido a su mayor carga superficial positiva. Por lo tanto, se supone que las cargas superficiales más elevadas pueden generar fuerzas electrostáticas repulsivas más intensas entre las nanopartículas, lo que evita su agregación (Soltanzadeh et al., 2021). Como se muestra en la Figura 58, las QNP presentaron valores de potencial zeta en el rango de 29.70 a 30.5 mV. Se ha informado que valores de  $PZ > 30$  mV corresponden a una alta estabilidad, lo que confirma la formación de nanocomplejos espontáneos y estables entre el QN, el TPP y el ECG. Además, varios estudios han señalado que las nanopartículas de quitosano que utilizan el TPP como agente reticulante se caracterizan principalmente por tener un potencial zeta positivo.



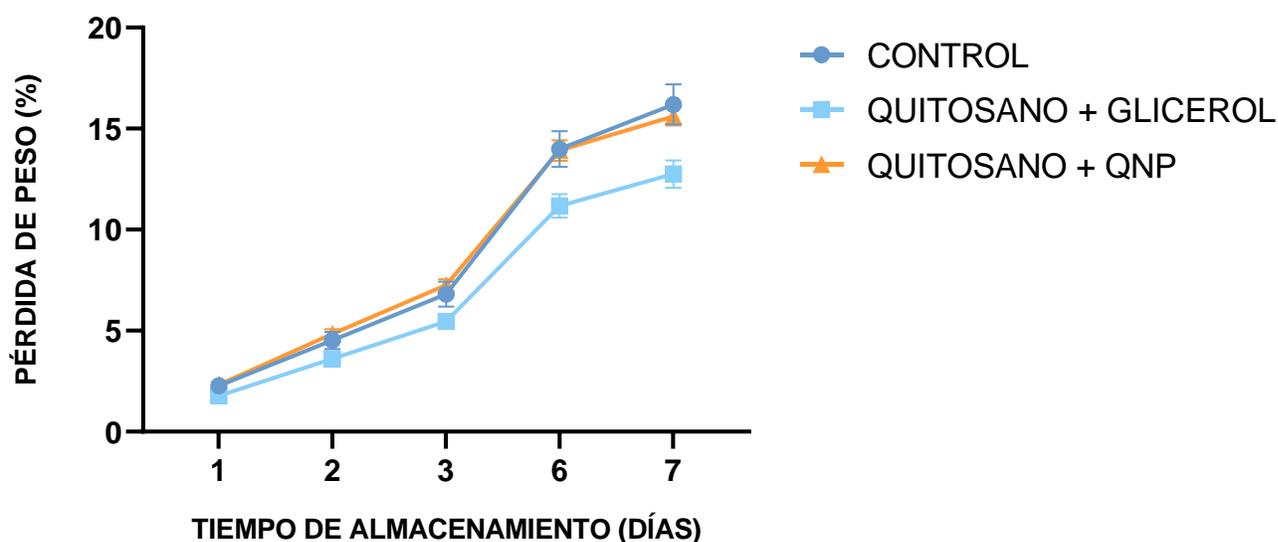
**Figura 58.** Potencial zeta de las QNP portadoras de extracto de cáscara de granada empleando condiciones específicas de síntesis (Solución de QN al 0.5% p/v, relación QN:TPP 1:1 y relación QN:ECG 1:0.25).

### 3.5. Parámetros Fisiológicos

#### 3.5.1. Pérdida Fisiológica de Peso

La elección de las frutas por parte de los consumidores depende en gran medida de su apariencia y calidad textural (Nayik & Muzaffar, 2014; Nayik et al., 2015). La alteración de la textura de la fruta está directamente vinculada a la pérdida de agua en su superficie, lo que resulta en su marchitamiento y compromete su calidad postcosecha. Se ha observado que la pérdida de peso está relacionada tanto con la evaporación de agua en la superficie del fruto como con su tasa de respiración (Jitareerat et al., 2007). La determinación de este parámetro es crucial, ya que una pérdida de peso del 5 al 10% puede hacer que un producto sea inaceptable desde una perspectiva comercial (Luna et al., 2006).

En la Figura 59 se presenta el impacto de la aplicación de recubrimientos de quitosán en mangos de la variedad "Manila" sobre la pérdida fisiológica de peso durante su almacenamiento a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Se aprecia un aumento en estas pérdidas tanto en el grupo control como en los lotes con recubrimiento.



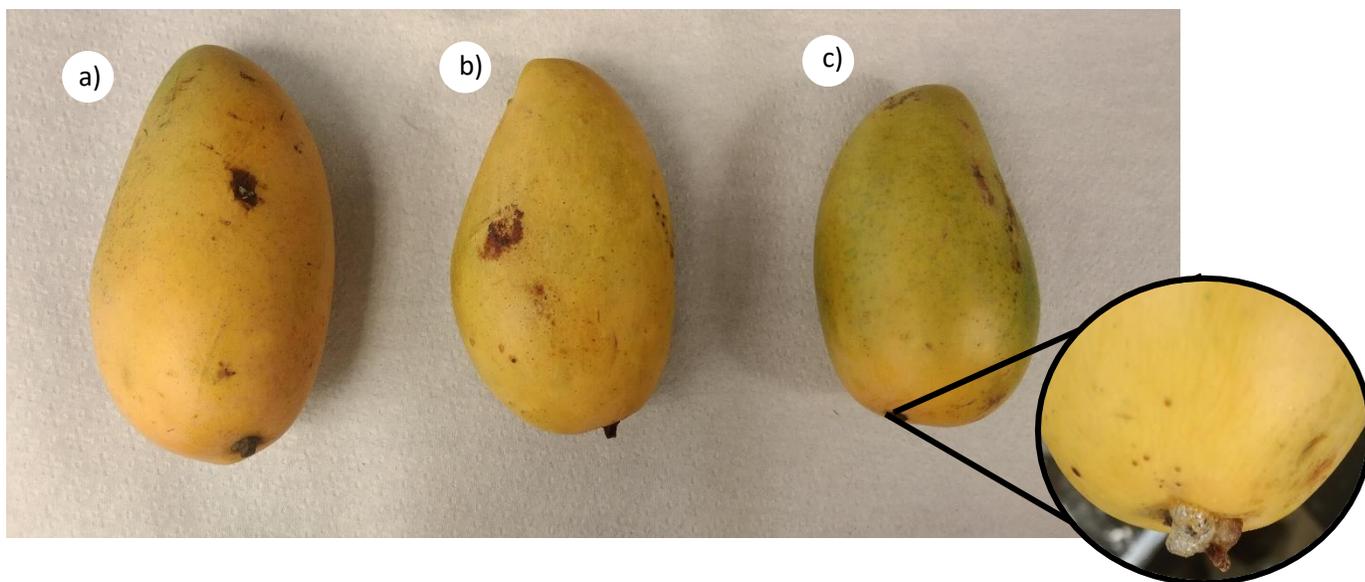
**Figura 59.** Efecto de la aplicación de recubrimiento (QN y QN con QNP) en mangos variedad "Manila" sobre la pérdida fisiológica de peso por día de almacenamiento. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar.

En la Figura 59 se puede observar que la pérdida de peso del grupo control durante el primer día de almacenamiento fue del 2.28 %. Este valor fue incrementándose gradualmente hasta llegar a un 16.20 % al final del periodo almacenamiento. En contraste, los mangos recubiertos con una mezcla de QN al 1 % y glicerol presentaron una pérdida inicial de 1.77 %, incrementándose a valores entre 12.12 % y 12.75 % al séptimo día de almacenamiento.

Los mangos recubiertos con una combinación de QN y glicerol mostraron una pérdida de peso durante el almacenamiento un 21.3% menor en comparación con el grupo control. Se observó una diferencia significativa ( $P \leq 0.5$ ) entre los mangos con este recubrimiento y el grupo control. Resultados similares fueron reportados por Hernández en 2015, donde se observó una reducción del 20 % en la pérdida de peso de mangos variedad Manila recubiertos con quitosán en comparación con el grupo control. Además, Kittur en 2001 reportó una significativa reducción de la pérdida de peso (30-35 %) en mangos recubiertos con quitosano y almacenados a  $27 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 7 días. Este efecto positivo de la aplicación de quitosano en la reducción de pérdida de masa puede atribuirse a la estructura densa de los recubrimientos a base de quitosano, que actúan como barreras semipermeables a los gases, modificando la atmósfera interna, y reduciendo las pérdidas por transpiración a través de las lenticelas y disminuyendo el metabolismo respiratorio (Mitra & Baldwin, 1997., Mulkar, 2017., Bal, 2013., Plainsirichaia, 2014., Olivas & Barbosa-Canovas, 2005., Divya et al., 2018). Por el contrario, el grupo control continuó perdiendo agua hacia la atmósfera debido a la transpiración, lo que resultó en una significativa disminución de peso a medida que avanzaba el almacenamiento, lo que a su vez afecta la apariencia y elasticidad del producto, causando pérdida de turgencia y volviéndolo blando y marchito (FAO, 1987).

Por otro lado, los mangos con recubrimientos de QN y QNP mostraron valores iniciales de pérdida de peso entre 2.22 % y 2.33 %, aumentando gradualmente hasta alcanzar valores entre

15.24 % y 15.61 % al final del periodo de almacenamiento. En el tercer día de almacenamiento, estos mangos presentaron 6.07 % mayor pérdida de peso que el grupo control, pero al séptimo día, esta pérdida fue un 3.64 % menor que en grupo control (Figura 59). No se observó diferencia significativa ( $P \geq 0.5$ ) entre ambos grupos, lo que sugiere que este recubrimiento no tuvo un efecto significativo en el control de este parámetro durante el almacenamiento. Sin embargo, si se observó una diferencia significativa ( $P \leq 0.5$ ) entre los mangos con QNP y los recubiertos con QN y glicerol, ya que los primeros presentaron un 18.32 % más de pérdida de peso al séptimo día (Figura 59). En el caso de los mangos recubiertos con QN y QNP, la alta concentración de nanopartículas y su tamaño considerable impidieron el intercambio adecuado de gases con el entorno, incluyendo la entrada de  $O_2$  y la salida de  $CO_2$ , que son elementos esenciales en el proceso de respiración aeróbica (Hagenmaier & Baker, 1993). Además, estas nanopartículas tendieron a bloquear los poros del fruto, lo que redujo la respiración del mismo, forzándolo a llevar a cabo la respiración anaeróbica afectando así sus procesos fisiológicos como la respiración y transpiración (Mulkay, 2017). La respiración anaeróbica conduce a la fermentación, generando una mayor producción de compuestos volátiles y subproductos como etanol, acetaldehído y  $CO_2$  interno (Hatton & Spalding, 1990; Ke & Kader, 1990). Estos compuestos pueden contribuir a una mayor pérdida de peso a medida que se liberan del mango durante el almacenamiento (Figura 60) y también pueden estar relacionados con la presencia de sabores desagradables.



**Figura 60.** Mangos variedad “Manila” a) grupo control, b) recubrimiento QN más glicerol y c) recubrimiento QN con QNP al tercer día de almacenamiento.

Por otra parte, el recubrimiento de QN con glicerol disminuyó las pérdidas por transpiración y permitió un intercambio adecuado de gases. Esto se debe a que el glicerol actúa como plastificante, mejorando las propiedades mecánicas del recubrimiento de quitosano. Al reducir las fuerzas intermoleculares atractivas a lo largo de la cadena de quitosano (Banker, 1966., Casariego, 2007), el recubrimiento se vuelve más permeable al vapor de agua (Garnica, 2001).

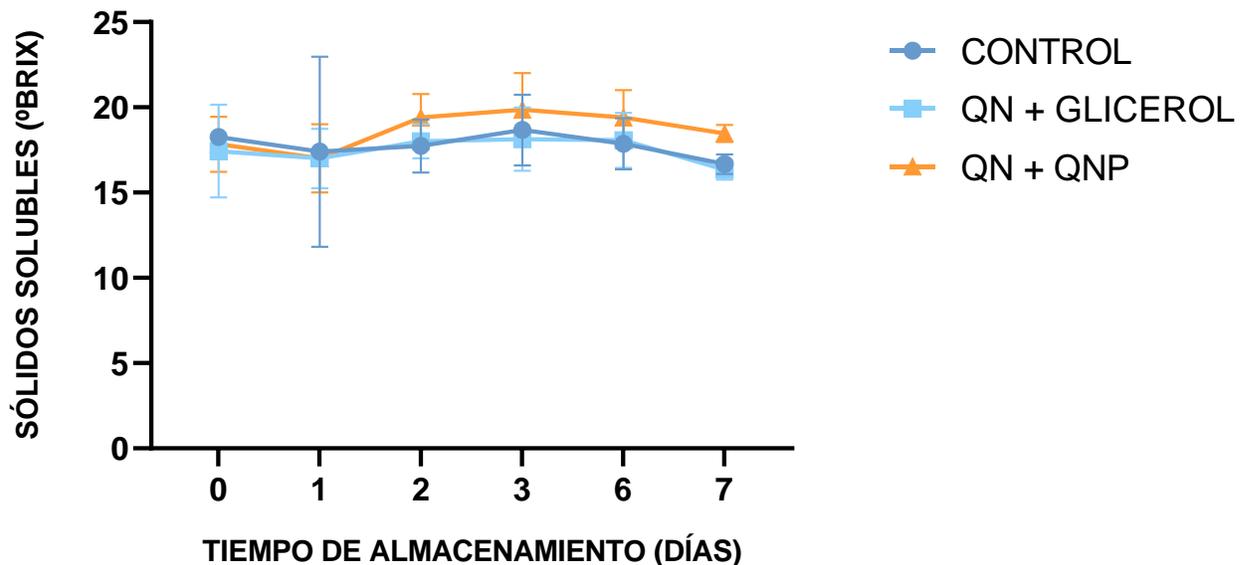
En resumen, la pérdida de peso es un parámetro crucial en la calidad postcosecha de los mangos. Los recubrimientos a base de quitosano y glicerol demostraron ser efectivos en la reducción de pérdida de peso, mientras que los recubrimientos con QN y QNP tuvieron un impacto variable. La diferencia en los resultados puede atribuirse a la composición y estructura de los recubrimientos, así como a las interacciones con la atmósfera interna de los mangos. Estos hallazgos resaltan la importancia de los recubrimientos en la conservación de los mangos y su calidad postcosecha.

### 3.6. Parámetros Físicoquímicos

#### 3.6.1. Sólidos solubles

Los sólidos solubles son un parámetro físicoquímico de gran relevancia en los procesos de maduración, ya que su aumento tiene un impacto directo en el dulzor del mango y en su calidad sensorial (Osuna-García et al.,2002).

En la Figura 61 se puede observar el efecto de la aplicación de recubrimientos en mangos variedad “Manila” sobre el contenido de sólidos solubles durante un periodo de 7 días de almacenamiento. Se aprecia que a medida que transcurren los días, tanto el grupo control como los demás grupos muestran un comportamiento similar, caracterizado por un aumento en los sólidos solubles y posteriormente una disminución de estos valores.



**Figura 61.** Efecto de la aplicación de recubrimientos a base de quitosano en el contenido de sólidos solubles de mango variedad “Manila”. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar.

Los valores de sólidos solubles obtenidos para los mangos el día de la aplicación de los recubrimientos, es decir el día 0, se encontraron en un rango de 17.43 y 18.27 °Brix para todos los

grupos de estudio. En cuanto al grupo control, su contenido de sólidos solubles, que inicialmente era de 18.27 °Brix, disminuyó hasta 16.67 °Brix para el séptimo día de almacenamiento, lo que representa una reducción del 8.75 % desde el primer día hasta el último, alcanzando su máximo contenido de SST el tercer día con 18.67 °Brix.

En el caso de los mangos con recubrimiento de QN más glicerol, se registraron valores iniciales de 17.43 °Brix, alcanzando 16.33 °Brix al final del almacenamiento, lo que representa una disminución del 6.31 % en sólidos solubles. El tercer día de almacenamiento, se registró el contenido máximo de 18.13 °Brix.

Por otra parte, los frutos con recubrimiento de QN y QNP presentaron un contenido inicial en sólidos solubles de 17.83 °Brix aumentando 3.47 % para el último día de almacenamiento y alcanzando un contenido máximo de SST de 19.87 °Brix.

Es importante destacar que los recubrimientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $P \geq 0.05$ ) en el contenido de sólidos solubles en comparación con el grupo control, ya que ambos exhibieron un comportamiento similar. A primera vista, el contenido de SST aumentó durante los días de almacenamiento debido a la maduración de los mangos, ya que se produce una alteración en la estructura de la pared celular y la síntesis del almidón, que se degrada en azúcares simples (Fennema, 2010). Posteriormente, estos valores disminuyeron una vez que el fruto alcanzó su madurez debido al proceso de respiración.

Sin embargo, si se observó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre ambos recubrimientos, lo que indica que los recubrimientos de QN y QNP afectaron de manera distinta la concentración de sólidos solubles en los mangos durante el almacenamiento. En lo que respecta a los mangos recubiertos con QN y glicerol, presentaron valores menores de SST, debido a que el quitosano crea

una barrera protectora que modifica la atmósfera interna, reduciendo la concentración de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>, y disminuyendo la respiración del fruto, lo que inhibe la hidrólisis del almidón y, como consecuencia, se observa una baja acumulación de °Brix manifestándose con un retraso en la maduración (Mulkay,2017; Robles-Sánchez et al.,2009; Djioua et al., 2010).

En el caso de los mangos recubiertos con QN y QNP, se aprecia un incremento en SST debido a la pérdida de agua que ocurrió durante el almacenamiento, además de la solubilización de poliuronidos y hemicelulosas de la pared celular. Estos procesos pueden contribuir al aumento en la concentración de sólidos solubles durante el almacenamiento de los mangos.

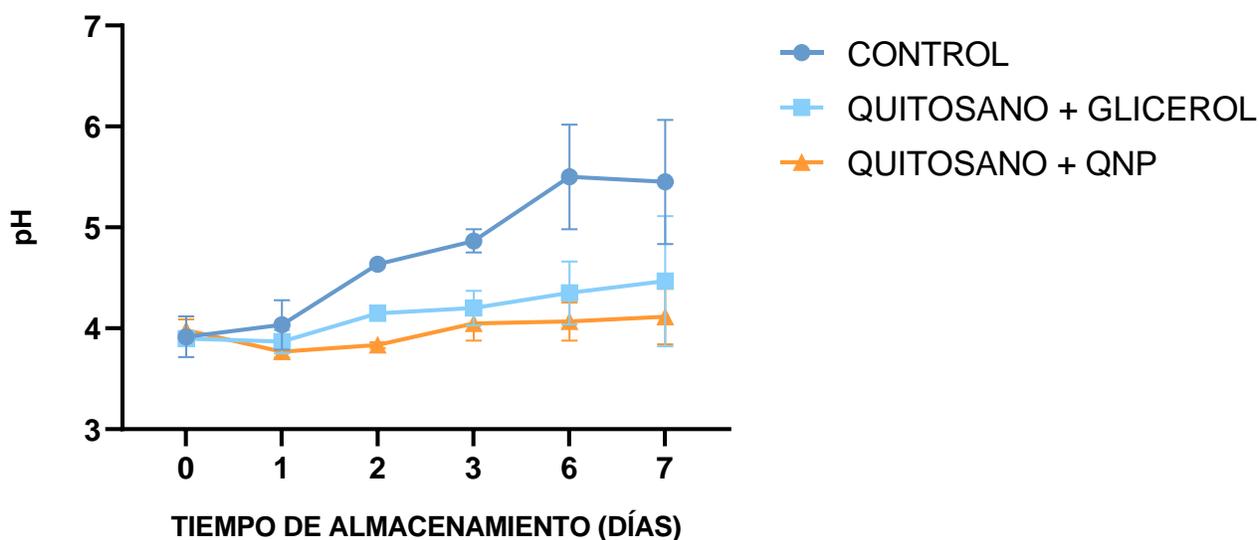
### *3.6.2. pH y Acidez*

El pH y la acidez son dos parámetros altamente variables debido a que los ácidos orgánicos presentes en la fruta verde se transforman o degradan a medida que la fruta madura. Cuando la maduración del fruto comienza, la glucosa se degrada para iniciar el ciclo respiratorio de la fruta, lo que conlleva un desplazamiento de los ácidos orgánicos internos para activar diversas rutas metabólicas (Quintero, 2013).

El pH está influenciado por la acidez de valoración, los tipos específicos de ácidos orgánicos presentes en el producto y sus proporciones relativas. El pH puede desencadenar cambios químicos significativos en la postcosecha, tanto en tejidos frescos como procesados (Fennema, 2010). El mango es particularmente rico en ácidos orgánicos en su etapa preclimática.

El comportamiento del pH en los mangos durante el almacenamiento se ilustra en la Figura 62. En esta gráfica, se observa un aumento del pH y la modificación a su comportamiento debido a los recubrimientos. En el primer día, los mangos del grupo control presentaron un pH de

4.03, el cual aumentó ligeramente hasta llegar a 5.45 al final del almacenamiento. La Figura 62 muestra los cambios en el pH en los mangos recubiertos con las dos diferentes soluciones. En el primer día de almacenamiento, los mangos con recubrimiento de QN con glicerol registraron un pH de 3.87, valor similar al grupo de mangos recubiertos con QN y QNP, que reportó un pH de 3.77. Al final del almacenamiento, el pH de los primeros aumentó ligeramente a 4.47, mientras que los mangos con QNP mostraron valores de pH entre 3.8 y 4.3. Estadísticamente, no se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre ambos recubrimientos, pero sí existieron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ambos recubrimientos y el grupo control.



**Figura 62.** Efecto de la aplicación de recubrimientos a base quitosán en el pH de los mangos variedad "Manila". Los valores obtenidos son la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar.

El comportamiento mencionado anteriormente muestra que los mangos tratados experimentaron un aumento del pH, sin embargo, el grupo control se mantuvo por encima de estos valores hasta el final del almacenamiento. Este comportamiento también está relacionado con la maduración de la fruta, que conlleva la pérdida y degradación de los ácidos orgánicos.

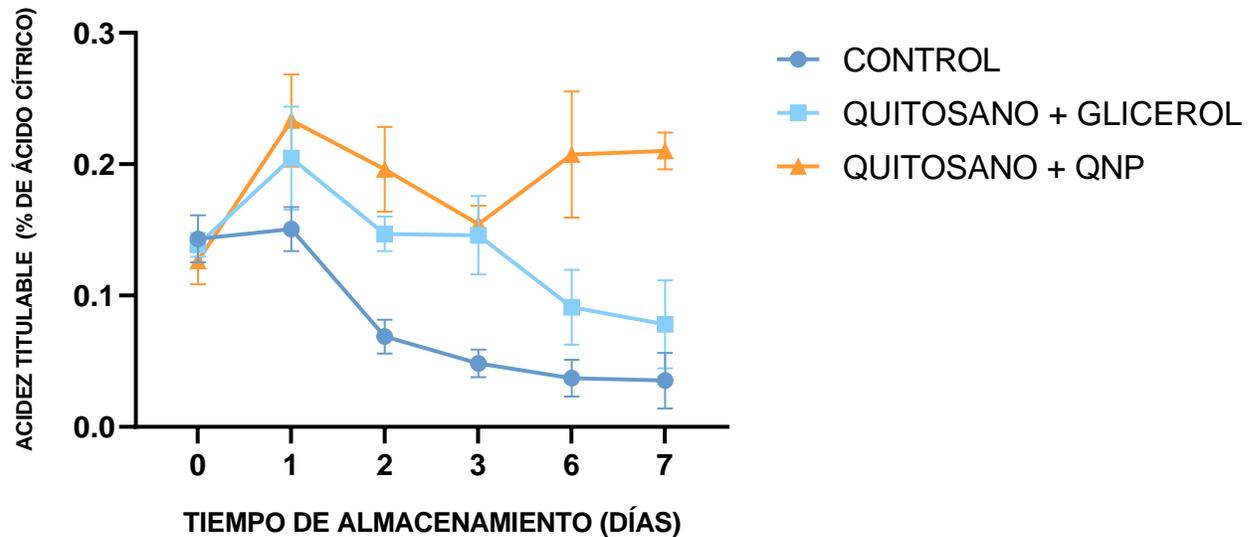
El cambio de pH registrado en los mangos con recubrimiento de QN y glicerol parece estar vinculado a la utilización, en menor medida, de los ácidos orgánicos presentes en las vacuolas de las células de los mangos (Ramón, 2017; Díaz et al., 2007). Los recubrimientos retardan el proceso metabólico del ácido cítrico predominante, lo cual hace que su concentración disminuya de manera lenta con la maduración, provocando un aumento en los valores de pH. En el caso de los mangos con recubrimiento de QNP, su pH se mantuvo más ácido durante todo el periodo de almacenamiento debido a la posible acumulación de compuestos ácidos derivados de la respiración anaerobia, lo que podría haber acidificado la atmósfera alrededor de los mangos.

Los resultados del pH concuerdan con lo de la acidez, lo que respalda la noción de que los recubrimientos pueden influir en la composición química y la calidad de los mangos durante el almacenamiento.

En la Figura 63 se visualiza el impacto de los recubrimientos de quitosán en la acidez titulable de los mangos, expresada en porcentaje de ácido cítrico. La concentración de ácido cítrico disminuyó a medida que avanzaron los días de almacenamiento, mostrando el siguiente patrón de comportamiento.

Es relevante resaltar que los mangos que fueron recubiertos, tanto con QN y glicerol como con QNP, experimentaron un aumento en la acidez titulable desde el día cero, es decir, desde el día que fueron recubiertos al primer día de almacenamiento. En el caso de los mangos recubiertos con QN y glicerol, su nivel de acidez se incrementó en un 42.86 %, mientras que los mangos con recubrimiento de QNP encapsuladoras de extracto de cáscara de granada presentaron un aumento del 76.92 % (Figura 63). Este fenómeno podría atribuirse al hecho de que el quitosano,

al ser soluble en soluciones ácidas como es la solución de ácido acético al 1%, puede conferir acidez a los alimentos donde es utilizado (Mulkay-Vitón, 2017).



**Figura 63.** Cambios en el contenido de acidez de los mangos en función del tiempo de almacenamiento. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar.

Para el primer día de almacenamiento (Figura 63), en el grupo control se registró un contenido de ácido cítrico de 0.15 %, el cual disminuyó a 0.04 % en el séptimo día, manifestando así una reducción del 73.3 % desde el inicio hasta el final del período de almacenamiento. En el caso de los mangos recubiertos con QN y glicerol, se observó un contenido inicial de ácido cítrico del 0.20 %, el cual se redujo a 0.08 % al término del almacenamiento, indicando una disminución del 40 %. Por otro lado, los mangos recubiertos con QN y QNP presentaron un contenido inicial de ácido cítrico del 0.23 %, que descendió al 0.15 % en el tercer día (una disminución del 34.78 %). Sin embargo, en el séptimo día, esta acidez aumentó a 0.21 %. Es evidente que los mangos con recubrimiento de QNP siempre mantuvieron un contenido de acidez mayor en comparación con los otros dos grupos (control y QN con glicerol). Esta diferencia podría atribuirse a que la solución en la se sumergieron contenía extracto de cáscara de granada, que fue encapsulado en las

nanopartículas. Además, las nanopartículas conllevan una liberación controlada del extracto, principalmente ácido eláxico, que podría interactuar con los componentes del mango y contribuir al aumento de la acidez titulable. Los resultados muestran una diferencia estadísticamente significativa ( $P \leq 0.05$ ) tanto entre los recubrimientos como entre estos y grupo control.

Según los resultados obtenidos, los mangos del grupo control siguieron un proceso normal de maduración. A medida que avanzaba la maduración, la acidez de los mangos disminuyó y el contenido de azúcares aumentó. Esta reducción de acidez se atribuye a que los ácidos orgánicos desempeñan un papel importante en el metabolismo respiratorio de las frutas, sirviendo como intermediarios metabólicos. Por lo tanto, durante la maduración, los ácidos orgánicos se utilizan como sustrato respiratorio o se convierten en azúcares (Fennema, 2010; Castillo, 2005).

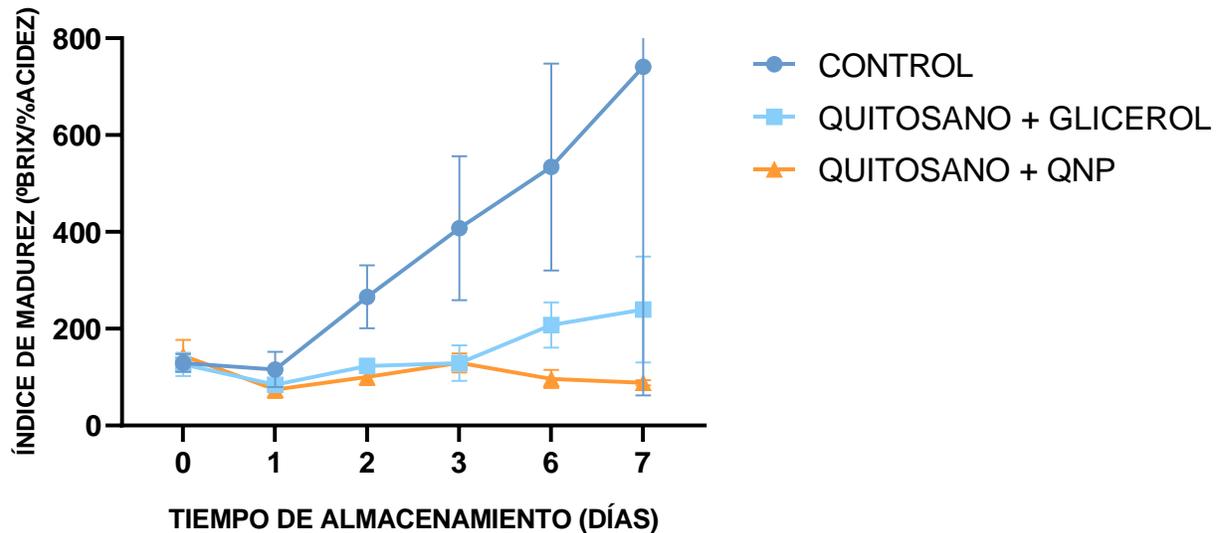
El recubrimiento de QN con glicerol tuvo un efecto significativo en el contenido de ácido cítrico de los mangos. Este recubrimiento crea una barrera física que reduce la velocidad de la respiración y, por ende, ralentiza la utilización de los ácidos como sustrato respiratorio. Como resultado, la disminución de la acidez se retarda, conservando así un sabor agrio en los mangos durante un periodo de tiempo prolongado. Un fenómeno similar fue reportado por Zambrano et al. (2011) en mangos "Bocado" con recubrimientos a base de quitosán.

Por último, el aumento en la acidez de los mangos con recubrimientos de QN y QNP al final del almacenamiento podría ser atribuido a la respiración anaeróbica a la que estuvieron expuestos. La respiración anaeróbica puede desencadenar una serie de procesos metabólicos que afectan el contenido de ácidos en los frutos. La acumulación de compuestos como etanol y otros subproductos de la fermentación, producidos durante la respiración anaeróbica, podría contribuir al aumento de la acidez titulable en los mangos.

### 3.6.3. Índice de Madurez

La relación entre los sólidos solubles totales (SST) y la acidez titulable (AT) se considera un índice de madurez (IM) en frutas (García, 2014). En este caso, esta relación se vio mayormente influenciada por los valores de AT, ya que el contenido de sólidos solubles no varió prácticamente entre los distintos tratamientos. En el mango, el incremento del índice de madurez se relaciona con la degradación de los carbohidratos complejos, lo que contribuye a intensificar la dulzura de los frutos (Tharanathan et al.,2006).

La Figura 64 ilustra el índice de madurez de los mangos control, los recubiertos con QN y los recubiertos con QN en combinación con QNP, almacenados a temperatura ambiente  $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Se observa que los mangos recubiertos con ambas formulaciones presentaron valores menores de IM durante todo el periodo de almacenamiento, mientras que los mangos del grupo control mostraron una tendencia continua en aumento, reflejando el proceso continuo de maduración. Al realizar el análisis estadístico correspondiente, se encontró que existe una diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los mangos recubiertos con ambas soluciones y el grupo control, aunque se observa una diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre estos dos tipos de recubrimientos.



**Figura 64.** Índice de madurez (IM) de mangos variedad “Manila” a  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 7 días de almacenamiento. Los valores obtenidos son la media de tres réplicas  $\pm$  desviación estándar.

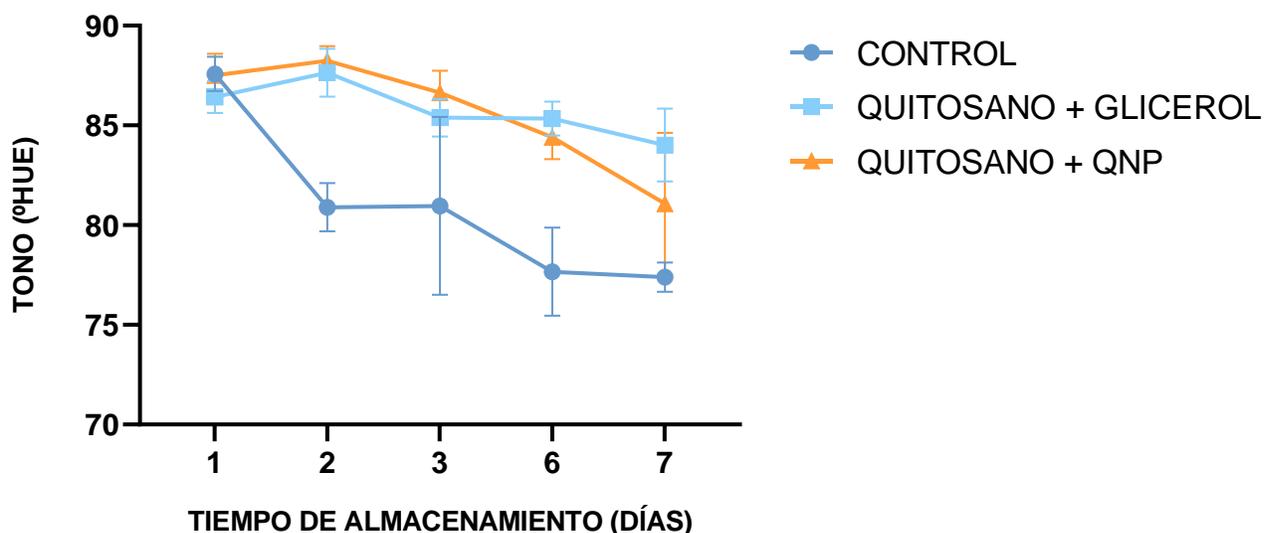
El comportamiento evidenciado en la Figura 64 puede explicarse de la siguiente manera: el incremento en el índice de madurez en el grupo control a lo largo del almacenamiento indica que los frutos maduraron de manera normal, experimentando respiración e interacción con el ambiente sin restricciones, lo que condujo a la hidrólisis de carbohidratos y la disminución esperada de los ácidos orgánicos necesarios en ese proceso (Mitra & Baldwin, 1997). Por otro lado, los mangos recubiertos con QN en combinación con glicerol y QN con QNP presentan un IM menor, lo que sugiere que el recubrimiento efectivamente retarda la velocidad de las reacciones, en particular, se produce una degradación menor de los carbohidratos complejos como celulosa, pectina y hemicelulosa, lo que se refleja en un bajo contenido de azúcares solubles. Además, se observa un retraso en la actividad metabólica de los ácidos orgánicos, lo que se traduce en un porcentaje elevado de acidez.

Además de lo mencionado, es relevante destacar que los mangos con recubrimiento de nanopartículas mostraron una disminución en el IM en el cuarto día de almacenamiento. Este comportamiento podría estar relacionado con la respiración anaerobia que ocurrió en los mangos, dado que la acumulación de compuestos de fermentación podría haber afectado negativamente el proceso de maduración normal. Además, las nanopartículas y otros componentes del recubrimiento podrían haber interactuado con los compuestos naturales presentes en los mangos, alterando su proceso de maduración. Esto pudo haber resultado en una maduración más lenta o en un patrón de maduración diferente en comparación con los otros grupos.

#### *3.6.4. Color*

El color de la cáscara de los frutos es un atributo de calidad que influye en las preferencias del consumidor, creando expectativas en cuanto al sabor, el gusto y la palatabilidad (Wadhera & Capaldi, 2014). Además, sirve como indicador del estado de madurez y la calidad en proceso de deterioro de los frutos (Castro & Cerquera, 2013).

A continuación, se presenta la evolución del ángulo de tono ( $^{\circ}$ Hue) tanto en los mangos con recubrimientos de quitosán como de los mangos control, observándose una disminución gradual de este parámetro en todos los frutos a medida que transcurren los días de almacenamiento (Figura 65).



**Figura 65.** Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de quitosán y quitosán con QNP en el ángulo de tono de mangos variedad “Manila”. Los valores obtenidos son la media de cinco réplicas  $\pm$  desviación estándar.

En el primer día de almacenamiento (Figura 65) los valores del ángulo de tono para los mangos con recubrimiento de QN con glicerol variaron entre 85.45 y 87.61 °Hue, mientras que los mangos con recubrimiento de QNP, los valores oscilaron entre 85.91 y 88.88 °Hue. En contraste, los mangos sin recubrimiento mantuvieron valores de alrededor de 87.85 °Hue al inicio del almacenamiento. Con el tiempo, el ángulo de tono disminuyó reportando un valor final de 77.37 °Hue, de igual manera los mangos recubiertos mostraron una ligera disminución al final del almacenamiento de entre 84.95 y 81.08 respectivamente. Aunque no se observaron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre los dos tipos de recubrimientos, sí hubo diferencias significativas entre los mangos recubiertos y los no recubiertos.

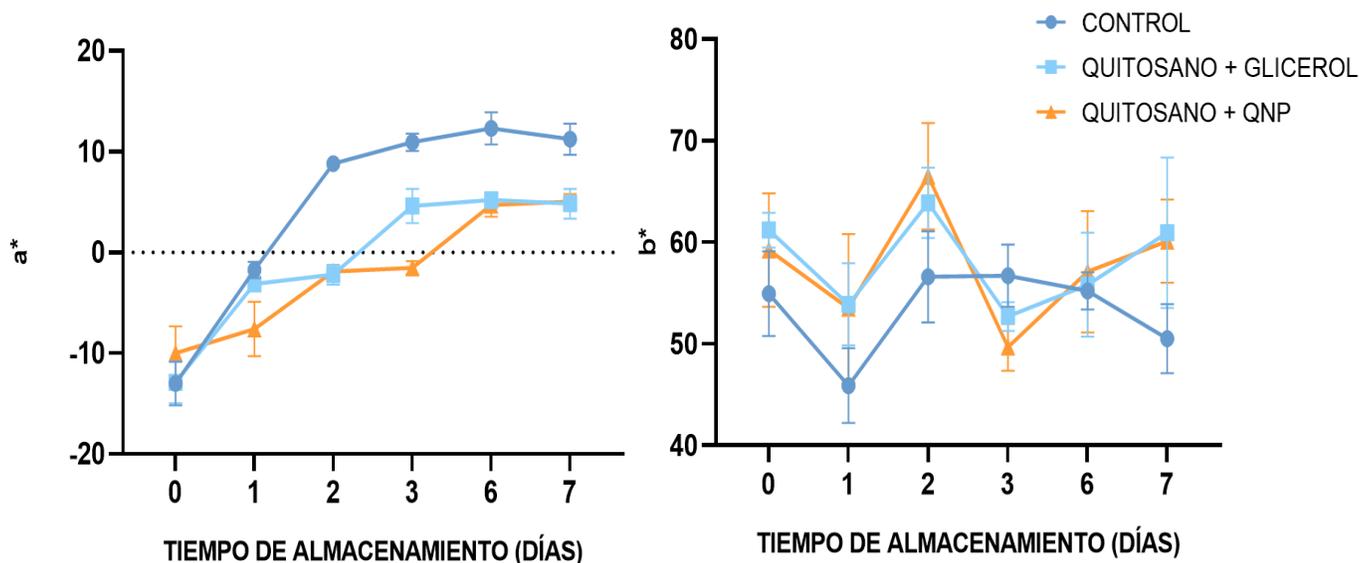
A lo largo del almacenamiento, los mangos recubiertos con ambas formulaciones mantuvieron un color verde, posiblemente debido a la atmósfera creada alrededor del fruto, lo que retrasó su maduración y, por ende, la aparición de colores distintos. Los cambios en el color en la

cáscara se deben a la degradación de las clorofilas provocada por cambios en el pH, el contenido de ácidos y el aumento de procesos oxidativos (Kader & Barrett, 1996; Zaccari et al., 2017), así como a la síntesis de carotenoides. La mayoría de los mangos recubiertos mantuvo tonalidades verdes-amarillas, mientras que los frutos testigo mostraron colores amarillo-anaranjados (Tabla 13) debido a la maduración, que implicó una rápida degradación de la clorofila y un aumento en la biosíntesis de carotenoides (Knee et al., 2008, Mattoo et al., 1975).

**Tabla 13.** Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de QN con glicerol y QN con QNP en mangos de la variedad “Manila”

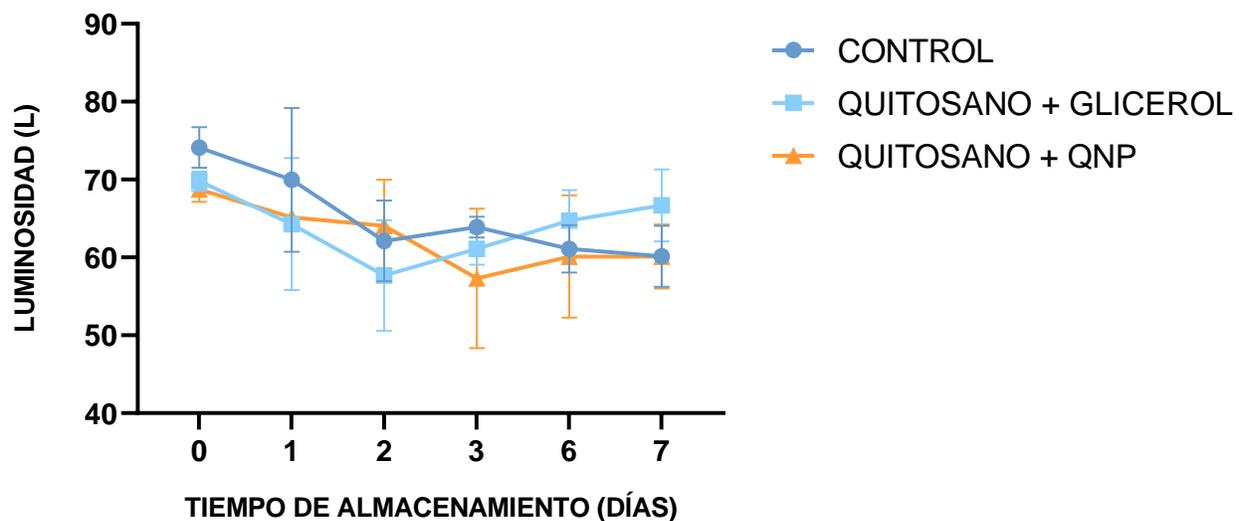
Día de almacenamiento	Control	Recubrimiento QN con glicerol	Recubrimiento QN con QNP
0			
1			
2			
3			
6			
7			

Los resultados antes mencionados concuerdan con los obtenidos en las coordenadas cromáticas ( $a^*$ ,  $b^*$ ), donde  $a^*$  es el parámetro que más influye en la maduración de los frutos, ya que va desde valores negativos, tonos verdosos, hasta valores positivos, que indican tonos amarillos. En la Figura 66, se puede apreciar que los mangos control alcanzaron valores en  $a^*$  de hasta 10.33, en comparación de los mangos recubiertos, cuyos valores máximos fueron 4.53 para los recubiertos con QN y glicerol, y 5.08 para los recubiertos con QN en combinación QNP. En cuanto al parámetro  $b^*$ , que representa tonalidades amarillas (valores positivos) o azules (valores negativos), los mangos sin recubrimiento oscilaron entre 45.93 y 58.46, mientras que los recubiertos con QN y glicerol alcanzaron valores de hasta 62.24, y los recubiertos con QNP obtuvieron valores de  $b^*$  entre 54.9 y 67.99 (Figura 66). No se observaron diferencias significativas ( $P \geq 0.05$ ) en los valores de  $a^*$  y  $b^*$  entre las muestras recubiertas, pero sí en comparación con los mangos sin recubrimiento, debido a que los recubrimientos retrasaron la degradación de la clorofila y, por ende, el cambio de color.



**Figura 66.** Efecto de los recubrimientos comestibles a base de quitosano e incorporados con glicerol y nanopartículas encapsuladoras de extracto de cáscara de granada en las coordenadas cromáticas ( $a^*$ ,  $b^*$ ) de mango "Manila" durante su almacenamiento.

La Figura 67 muestra el efecto de la aplicación de recubrimientos sobre el parámetro de la luminosidad en los mangos. Para el primer día de almacenamiento, el grupo control registró un valor de  $L=63.93$ , mostrando una disminución del 2.38% en la luminosidad para el último día de almacenamiento. Por otro lado, para este día, los mangos tratados con recubrimiento de QN y glicerol registraron un valor de  $L=66.21$ , mientras que al final del período de almacenamiento, los mangos registraron valores de luminosidad de  $L=66.2$ . Finalmente, los mangos recubiertos con QN y QNP presentaron valores de  $L=65.07$  el primer día de almacenamiento, y para el séptimo día, esta luminosidad disminuyó en un 1.38%, registrando un valor final de  $L=64.17$ . No se observaron diferencias significativas entre los frutos recubiertos con respecto al grupo control, ni entre ellos.



**Figura 67.** Efecto de recubrimientos comestibles a base de quitosano e incorporados con glicerol y nanopartículas encapsuladoras de extracto de cáscara de granada sobre la luminosidad (L) de mango "Manila" durante el almacenamiento a 23°C.

Se esperaba que la aplicación de recubrimientos proporcionara brillo al fruto, pero en realidad, ocurrió lo contrario. Los mangos recubiertos con ambas formulaciones mostraron valores de luminosidad inferiores en comparación con los mangos no tratados. Esto puede atribuirse a una

reducción en la disponibilidad de oxígeno del fruto, lo cual está relacionado con el retraso en su maduración y, por lo tanto, con la degradación y biosíntesis de los pigmentos que le dan al mango sus colores amarillos; lo que hace que prevalezca el color verde de la clorofila. Este fenómeno se asemeja a lo que se informó en un estudio realizado por Figueroa et al., 2011. En dicho estudio se explicaba que los recubrimientos en los frutos pueden crear una atmósfera modificada entre la película y la superficie de los mismos, evitando la degradación de la clorofila, debido a la ausencia de O<sub>2</sub> en la atmósfera de almacenamiento.

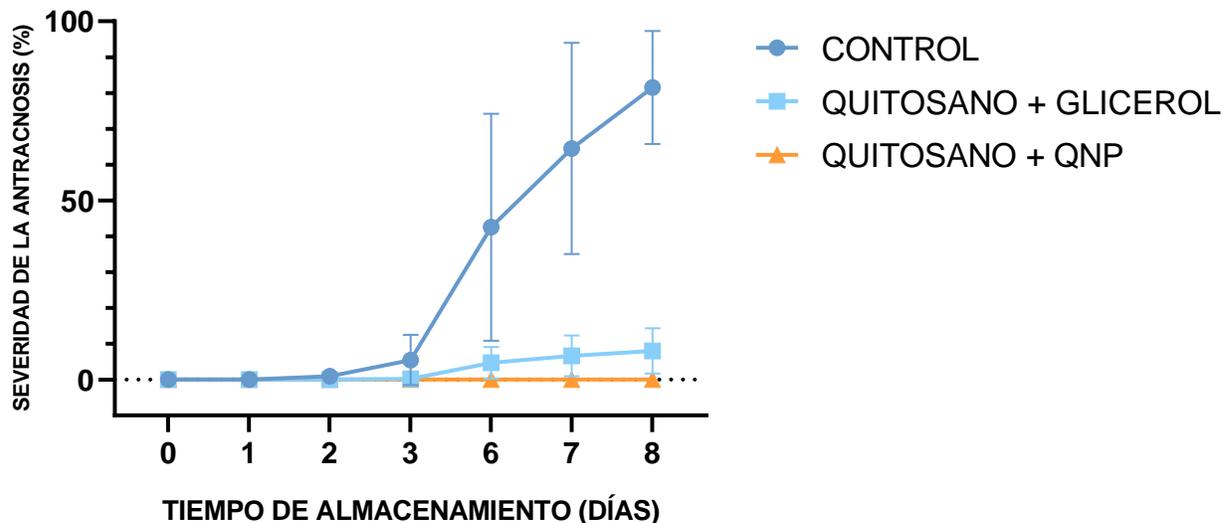
### 3.7. Parámetros Microbiológicos

#### 3.7.1. Severidad de Antracnosis

El mango es susceptible a enfermedades, entre las cuales la antracnosis, causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, tiene un mayor impacto en la productividad y calidad del fruto (Santos et al., 2011). La antracnosis se reconoce como la enfermedad más importante, ya que se caracteriza por la aparición de manchas oscuras que dificultan la comercialización del fruto (Arias & Carrizales, 2007). La efectividad de los recubrimientos aplicados para controlar la antracnosis en los mangos variedad "Manila" fue evaluada en relación al porcentaje de manchas oscuras, características de la enfermedad presentadas durante el almacenamiento, expresado como el porcentaje de severidad de la antracnosis.

En la Figura 68 se muestra la severidad de la antracnosis en los frutos de mango variedad "Manila" recubiertos con diferentes formulaciones, así como en el grupo control. En los mangos control, se observaron lesiones de antracnosis a partir del segundo día de almacenamiento, con un diámetro de 1 cm, de color café oscuro casi negro y bordes regulares, lo que corresponde al 0.94 % de severidad. Conforme transcurrieron los días, estas manchas aumentaron en número y tamaño, fusionándose para formar conglomerados de lesiones con apariencia de salpicaduras o

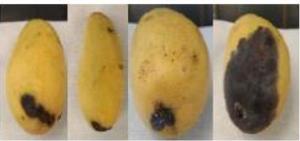
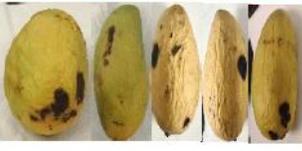
escurrimientos. Estas lesiones causaron un necrosamiento que alcanzó aproximadamente el 81.55 % de la superficie de los mangos al octavo día de almacenamiento.



**Figura 68.** Severidad de la antracnosis en frutos de mango variedad "Manila" con diferentes recubrimientos de quitosano y nanopartículas almacenados a  $23\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Los valores obtenidos son la media  $\pm$  desviación estándar.

En contraste, los mangos recubiertos con quitosano en combinación con glicerol mostraron síntomas de antracnosis a partir del tercer día de almacenamiento, con una severidad del 0.23 %, que aumentó al 8.01 % al final del período de almacenamiento. Por otro lado, los mangos recubiertos con quitosán y nanopartículas portadoras de extracto de cáscara de granada se mantuvieron libres de síntomas de antracnosis desde el primer día de almacenamiento hasta el octavo (Tabla 14). La severidad de antracnosis fue un 90.17 % menor en los mangos recubiertos con quitosano y glicerol en comparación con el grupo control. Estos resultados mostraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) tanto entre el grupo control y los dos tipos de recubrimientos como entre los dos recubrimientos.

**Tabla 14.** Efecto de la aplicación de un recubrimiento a base de QN con glicerol y QN con QNP en mangos de la variedad “Manila” sobre la severidad de la antracnosis.

Día de almacenamiento	Control	Recubrimiento QN con glicerol	Recubrimiento QN con QNP
0			
1			
2			
3			
6			
7			

Este comportamiento puede deberse al hecho de que el mango es muy susceptible a infecciones patógenas, y su resistencia disminuye gradualmente durante la maduración. En general, la antracnosis en el mango comienza como una infección latente que proviene del árbol y se desarrolla cuando los mangos comienzan a madurar. Por lo tanto, los mangos del grupo control,

al carecer de un recubrimiento protector, son más susceptibles a la enfermedad, permitiendo que el hongo causante de la antracnosis se propague y cause daño.

En cuanto a los mangos recubiertos con quitosano en combinación con glicerol, este recubrimiento redujo significativamente la infección por antracnosis. Algunos estudios mencionan que el quitosano es capaz de liberar productos que podrían interactuar con el ADN fúngico, perturbando la síntesis de proteínas y ARNm (Zakrzewska et al., 2005) o interactuar con las moléculas cargadas negativamente en las células fúngicas, lo que provoca la pérdida de iones y componentes proteicos (Meng et al., 2008). Otros autores, como Bautista (2006), mencionan que los recubrimientos de quitosano inhiben el crecimiento e inducen cambios morfológicos en la estructura de las hifas, impidiendo la germinación de esporas y el crecimiento micelial de los hongos. Además, el recubrimiento retrasa la maduración del fruto lo que puede inducir su resistencia contra la infección de patógenos (Khaliq et al., 2017).

La ausencia completa de síntomas de antracnosis en el grupo de recubrimiento con nanopartículas podría deberse a la adición de un agente antimicrobiano encapsulado en nanopartículas de quitosano, que tienen una mayor actividad debido a su pequeño tamaño. La cáscara de granada contiene compuestos fenólicos como el ácido elágico, que tienen propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes. Cuando estos compuestos se liberan de las nanopartículas de quitosán, pueden alterar la permeabilidad celular de los cultivos fúngicos, provocando alteraciones morfológicas, estructurales y moleculares en las células fúngicas. Además, el menor tamaño de las QNP permite su absorción por parte de la célula fúngica, alterando así la integridad de la membrana (Divya et al., 2018). Mohamed & Osama (2017) también mencionan que las nanopartículas de quitosano interfieren con los residuos cargados negativamente de las macromoléculas expuestas en la superficie de las células fúngicas, lo que

provoca la fuga de los electrolitos intracelulares y componentes proteicos. Además, los antioxidantes pueden haber ayudado a preservar la integridad de la piel del mango, impidiendo la penetración del hongo.

## CONCLUSIONES

La integración de tecnologías emergentes, como la nanotecnología, en los recubrimientos de frutas se destaca como una prometedora alternativa de conservación. Esto permite preservar las cualidades deseadas y la calidad de los productos, lo que es crucial en el contexto de la industria alimentaria.

La identificación precisa del patógeno *Colletotrichum gloeosporioides* basada únicamente en características morfológicas se reveló como un desafío significativo. Esta dificultad resalta la necesidad de incorporar técnicas moleculares para una identificación más fiable.

Es esencial destacar que las interacciones entre el quitosano, el tripolifosfato de sodio y el extracto de cáscara de granada impactan de manera significativa en la eficiencia de encapsulación de compuestos. Esta comprensión es crucial, ya que guía el diseño de sistemas de liberación de compuestos más efectivos y estables, con el potencial de mejorar la vida útil de los alimentos funcionales.

Además, se comprobó la eficacia del extracto etanólico de cáscara de granada en la inhibición de *Colletotrichum*, subrayando la importancia de las técnicas de extracción adecuadas para optimizar la eficacia de los recubrimientos.

Es importante notar que las aplicaciones de recubrimientos en mangos variedad “Manila” tuvieron un impacto significativo en la calidad y vida útil de los frutos. El recubrimiento de quitosano se reveló como un método eficaz para retrasar la maduración de los mangos, conservando sus atributos deseables durante un período prolongado de almacenamiento. Esto plantea su potencial para extender la vida útil de los productos.

Sin embargo, el recubrimiento de quitosano con nanopartículas, aunque logró inhibir por completo la antracnosis, generó problemas de respiración anaerobia y afectó negativamente la calidad sensorial.

En resumen, estos hallazgos sientan las bases para futuros avances en la conservación de frutas, especialmente en la inhibición de patógenos postcosecha como *Colletotrichum*. Esto tiene un impacto positivo en la industria alimentaria, proporcionando alimentos más seguros y de mayor calidad, pero también destaca áreas de investigación futuras para abordar los desafíos identificados en esta investigación.

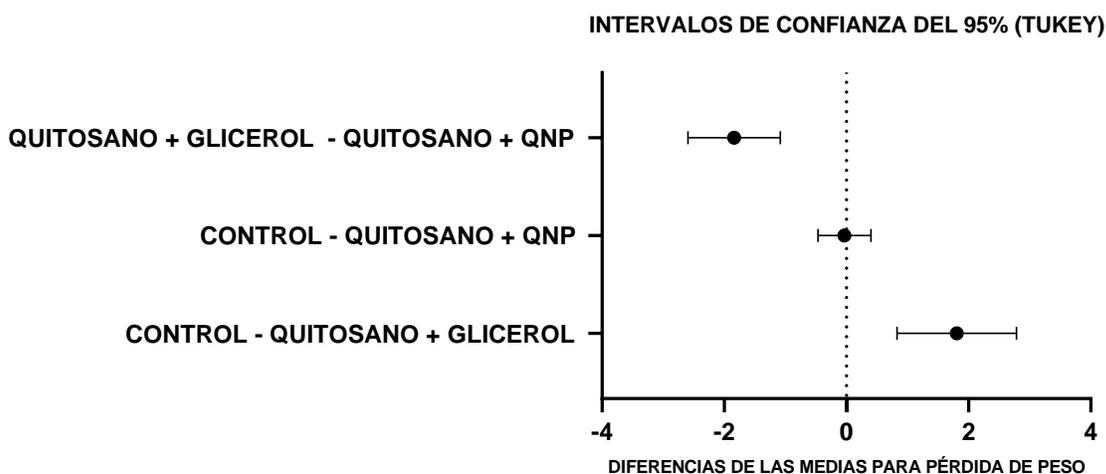
## RECOMENDACIONES

Como perspectivas para futuras investigaciones se plantean las siguientes:

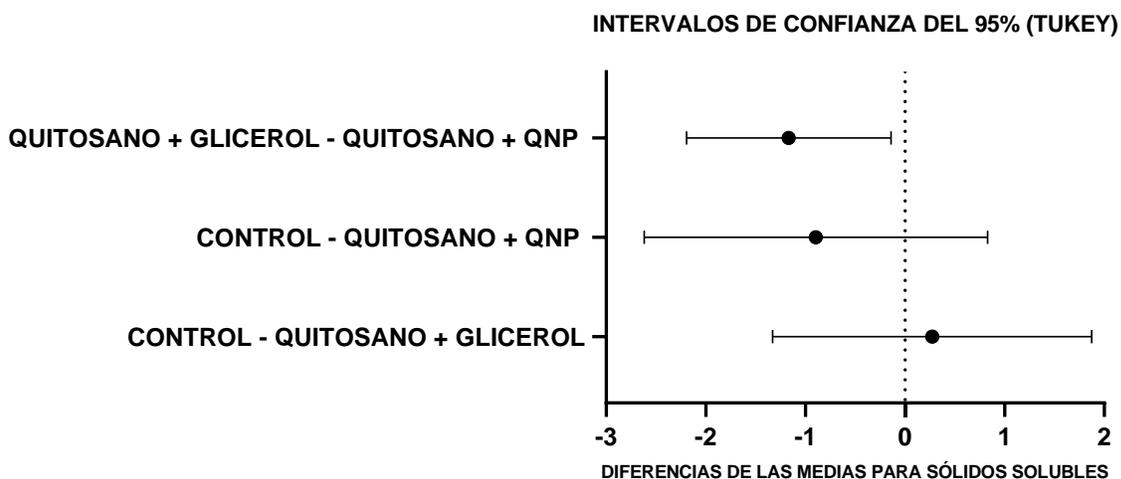
- ▶ Se recomienda la integración de análisis moleculares en investigaciones posteriores para lograr una caracterización más profunda de las cepas de *Colletotrichum* y entender mejor su potencial de adaptación. Esto no solo es esencial desde una perspectiva científica, sino también para el desarrollo de un control eficaz de enfermedades en cultivos agrícolas, como el mango.
- ▶ Se sugiere explorar fuentes alternativas de quitosano y examinar cómo las variaciones en sus características pueden afectar la eficiencia de encapsulación de nanopartículas.
- ▶ Dado el éxito de las nanopartículas de quitosán cargadas con extracto de cáscara de granada en términos de eficiencia de encapsulación y estabilidad coloidal, se propone llevar a cabo estudios de optimización para determinar las condiciones ideales de síntesis de nanopartículas con las que se garantice una alta eficiencia de encapsulación y estabilidad sin aumentar innecesariamente los costos de producción.
- ▶ Se deben realizar evaluaciones de las cinéticas de liberación de los extractos de cáscara de granada encapsulados tanto in vitro e in situ, con el fin de comprender mejor su comportamiento y aplicaciones prácticas.
- ▶ Se recomienda investigar en profundidad los cambios provocados por los recubrimientos adicionados con nanopartículas y buscar soluciones para preservar la calidad organoléptica de los mangos, al mismo que se mantiene la eficacia en la inhibición de antracnosis.

## ANEXOS

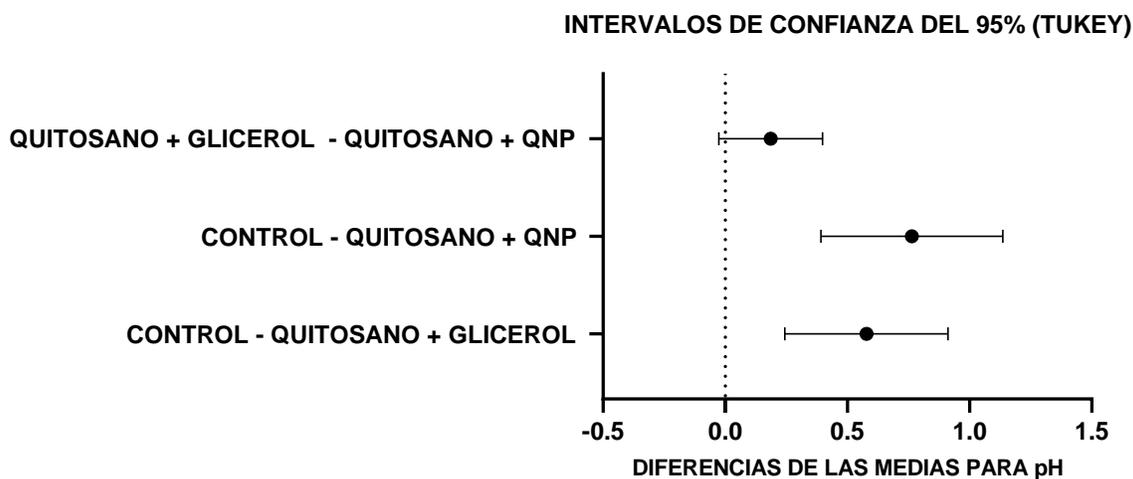
**ANEXO 1.** Gráficos análisis estadístico de la prueba de diferencia honestamente significativa de Tukey (Tukey's HSD), los cuales tienen como fin comparar las medias individuales provenientes de un análisis de varianza de las muestras sometidas a distintos tratamientos.



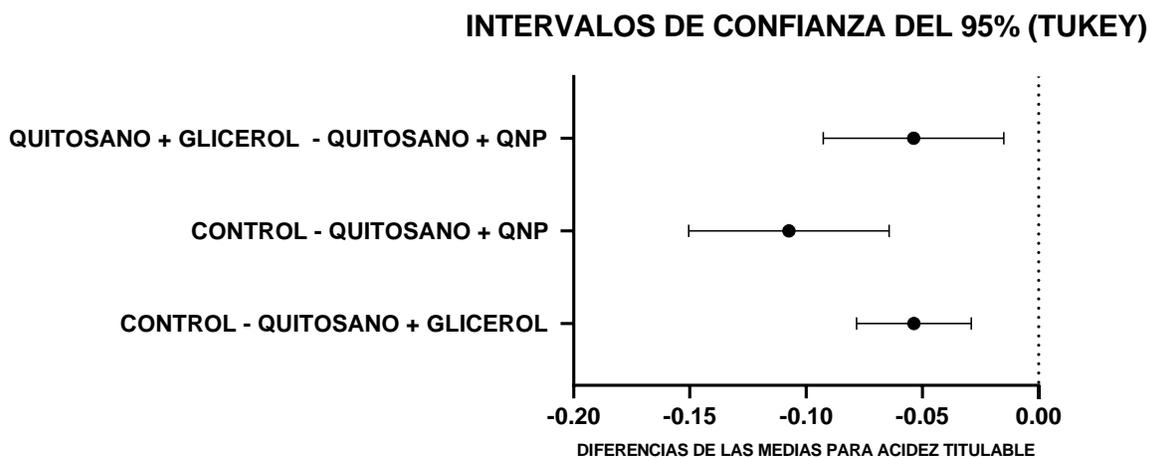
**Figura 69.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable pérdida fisiológica de peso.



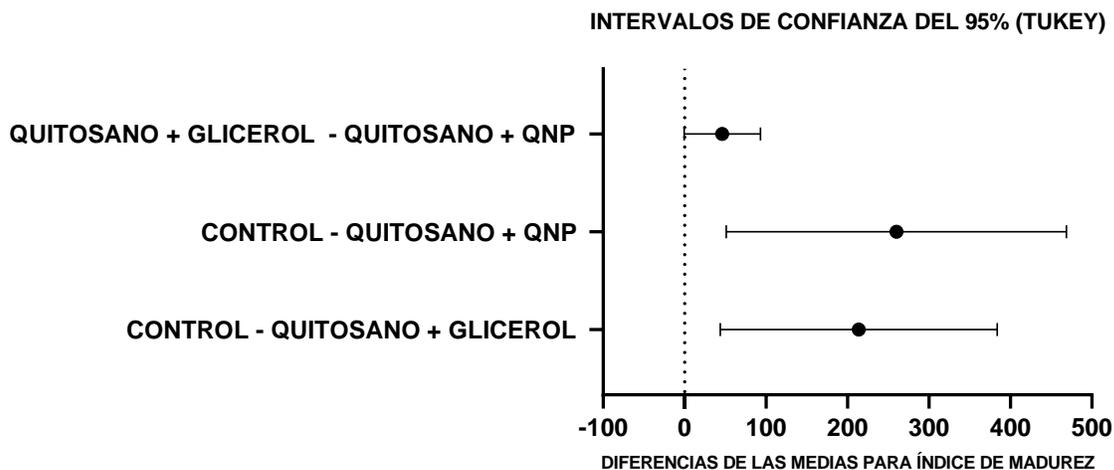
**Figura 70.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable sólidos solubles.



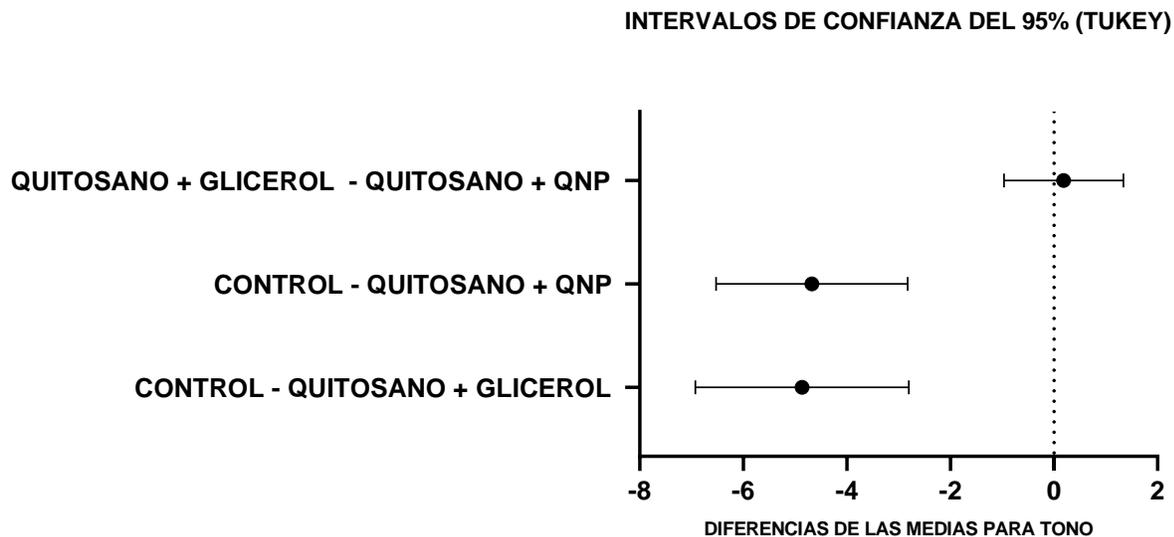
**Figura 71.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable pH.



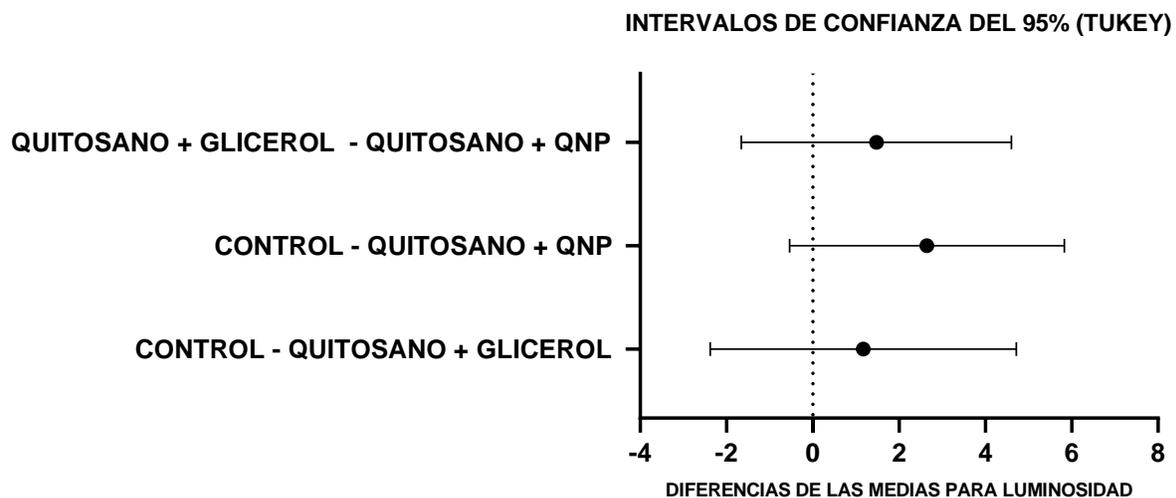
**Figura 72.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable acidez titulable.



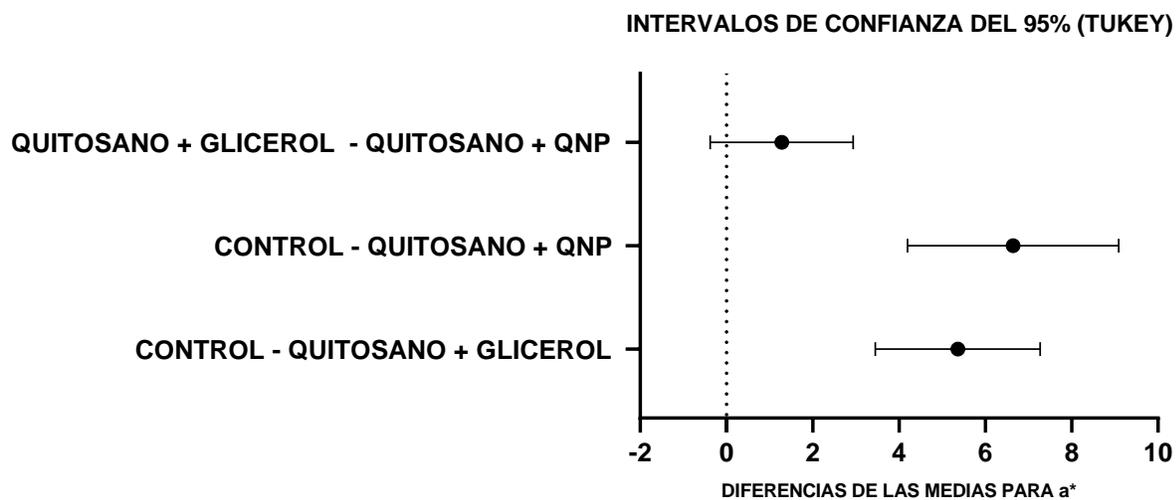
**Figura 73.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable índice de madurez.



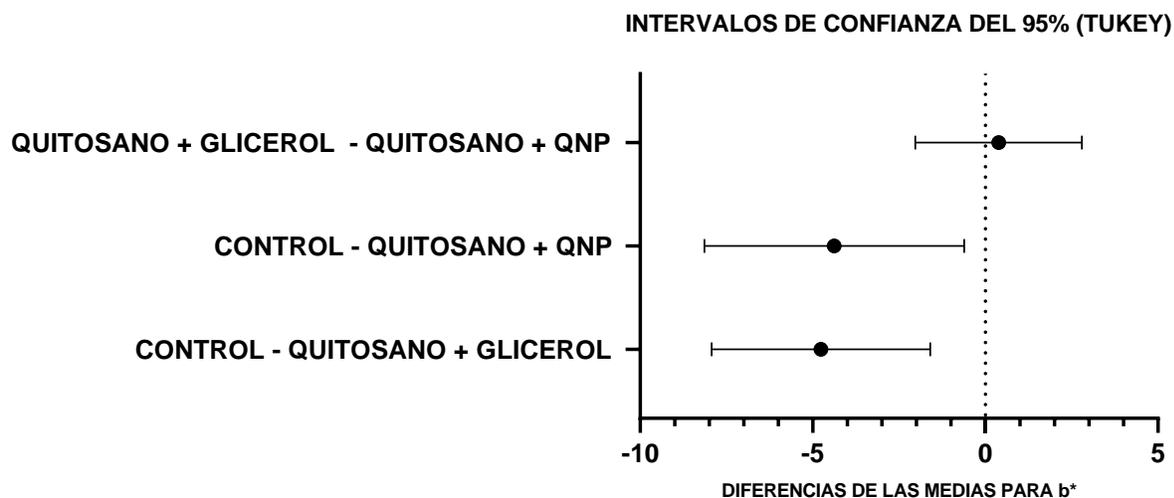
**Figura 74.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable ángulo de tono.



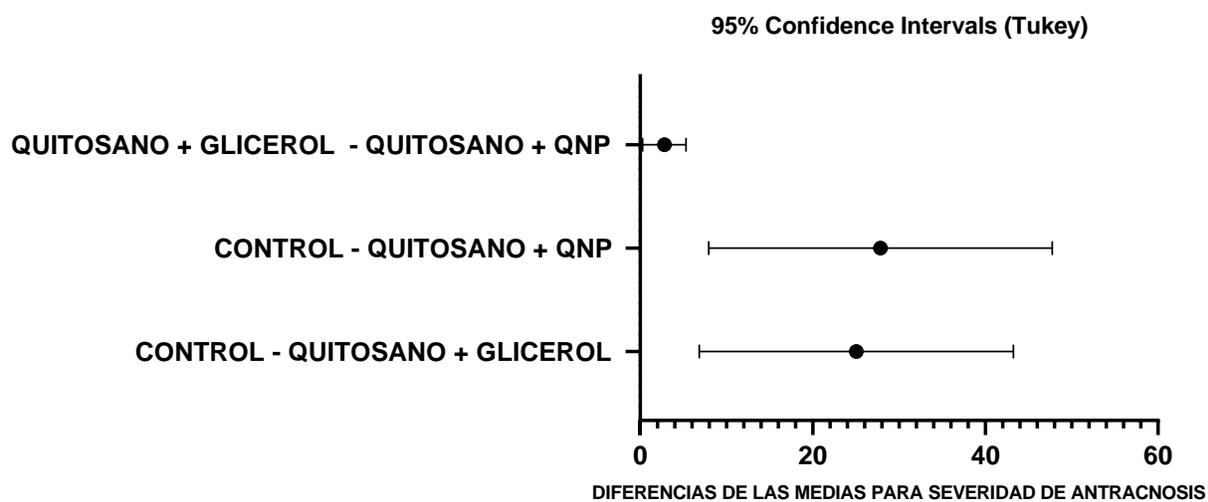
**Figura 75.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable luminosidad.



**Figura 76.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable coordenada cromática a\*.



**Figura 77.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable coordenada cromática  $b^*$ .



**Figura 78.** Prueba de Tukey para mangos sometidos a diferentes recubrimientos de la variable severidad de antracnosis.

## BIBLIOGRAFÍA

- ▶ Abdullah, A. H. , yusf, T. & Syamand A. Q. (2014) The antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum*) juice. International Journal of Scientific & Engineering Research, ; 5(10): 2229-5518.
- ▶ Adiletta, G., Di Matteo, M., & Petriccione, M. (2021). Multifunctional role of chitosan edible coatings on antioxidant systems in fruit crops: A review. International Journal of Molecular Sciences, 22(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms22052633>
- ▶ Aguilar, C. N., Aguilera-Carbo, A., Robledo, A., Ventura, J., Belmares, R., Martinez, D., Rodríguez-Herrera, R., & Contreras, J. (2008). Production of antioxidant nutraceuticals by solid-state cultures of pomegranate (*Punica granatum*) peel and creosote bush (*Larrea tridentata*) leaves. Food Technology and Biotechnology, 46(2), 218-222.
- ▶ Aider, M. (2010). Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. LWT - Food Science and Technology, 43(6), 837–842. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.021>
- ▶ Akagawa, M., Shigemitsu, T., & Suyama, K., (2003). Production of hydrogen peroxide by polyphenols and polyphenol-rich beverages under quasi-physiological conditions. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 67, 2632–2640
- ▶ Akhtar, S., Ismail, T., Fraternal, D. & Sestili, P. (2014). Pomegranate peel and peel extracts: chemistry and food features. En: Food Chemistry, 174, pp.417-425. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.035>
- ▶ Anibal, P. C., Peixoto, I. T. A., Höfling, J. F., & Foglio, M. A. (2013). Antifungal activity of the ethanolic extracts of *Punica granatum* L. and evaluation of the morphological and structural modifications of its compounds upon the cells of *Candida* spp. Brazilian Journal of Microbiology, 44(3), 839-848. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1590/S1517-83822013005000060>
- ▶ Appendini, P., & Hotchkiss, J.H., (2002). Review of antimicrobial food packaging. Innovative Food Science & Emerging Technologies 3, 113-126
- ▶ Arachchi, N., & Ismail, M., Gunawardena, S. (2018), Degree of deacetylation of chitin in Sri Lankan prawn shells (*Penaeus semisulcatus*) under different treatment methods., International Journal of Engineering and Science (IJES), Vol. 7, No. 10, pp.53-61.

- ▶ Arauz, L.F., & D., Mora. (1983). Evaluación preliminar de los problemas postcosecha en seis frutas tropicales de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*: 43-53.
- ▶ Arauz, L., Wang, A., & Durán, J. M. (1994). Causas de perdidas poscosecha de mango a nivel mayorista en Costa Rica . *Agronomía Costarricense*, 47-51.
- ▶ Arenas, R. (1993). *Micología Médica Ilustrada. Clínica, laboratorio y terapéutica*. Primera Edición. McGraw Hill. México D.F. 397 pp.
- ▶ Argüelles, M. et al. (2004). Caracterización de Quitina y Quitosano. Capítulo 4 en: *Quitina y Quitosano: Obtención, Caracterización y Aplicaciones*. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima, Perú. 55 páginas
- ▶ Arias, R. B. & L. Carrizales. (2007). Control químico de la antracnosis del mango (*Mangifera Indica L.*) en pre y postcosecha en el municipio Cedeño, estado Monagas, Venezuela. *Revista Bioagro* 19(1): 19-25.
- ▶ Arvanitoyannis, I.S., Nakayama, A., & Aiba, S., (1998). Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydrate Polymers* 37, 371–382.
- ▶ Arvanitoyannis, I.S., (1999). Totally and partially biodegradable polymer blends based on natural and synthetic macromolecules: preparation, physical properties, and potential as food packaging materials. *Journal of Macromolecular Science-Reviews in Macromolecular Chemistry and Physics C* 39, 205–271.
- ▶ Assadpour, E., & Mahdi Jafari, S. (2019). A systematic review on nanoencapsulation of food bioactive ingredients and nutraceuticals by various nanocarriers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(19), 3129–3151. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1484687>
- ▶ Atay, E., Fabra, M. J., Martínez-Sanz, M., Gomez-Mascaraque, L. G., Altan, A., & Lopez-Rubio, A. (2018). Development and characterization of chitosan/gelatin electrosprayed microparticles as food grade delivery vehicles for anthocyanin extracts. *Food Hydrocolloids*, 77, 699–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.011>
- ▶ Aviram M, & Dotnfeld L. (2001). Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis* 158(1):195–8.

- ▶ Aviram M. (2002). Pomegranate juice as a major source for polyphenolic flavonoids and its most potent antioxidant against LDL oxidation and atherosclerosis. *Free Radical Res* 36(1):71–2.
- ▶ Ayala, R. (2014). Extracto de cáscara de granada como antimicrobiano y potenciador antioxidante en germinados de alfalfa. Hermosillo: Centro de investigación en Alimentación y Desarrollo A.C.. Tesis de Maestría en Ciencias.
- ▶ Bal B. (2013). Postharvest Application of Chitosan and Low Temperature Storage Affect Respiration Rate and Quality of Plum Fruits. *Journal of Agricultural Science and Technology*;15:1219-30.
- ▶ Bajpai, S., Chand, N., & Chaurasia, V., (2010). Investigation of water vapor permeability and antimicrobial property of zinc oxide nanoparticles-loaded chitosan-based edible film. *Journal of Applied Polymer Science*, 115(2), pp.674-683
- ▶ Banker, G. S., Gore, A. Y., & Swabrick, J. (1966). Water vapor transmission properties of free polymer film. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 18, 457–466
- ▶ Bautista-Baños, S., A.N. Hernández-Lauzardo, M.G. Velázquez-del Valle, M. Hernández-López, E. Ait B., E. Bosquez-Molina, & C.L. Wilson. (2006). Chitosan as potential natural compounds to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25:108-118
- ▶ Bautista-Baños, Silvia, Ventura-Aguilar, Rosa Isela, Correa-Pacheco, Zormy, & Coronarangel, María Luisa. (2017). Quitosano: un polisacárido antimicrobiano versátil para frutas y hortalizas en poscosecha - una revisión. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 23(2), 103-122. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.030>
- ▶ Belbekhouche, S., Bras, J., Siqueira, G., Chappey, C., Lebrun, L., Khelifi, B., Marais, S., & Dufresne, A. (2011). Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films. *Carbohydrate Polymers*, 83(4), 1740-1748. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.036>
- ▶ Bosquez, E., & Colina, L. (2014). Procesamiento térmico de frutas y hortalizas. Trillas, 105-112. Ciudad de México, México.
- ▶ Bourbon A, Pinheiro A, Cerqueira M, Rocha C, Avides M, Quintas M & Vicente A (2011). Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering*. 106:111-118.

- ▶ Brezmes, J. (2001). Diseño de una matriz electrónica para la determinación no destructiva del grado de maduración de la fruta. Barcelona: Universidad Politécnica de Catalunya .
- ▶ Burt, Sara. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223–253
- ▶ Butler, B. L., Vergano, P. J., Testin, J. M., Bunn, J. M., & Wiles, J. L. (1996). Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of Food Science*, 61(5), 953–955
- ▶ Calín et al., (2015). La granada cultivada en España. Punicalagina, antioxidante del zumo de granada y el extracto de granada, en la alimentación funcional del futuro. España: Universidad Miguel Hernández .
- ▶ Calín, A., & Carbonell, A. (2022). La granada cultivada en España. Punicalagina, antioxidante del zumo de granada y el extracto de granada, en la alimentación funcional del futuro. España: Universidad Miguel Hernández, Departamento Tecnología Agroalimentaria.
- ▶ Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J.L., & Alonso, M.J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*. 63, 125–132. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)10974628\(19970103\)63:1<125::AIDAPP13>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)10974628(19970103)63:1<125::AIDAPP13>3.0.CO;2-4).
- ▶ Caner, C., Vergano, P.J. & Wiles, J.L. (1998). Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of Food Science*, 63, 1049–1053.
- ▶ Cárdenas, O.E. (2010). Caracterización de los productos de la desacetilación de la quitina., Tesis presentada en opción al título de Licenciatura en Ciencias Químicas, Universidad de El Salvador, El Salvador.
- ▶ Caro, F. (2019). Métodos de preparación de nanopartículas de quitosano: una revisión. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 13-25.
- ▶ Casariego, et al.. (2007). Chitosan coating surface properties ad affected by plasticizer. surfactant and polymer concentrations in relation to the surface properties of tomato and carrot. *Food Hydrocolloids*, 1452-1459.

- ▶ Castillo, O. (1980). Prueba de fungicidas y dos sistemas de almacenamiento para el combate de antracnosis y pudrición basal del fruto, en mango (*Mangifera indica*). Tesis Ing. Agr. San José, Universidad de Costa Rica. Facultad de Agronomía. 45p
- ▶ Castillo, J. E. (2005). Efecto de tratamientos por inmersión en agua caliente en la reducción de daños por frío en el contenido de poliaminas en mango variedad 'Manila'. Tesis de Ingeniería en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, México
- ▶ Castro Camacho, J. K., Cerquera Peña, N. E. & Gutierrez Guzmán, E. (2013). Determinación del color del exocarpio como indicador de desarrollo fisiológico y madurez en la guayaba pera (*Psidium guajava* cv. Guayaba pera), utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes. *Revista EIA*, 10 (19), 79-89
- ▶ Castromonte, et al.. (2020). Encapsulation of antioxidant extracts from agroindustrial by-products: a review. *Revista Chilena de Nutrición*, 836-847.
- ▶ Catalá, R., Gavara, R., (2001). Nuevos envases. De la protección pasiva a la defensa activa de los alimentos envasados. *Arbor* CLXVIII 661, 109-127.
- ▶ Cianciosi, P. (2014). *Polímeros*. Estado de México: Universidad Tecnológica Nacional.
- ▶ Cilek B, Luca A, Hasirci V, & Sahin S, Sumnu G. (2012). Microencapsulación de compuestos fenólicos extraídos del orujo de cereza ácida: efecto de la formulación, tiempo de ultrasonicación y relación núcleo-recubrimiento. *European Food Research and Technology*; 235: 587-596.
- ▶ Claudia, L., & Nader-Macías, M. E. (2016). Aceptabilidad, conocimiento, consumo y composición química-nutricional del mango (*Mangifera indica* L.) y productos elaborados. *Heladería Panadería Latinoamericana*, 239, 60–67. <http://www.publitech.com.ar/contenido/objetos/MANGO.pdf>
- ▶ Coca Málaga, E. R. (2021). Microencapsulación de extracto de cáscara de granada por secado por atomización y su efecto en la estabilidad microbiológica de jugo de fruta no pasteurizado [Tesis de grado]. Universidad de Chile.
- ▶ Coello Torres, A., Fernández Galván, D & V. Galán Saúco (1997). *Guía Descriptiva de Cultivares de Mango*. Departamento de Fruticultura Tropical. Serie Monografías Técnicas. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias. Cons. Agric. y Alim. Gobierno de Canarias.
- ▶ Coma, V., (2008). Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Journal Meat Science*. 78, 90-103.

- ▶ Comisión Europea (CE). (2004). REGLAMENTO (CE) N° 1935/2004 sobre materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32004R1935&from=SK>
- ▶ Comisión Europea (CE). (2009). REGLAMENTO (CE) N° 450/2009 sobre materiales y objetos activos e inteligentes destinados a entrar en contacto con alimentos. 11. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R0450&from=EN>
- ▶ Conde, Mónica. (2007). Las promesas de la quitina. El segundo polímero natural más abundante. *Revista Ambiente Plástico*. [www.ambienteplastico.com](http://www.ambienteplastico.com)
- ▶ Contreras, L. H. (2015). Quitosano como matriz biopolimérica para el desarrollo de envases activos antimicrobianos de alimentos. Universidad de Valencia. <https://core.ac.uk/download/pdf/71048069.pdf>
- ▶ Correa, C. (2012). Riqueza química del mango. *Revista Universidad EALIF*, 77-82.
- ▶ Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582.
- ▶ Curbelo Hernández, C., Palacio Dubois, Y., & Fenafo Hernández, S. (2021). Desacetilación de quitina obtenida por vía química de exoequelejos de camarón *Litopenaus vannamei*. *Centro Azúcar*, 48(3), 53–61. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2223-48612021000300053](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2223-48612021000300053)
- ▶ Cusihuamán, S. (2017). Derivatización del quitosano para la obtención del carboximetilquitosano (O-CMQ) y su caracterización vía espectroscopía infrarroja (FTIR) y resonancia magnética nuclear (RMN). Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín. Tesis de licenciatura.
- ▶ Dann, E.K., & B.J. Deverall. (2007). 2,6-Dichloroisonicotinic acid (INA) induces resistance in green beans to the rust pathogen, *Uromyces appendiculatus*, under field conditions. *Australian Journal of Plant Pathology* 25(3):199-204.
- ▶ Davidson, P.M., & Parish, M.E., (1989). Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology* 43, 148–155.
- ▶ Davidson, P.M. (2001). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. En: *Food Microbiology: and Fundamentals and frontiers*, 2 Ed. Doyle MP, LR Beuchat, TJ Montville (Eds.). ASM Press, Washington, D.C., USA. Chap. 29: 593-627

- ▶ De Alvarenga, E.S. (2011). Characterization and properties of chitosan. En Elnashar, M.(Ed.), *Biotechnology of biopolymers* (91-108). InTech.
- ▶ De la Cruz, R; Aguilera, A; Prado, A; Rodriguez, R.; Contreras, J.; & Aguilar, C. (2011). Biodegradación Microbiana de Elagitanos. *Bio Tecnología*.15(3):11-18
- ▶ Del-Valle, V.; Hernández-Muñoz, P.; Guarda, A.; & Galotto, M.(2005): "Development of a cactus-mucilage edible coating (*Opuntia ficus indica*) and its application to extend strawberry (*Fragaria ananassa*) shelf-life". *Food Chemistry*, [en línea] ISSN: 0308-8146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.07.002 91(4).
- ▶ De Moura, M. R., Aouada, F. A., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Krochta, J. M., & Mattoso, L. H. C. (2009). Improved barrier and mechanical properties of novel hydroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, 92(4), 448–453. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.015>
- ▶ Deng, Z., Jung, J., Simonsen, J., & Zhao, Y. (2017). Cellulose nanomaterials emulsion coatings for controlling physiological activity, modifying surface morphology, and enhancing storability of postharvest bananas (*Musa acuminata*). *Food Chemistry*, 232, 359–368. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.foodchem.2017.04.028>
- ▶ Díaz Isabel. (2006). Incidencia del orden de los tratamientos ácido y alcalino en la obtención de quitina deconchas de camarón. Trabajo especial de grado para obtener el título de Ingeniero Químico, LUZ.
- ▶ Díaz-Sobac R., Vazquez A., Beristain C., De la Cruz J., & García H.S. (2007). Emulsion coating to extend postharvest life of mango (*Mangifera indica* cv. Manila). *Journal of Food Processing and Preservation* 20:191-202.
- ▶ Divya, et al. (2018). Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables. *International Journal of Biological Macromolecules*, 572-577.
- ▶ Djoua, T., Charles, F., Freire Jr., M., Filgueiras, H., Ducamp-Collin, M., & Sallanon, H. (2010). Combined effects of postharvest heat treatment and chitosan coating on quality of fresh-cut mangoes (*Mangifera indica* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 45(4), 849-855.

- ▶ Dodd, J.C., Prusky, D., & Jeffries, P. (1997). Fruit diseases. In: Litz, R.E. (ed.) *The Mango: Botany, Production and Uses*. CABI., pp. 257-280
- ▶ Dos Santos, R. S.; Arge, L. W. P.; Costa, S. I.; Machado, N. D.; de Mello-Farias, P. C.; Rombaldi, C. V. & de Oliveira, A. C. (2015). Genetic regulation and the impact of omics in fruit ripening. *Journal Plant Omics*. 8(2):78-88.
- ▶ Duceppe N, & Tabrizian M. (2010) Advances in using chitosan-based nanoparticles for in vitro and in vivo drug and gene delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. Oct;7(10):1191-207. doi: 10.1517/17425247.2010.514604. PMID: 20836623.
- ▶ Duncan, T.V., (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*. 363, 1–24
- ▶ Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K., & Dutta, J., (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry* 114, 1173–1182.
- ▶ El Ghaouth, A., Ponnampalam, R., & Boulet, M.(1991a). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science*. 56, 1618-1621.
- ▶ El Ghaouth, A., Arul, J., & Ponnampalam, R. (1991b). Use of chitosan coating to reduce water loss and maintain quality of cucumbers and bell pepper fruits. *J. Food Process. Preserv*. 15, 359-368
- ▶ Espinoza, K. E. (2020). Películas de quitosano propiedades y aplicaciones. *AFINIDAD LXXVII*, 203-208.
- ▶ FAO. (1987). *Manual para el mejoramiento del mango poscosecha de frutas y hortalizas*. Recuperado de Depósito de documentos de la FAO: [http://www.fao.org/docrep/x5055SO2.htm#Fisiologia de frutas y hortalizas](http://www.fao.org/docrep/x5055SO2.htm#Fisiologia%20de%20frutas%20y%20hortalizas).
- ▶ FAO/OMS (2007). *Codex Alimentarius: Frutas y hortalizas frescas*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- ▶ FAO (2020). *Frutas y verduras – esenciales en tu dieta. Año Internacional de las Frutas y Verduras, 2021*. Documento de antecedentes. Roma. <https://doi.org/10.4060/cb2395es>
- ▶ FAO. (2023). *Principales Frutas Tropicales. Análisis del mercado. Resultados preliminares 2022*. Roma. [http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/ tropical-fruits/es/%0Avii](http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/tropical-fruits/es/%0Avii)
- ▶ Fennema O. R. (2010). *Química de los alimentos*. Acribia. Zaragoza, España. p. 1258

- ▶ Fernández & Álvarez, M., (2000). Revisión: envasado activo de los alimentos / Review: active food packaging. *Food Science and Technology International* 6, 97-108.
- ▶ Fernández, D., Bautista, S., Fernández, D., Ocampo, A., García, A., & Falcón, D. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas Eatable films and coverings: a favorable alternative in the postharvest conservation of fruits and vegetables. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(3), 52–57.
- ▶ Feyzioglu, G. C., & Tornuk, F. (2016). Development of chitosan nanoparticles loaded with summer savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil for antimicrobial and antioxidant delivery applications. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.037>
- ▶ Figueroa J; Salcedo J; Agua Y; Olivero R; & Narváez G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y perspectiva, al uso de propóleo en su formulación. *Revista Colombiana* 3 (2). Fecha de consulta: 31 de Enero del 2012. Disponible en <http://www.recia.edu.co/documentos-recia/vol3num2/revisiones-/REC-03-02-REV-3 PROPOLIS.pdf>
- ▶ Fischer, U.A., Carle, R. & Kammerer, D.R., (2010). Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn. En: *Food Chemistry*, 127(2), pp.807-821. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.156>
- ▶ Fox, B., & Cameron, A. (2006). *Ciencia de los alimentos, nutrición y salud*, Limusa. Ciudad de México, México
- ▶ Gacén, J., & Gacén, I. (1996), ‘Quitina y quitosano. Nuevos materiales textiles’, *Boletín Intexter (U.P.C)*. 110:67-71
- ▶ Galvis, J., & Herrera, A. (1996). *El mango *Mangifera indica*. Manejo Postcosecha*. Santafé de Bogotá. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- ▶ Gamboa, J., & Mora, J. (2010). *Guía para el cultivo del mango (*Mangifera indica* L.) en Costa Rica*. Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria.
- ▶ García, E. A. (2014). Effect of edible chitosan/zeolite coating on tomatoes quality during refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 238-246.

- ▶ García, J., C. A., & Rivera, J. (2017). Descripción botánica, taxonomía y clasificación. Descripción Botánica, Taxonomía y Clasificación, 55. <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/37158>
- ▶ Garnica, O. (2001) Permeabilidad al vapor de agua y propiedades mecánicas de películas modificadas de quitosán. Tesis. FES-C.
- ▶ Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(10), 4581–4589. <https://doi.org/10.1021/jf000404a>
- ▶ Giovannoni, J. J. (2004). Genetic regulation of fruit development and ripening. *The plant cell*. 16(1):S170-S180.
- ▶ Grange, M., & Ahmed, S., (1988). *Handbook of Plants with Pest Control Properties*. John Wiley and Sons, New York
- ▶ Grumezescu, A. M., & Holban, A. M. (2018). *Food safety and preservation : modern biological approaches to improving consumer health (First edition)*. Academic Press, an imprint of Elsevier.
- ▶ Gutiérrez Barrutia, B., Curutchet, A., Arcia, P., & Cozzano, S., (2019). New functional ingredient from orange juice byproduct through a green extraction method. En: *Journal of Food Processing and Preservation*. 43(5), pp.e13934. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13934>
- ▶ Hagenmaier, R.D. & R.A. Baker. (1993). Citrus fruit with single or layered coatings compared with packinghouse-coated fruit. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*. 106:238–240.
- ▶ Haque, T., Chen, H., Ouyang, W., Martoni, C., Lawuyi, B., Urbanska, A.M., & Prakash, S., (2005). Superior cell delivery features of poly(ethylene glycol) incorporated alginate, chitosan, and poly-L-lysine microcapsules. *Molecular Pharmaceutics* 2, 29–36.
- ▶ Hatton, T.T., Jr. & Spalding, D.H., (1990). Controlled atmosphere storage of some tropical fruits. In: M. Calderon and R. Barkai-Golan (Editors), *Food Preservation by Modified Atmospheres*. CRC Press Inc., Boca Raton, Fla., pp. 301-313.
- ▶ Hermida, E. (2011). *Polímeros*. Capítulo 9. Buenos Aires: Ministerio de Educación. Instituto Nacional de Educación Tecnológica.

- ▶ Hernández, C., E Águila, A., O Flores, A., E L Viveros, N., & E Ramos, C. (2009). Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. In *Superficies y Vacío* (Vol. 22, Issue 3). [http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22\\_3/SV2235709.pdf](http://smcsyv.fis.cinvestav.mx/supyvac/22_3/SV2235709.pdf)
- ▶ Hernández, F. (2015). Elaboración y evaluación de un dulce enriquecido con fibra dietética presente en el bagazo de mango (*Mangífera indica* L.). Santiago de Querétaro: Instituto Politécnico Nacional. Tesis de Posgrado.
- ▶ Hidalgo, J. L. (2015). Síntesis de esferas de quitosán y quitosán-TiO<sub>2</sub> impresas molecularmente para la absorción de Hg(II) y la degradación fotocatalítica del rojo de metilo como una alternativa en el tratamiento de aguas residuales [Tesis de grado]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- ▶ Hidalgo, C., Suárez, Y., & Fernández, M. (2008). Validación de una técnica potenciométrica para determinar el grado de desacetilación de la quitosana Validation of potentiometric method to determine the degree of deacetylation of chitosan. *Ars Pharm*, 49(3), 245–257. [http://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/27636/Ara Pharm 2008%3B49%283%29245257.pdf?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttp://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/viewFile/4960/4768](http://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/27636/Ara_Pharm_2008%3B49%283%29245257.pdf?sequence=1&isAllowed=y%0Ahttp://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/viewFile/4960/4768)
- ▶ Higuera, L. (2015). Quitosano como matriz biopolimérica para el desarrollo de envases activos antimicrobianos de alimentos. Valencia: Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. Tesis Doctoral.
- ▶ Hirano, S. (1999). Chitin and chitosan as novel biotechnological materials. *Polymer International*, 48, 732–734.
- ▶ Huang, Q., Yu, H., & Ru, Q., 2010. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal Food Science*. 75 (1), R50–R57.
- ▶ Hu Bing, Chenliang Pan, Yi Sun, Zhiyun Hou, Hong Ye, Bing Hu, & Xiaoxiong Zeng. (2008). Optimization of fabrication parameters to produce chitosan-tripolyphosphate nanoparticles for delivery of tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7451–7458. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1021/jf801111c>
- ▶ Hyde KD, Cai L, McKenzie EHC, Yang YL, Zhang JZ & Prihastuti H. (2009). *Colletotrichum*: a catalogue of confusión. *Fungal Diversity* 39:1-17. Disponible en línea: <http://www.fungaldiversity.org/fdp/sfdp/FD39-1-E.pdf>

- ▶ Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y. & Shimamura, T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochemical and Biophysical Acta*. 1147: 132–6.
- ▶ Irastorza, A., Zarandona, I., Andonegi, M., Guerrero, P., & De La Caba, K. (2021). The versatility of collagen and chitosan: from food to biomedical applications. *Food Hydrocolloids*, 116, 106633. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106633>
- ▶ Jang, K.-I., & Lee, H. G. (2008). Stability of chitosan nanoparticles for L-ascorbic acid during heat treatment in aqueous solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 1936e1941. <http://dx.doi.org/10.1021/jf073385e>.
- ▶ Jayaprakasha, G.K., Negi, P.S., Anandharamakrishnan, C., & Sakariah, K.K., (2001). Chemical composition of turmeric oil—a byproduct from turmeric oleoresin industry and its inhibitory activity against different fungi. *Zeitschrift für Naturforschung* 56C, 40–44.
- ▶ Jayaprakasha, G.K., Negi, P.S., & Jena, B.S. (2006). Antimicrobial Activities of Pomegranate. En: Seeram, N.P., Schulman, R.N., Heber, D. (eds). *Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine*, CRC Press, Boca Ratón, FL, USA, pp.167-183
- ▶ Jitareerat, P.; Paumchai, S.; Kanlayanarat, S.; & Sangchote, S. (2007). Effect of chitosan on ripening, enzymatic activity, and disease development in mango (*Mangifera indica*) fruit. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 35: 211-218.
- ▶ Johnson, G.I., & Hofman, P.J. (2009). Postharvest technology and quarantine treatments. In: Litz, R.E. (ed.) *The Mango: Botany, Production and Uses*. 2nd edition. CABI. (In press).
- ▶ Jurenka, J. (2008). Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum* L.): A review. *Alternative Medicine Review.*, 128-144.
- ▶ Kader AA & Barrett DM (1996). Clasificación, composición de frutos y poscosecha.mantenimiento de la calidad. En L.P.. Somogyi, HS Ramaswamy y Y..h. Hui (eds.).*Procesamiento de frutas: Ciencia y tecnología* (Vol. 1 Biología, Principios y Solicitud, págs. 1-24), Lancaster: TPublicaciones económicas de Pensilvania
- ▶ Karlsson, A. O., Ipsen, R., Schrader, K., & Ardö, Y. (2005). Relationship Between Physical Properties of Casein Micelles and Rheology of Skim Milk Concentrate. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3784–3797
- ▶ Karunanayake, L. C., Adikaram, N., Kumarihamy, B. M. M., Bandara, B. M. R., & Abayasekara, C. (2011). Role of antifungal gallotannins, resorcinols and chitinases in the constitutive defence of immature mango (*Mangifera indica* L.) against *Colletotrichum*

gloeosporioides. *Journal of Phytopathology*. 159(10): 657–664.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01818.x>

- ▶ Kasaai, M. (2006). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Science Direct*, 477-488.
- ▶ Kasaai, M.R. (2007). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscosimetric constants data. *Carbohydrate Polymers*, 68, 477-488.
- ▶ Kays, S. (1999). Preharvest factors affecting appearance. *Postharvest Biology and Technology*. 15: 233-247
- ▶ Ke, D., A.A.Kader. (1990). Tolerance of "Valencia" oranges to controlled atmospheres as determined by physiological responses and quality attributes". *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 115:779-783.
- ▶ Khaliq, G., Nisa, M. un, Ramzan, M., & Koondhar, N. (2017). Textural Properties and Enzyme Activity of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit Coated with Chitosan during Storage. *Journal of Agricultural Studies*, 5(2), 32. <https://doi.org/10.5296/jas.v5i2.10946>
- ▶ Khan, T. A., Peh, K. K., & Ch'ng, H. S. (2002). Reporting degree of deacetylation values of chitosan: the influence of analytical methods. *Journal of pharmacypharmaceutical sciences : a publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques*. 5(3).
- ▶ Kim, S.K., & Rajapakse, N. (2005). Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers*, 62(4), 357–368. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.carbpol.2005.08.012>
- ▶ Kittur, F., & Saroja N. (2001). Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf- life extension of fresh banana and mango. *European Food Research and Technology*. No. 213. 306 – 311.
- ▶ Knee, M., Oria Almudí, R., & Jaime Sisó, M. (2008). Textura de la fruta, metabolismo de la pared celular y percepciones del consumidor. *Bases Biológicas de La Calidad de La Fruta*, 2008, ISBN 978-84-200-1096-0, Págs. 47-90, 47–90. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2720760>

- ▶ Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012>
- ▶ Kurita, K. (2006). Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustacean. *Marine Biotechnology mini-review*. 8:203-226.
- ▶ Labeaga, A. (2018). Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones. Ciudad de México: Facultad de Ciencias. Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química.
- ▶ Lagarón, J.M., Cabedo, L., Cava, D., Feijoo, J.L., Gavara, R., & Gimenez, E., (2005). Improving packaged food quality and safety. Part 2: Nanocomposites. *Food Additives and Contaminants* 22 (10), 994–998.
- ▶ Larios, I., Campos Serrano, M. de J. K., Padilla Sahagún, M. del C., & Villanueva Rodríguez, S. J. (2019). Introducción a La Tecnología Del Mango. *Introducción a La Tecnología Del Mango*, 9–10.
- ▶ Lee, B. K.; Yun, Y. & Park, K.(2016) PLA micro- and nano-particles. *Advanced Drug Delivery Reviews.*, 107:176-91.
- ▶ Leopold, A., & Kriedemann, P. (1975). *Plant growth and development*. Nueva York: McGraw-Hill.
- ▶ Liu, B., Xin, Q., Zhang, M., Chen, J., Lu, Q., Zhou, X., Li, X., Zhang, W., Feng, W., Pei, H., & Sun, J. (2023). Research Progress on Mango Post-Harvest Ripening Physiology and the Regulatory Technologies. *FOODS*, 12(1), 173. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.3390/foods12010173>
- ▶ López, A. E. (2003). *Manual para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas. Del campo al mercado*. Roma: FAO.
- ▶ López, O., & López, A. (2010). Granada (*Punica granatum L*): una fuente de antioxidantes de interés actual. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos* 4, 64-73.
- ▶ Luna G., Arévalo M.L., Anaya S., Monter A., Acosta M., & Leyva G. (2006). Calidad de mango Ataulfo sometido a tratamiento hidrotérmico. *Revista Fitotecnia de México* 29:123-128
- ▶ Mahdy M. Samar, M.H. El-Kalyoubi, M.M. Khalaf, M.M., & Abd El-Razik. (2013). Physicochemical, functional, antioxidant and antibacterial properties of chitosan extracted

- from shrimp wastes by microwave technique. *Annals of Agricultural Science*, 58(1): 33–41.
- ▶ Maleki, G., & Milani, J. M. (2020). Functional properties of chitin and chitosan-based polymer materials. En Elsevier eBooks (pp. 177-198). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817966-6.00006-6>
  - ▶ Mármol, Z., Páez, G., Rincón, M., Araujo, K., & Aiello, C. (2011). Quitina y Quitosano polímeros amigables . Una revisión de sus aplicaciones Chitin and Chitosan friendly polymer . A review of their applications. *Revista Tcnocientifica URU*, August 2016, 53–58.
  - ▶ Marroquín, J. E. (2020). Handbook T-IX CIERMMI Mujeres en la Ciencia Biología. México: ECORFAN.
  - ▶ Martelli, R. M., Barros, T. T., De Moura, R. M., Maltoso, L. H., & Assis, O. B. (2013). Effect of chitosan nanoparticles and pectin content on mechanical properties and water vapor permeability of banana puree films. *Journal of Food Science*, 78(1), N98–N103.
  - ▶ Martínez, E. P., Hío, J. C., Osorio, L. a., Torres, M. F., & Erika, P. (2009). Identification of *Colletotrichum* species causing anthracnose on Tahiti lime , tree tomato and mango Identificación de las especies de *Colletotrichum* causantes de antracnosis en lima Tahití , tomate de árbol y mango. *Agronomía Colombiana*, 27(2), 211–218.
  - ▶ Martínez-González, Mónica Elizabeth, Balois-Morales, Rosendo, Alia-Tejacal, Irán, Cortes-Cruz, Moises Alberto, Palomino-Hermosillo, Yolotzin Apatzingan, & López-Gúzman, Graciela Guadalupe. (2017). Poscosecha de frutos: maduración y cambios bioquímicos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(spe19), 4075-4087. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.674>
  - ▶ Mattoo A., Murata B., Pantastico B., Chanchin K., Ogata K., & Phan T. (1975). Chemical changes during ripening and senescence. In: *Post-harvest Physiology Handling and Utilization of Tropical and Subtropical Fruits and Vegetables*. Avi Publishing Company, Inc., Westport, USA, pp.103-127.
  - ▶ Maura M.R., Aouada F.A., Avena-Bustillos R.J., McHugh T.H., Krochta J.M., & Mattoso L.H.C (2009) Propiedades mecánicas y de barrera mejoradas de nuevas películas comestibles de hidroxipropilmetilcelulosa con nanopartículas de quitosano/tripolifosfato. *Journal of Food Engineering*. 92 (4): 448–453

- ▶ McGuire, R.G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27, 1254–1255
- ▶ Medina, P. (2019). Informe por servicios profesionales "Manejo cultural del cultivo de granado (*Punica granatum*) Var. Wonderful para la exportación realizado en agrícola Pampa Baja S.A.C.". Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- ▶ Mena, P; García-Viguera C; Navarro, J; Moreno D; Bartual , J; & Saura, D. (2011). Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91 (10): 1893-1906
- ▶ Mendoza-Corvis, F.; Arteaga-Márquez, M.; & Pérez-Sierra, O. (2017). Degradación de la vitamina C en un producto de mango (*Mangifera indica* L.) y lactosuero. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*. 18(1):125-137. [https://doi.org/10.21930/rcta.vol18\\_num1\\_art:563](https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num1_art:563)
- ▶ Meng, X.H., B.Q. Li, J. Liu, & S.P. Tian (2008). Physiological responses and quality and attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*. 106:501-508.
- ▶ Merzendorfer, H. (2011). The cellular basis of chitin synthesis in fungi and insects: Common principles and differences. *European Journal of Cell Biology*, 90(9), 759-769. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2011.04.014>
- ▶ Milani, J. & Maleki, G. (2012). Hidrocoloides en la Industria Alimentaria. En tecnología. doi: 10.5772/32358
- ▶ Miles, T., Schilder, A., & Simmonds, C. J. H. (2008). Anthracnose Fruit Rot (Ripe Rot). July, 1–4.
- ▶ Miranda, S., & Lara, A. (2011, 5 diciembre). Patente Mexicana No. 293022 “Proceso para la extracción de quitina a partir de exoesqueletos de crustáceos y su conversión a quitosan”. Patrimonio Intelectual UNAM. Recuperado 1 de agosto de 2022, de <https://pi.unam.mx/home/detalle?tipo=patentes&id=1758>
- ▶ Mitra S. K, & Baldwin E.A. (1997) Mango. In: *Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Subtropical Fruits*. S K Mitra (ed). CAB International. New York, USA. pp:85-122.

- ▶ MKT, C. (22 de Abril de 2019). EMEX, A.C. Obtenido de México, el primer exportador de mango fresco a nivel internacional: <https://www.mangoemex.com/temporadas-tipos-de-mango-mexico/>
- ▶ Mohamed, M., & Osama, A. (2017). Mixing Xanthan Gum and Chitosan Nano Particles to Form New Coating for Maintaining Storage Life and Quality of Elmamoura Guava Fruits. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 1582-1593.
- ▶ Mohammadinejad, R., Kumar, A., Ranjbar-Mohammadi, M., Ashrafizadeh, M., Han, S. S., Khang, G., & Roveimiab, Z. (2020). Recent Advances in Natural Gum-Based Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine: A Review. *Polymers*, 12(1), 176. <https://doi.org/10.3390/polym12010176>
- ▶ Momin, J.K., Jayakumar, C., & Prajapati, J.B. (2013). Potential of nanotechnology in functional foods. *Emirates. Journal of the Science of Food and Agriculture.*, 25(1): 1019.
- ▶ Mulkay-Vitón, T. (2017). Effect of chitosan salts in post-harvest quality of mango “Tommy Atkins”. *Cultivos Tropicales*, 38(3), 135–141.
- ▶ Murray, P. (1990). *Methods in enzymology. Vol. 182. Guide to Protein Purification*. California: Academic Press.
- ▶ Muzzarelli, R. A. A. (1977). Enzymatic synthesis of chitin and chitosan. En: *Chitin*. Pergamon Press, Oxford University pp. 164-167.
- ▶ Nayik, G. A., & Muzaffar, K. (2014). Developments in Packaging of Fresh Fruits- Shelf Life Perspective: A review. *ResearchGate*. [https://www.researchgate.net/publication/269686308\\_Developments\\_in\\_Packaging\\_of\\_Fresh\\_Fruits-\\_Shelf\\_Life\\_Perspective\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/269686308_Developments_in_Packaging_of_Fresh_Fruits-_Shelf_Life_Perspective_A_Review)
- ▶ Nayik, G.A.; Muzaffar, K.; & Gull, A. (2015). Robotics and food technology: A mini review. *Journal of Nutrition & Food Sciences.*, 5, 1–11. [Google Scholar]
- ▶ Naz, S. (2007). Antibacterial Activity Directed Isolation Compounds from *Punica granatum*. *Food Microbiology and Safety*, M341-M345.
- ▶ Neethirajan, S & Jayas, D. (2010). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food Bioprocess Technology.*, 4, 39-47.
- ▶ Negi, P. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 7-17.

- ▶ Nychas, G.J.E. (1995). Natural Antimicrobials from plants. En: New Methods of food preservation. G.W. Gould (Ed.). Blakie Academia y Professional. Glasgow. p. 1-21. Citado en: Welti-Chanes, J., VergaraBalderas, F., y López-Malo, A. 1997. Minimally Processed foods state of the Art and Future. En: P. Fito., E. OrtegaRodriguez y G. Barbosa-Canovas (Eds.). Food Engineering 2000. E.U.A. Chapman y Hall. pp. 181-212
- ▶ Nychas, G.J.E., Skandamis, P.N., & Tassou, C.C., (2003). Antimicrobials from herbs and spices. In: Roller, S. (Ed.), Natural Antimicrobials for the Minimal Processing of Foods. CRC Press, Washington DC, pp. 177–199.
- ▶ Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A., & Packer, L., (2002). Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyaniding, and pelargonidin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (1), 166–171
- ▶ Norma Mexicana NMX-FF-058-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-Fruta fresca-Mango (*Mangifera indica* L.)-Especificaciones. (2006). Diario Oficial de la Federación. Recuperado 13 de abril de 2013, de <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2006/nmx-ff-058-scfi-2006.pdf>
- ▶ Norma Oficial Mexicana NOM-129-SCFI-1998, Información comercial-Etiquetado de productos agrí-colas-Mango. (1998, 31 agosto). Diario Oficial de la Federación. Recuperado 1 de septiembre de 2023, de [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4891520&fecha=31/08/1998#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4891520&fecha=31/08/1998#gsc.tab=0)
- ▶ Norma Oficial Mexicana NOM-188-SCFI-2012, Mango Ataulfo del Soconusco, Chiapas (*Mangifera caesia* Jack ex Wall)-Especificaciones y métodos de prueba. (2012, 29 noviembre). Diario Oficial de la Federación. Recuperado 1 de septiembre de 2023, de [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5280541&fecha=29/11/2012#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5280541&fecha=29/11/2012#gsc.tab=0)
- ▶ Ojeda, Gonzalo Adrián, Arias Gorman, Adriana María, & Sgroppo, Sonia Cecilia. (2019). Nanotecnología y su aplicación en alimentos. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 12(23). Epub 12 de junio de 2020.<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2019.23.67747>
- ▶ Olivas, G. I., & Barbosa-Canovas, G. V. (2005). Edible coatings for fresh-cut fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 657–670.

- ▶ Olivas, G.I., & Barbosa-Canovas, G.V., (2008). Alginate–calcium films: water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. *LWT-Food Science and Technology* 41, 359–366.
- ▶ Osuna G., JA, ML Guzmán R., B. Tovar G., M. Mata M.O. & A. Vidal M. (2002). Calidad del mango "Ataulfo" producido en Nayarit, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:367-374.
- ▶ Otake, S; Makimure M; Kuroki, T; Nishihara, & Hirasawa M. (1991). Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea. *Caries Res (Switzerland)*; 25(6):438-443
- ▶ Ouattara, B., Simard, R.E., Piette, G., Begin, A., & Holley, R.A., (2000). Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. *International Journal of Food Microbiology* 62, 139-148.
- ▶ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (1987). Manual para el mejoramiento del manejo postcosecha de frutas y hortalizas. Santiago, Chile: FAO.
- ▶ Ospina Meneses, SM, & Cartagena Valenzuela, JR (2008). La atmósfera modificada: una alternativa para la conservación de los alimentos. *Revista Lasallista de Investigación* , 5 (2), 112-123
- ▶ Pacheco, N. (2010). Extracción biotecnológica de quitina para la producción de quitosanos: caracterización y aplicación. Iztapalapa-México: Universidad Autónoma Metropolitana, 159.
- ▶ Páez, A. (2003). Tecnologías sostenibles para el manejo de la Antracnosis en papaya y mango. Valledupar: Corpoica.
- ▶ Park, S. Y., Marsh, K. S., & Rhim, J. W. (2002). Characteristics of different molecular weight chitosan films affected by the type of organic solvents. *Journal of Food Science*, 67(1), 194–197.
- ▶ Pilon, L., Spricigo, P. C., Miranda, M., M. R., Assis, O. B. G., Mattoso, L. H. C., & Ferreira, M. D. (2015). Chitosan nanoparticle coatings reduce microbial growth on fresh-cut apples while not affecting quality attributes. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(2), 440–448. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12616>

- ▶ Pinto Reis C, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, & Veiga F. (2006). Nanoencapsulation i. methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*;2:8–21.
- ▶ Plainsirichaia M. Leelaphatthanapanicha S, & Wongsachaia N. (2014). Effect of Chitosan on the Quality of Rose Apples (*Syzygium agueum* Alston) cv. Tabtim Chan Stored at an Ambient Temperature. *APCBEE Procedia*;8:317-22. doi: 10.1016/j.apcbee.2014.03.047
- ▶ Ploetz, R. (2008). Antracnosis en mango: Manejo de la enfermedad más importante pre y postcosecha. Estados Unidos de América: Universidad de la Florida.
- ▶ Procuraduría Federal del Consumidor (PROFECO). (15 de Abril de 2021). Procuraduría Federal del Consumidor. Obtenido de Mango, qué rico mango, mango qué bueno es: <https://www.gob.mx/profeco/es/articulos/mango-que-rico-mango-mango-que-bueno-es>
- ▶ Quintanar-Guerrero, D., Allemann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (1998). Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24(12), 1113–1128.
- ▶ Quintero, et al. (2013). Caracterización fisicoquímica del mango común (*Mangifera indica* L.) durante su proceso de maduración. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10-18.
- ▶ Quirós, et al. (2013). Presencia de *Colletotrichum acutatum* y *Colletotrichum gloeosporioides* en helecho hoja de cuero, limón criollo, papaya, carambola y mango en Costa Rica y Florida (Estados Unidos). *Agronomía Costarricense*, 23-38.
- ▶ Qu, W.J., , Z.L., Zhang, R.H., Ma, H.L., Chen, X.G., Zhu, B.N., Wang, Z.B., & Atungulu, G.G., (2009). Integrated extraction and anaerobic digestion process for recovery of nutraceuticals and biogas from pomegranate marc. *Transactions of the ASABE* 52 (6), 1997–2006.
- ▶ Ramírez Barragán, C. A., Delgado Fornué, E., & Ortega, J. A. A. (2016). Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman. *Journal CIM*, 4(October).
- ▶ Ramírez, M. (2010). La quitina y sus derivados, biopolímeros con potencialidades de aplicación agrícola. *Biotecnología aplicada*, 262-269.

- ▶ Ramón Canul, L. G. (2017). Caracterización de recubrimientos a base de quitosano-ácido eláxico y su aplicación en etapa postcosecha en mango manila [Tesis de doctorado]. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas.
- ▶ Ramones, E., Páez, G.; Mármol, Z.; Ferrer, J.; & M. Rincón. (1997). Producción de Quitinasa Extracelular de *Serratia marcescens* QM B1466 utilizando quitina del desecho de conchas de camarones. *Revista Técnica de la Facultad de Ingeniería. Univ. Zulia*, Vol.20, N°3, 215-222.
- ▶ Rattanawongwiboon, T., Hemvichian, K., Lertsarawut, P., & Suwanmala, P. (2020). Chitosan-poly(ethylene glycol) diacrylate beads prepared by radiation-induced crosslinking and their promising applications derived from encapsulation of essential oils. *Radiation Physics and Chemistry*, 170, 108656. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108656>
- ▶ Rebolledo Martínez, A., Del Angel Pérez, A. L., & Megchun García, J. V. (2008). Control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de mango cv. Manila con productos orgánicos Resumen. In Reunión Científica-Tecnológica Forestal y Agropecuaria Veracruz y I del Trópico Mexicano 2008.
- ▶ Rinaudo, M. (2006) Chitin and Chitosan: Properties and Applications. *Progress in Polymer Science*, 31, 603-632. <http://dx.doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- ▶ Ríos, V. (2018). Antracnosis y otros impedimentos que afectan el mango mexicano. *Hortalizas*.
- ▶ Roberts, G.A.F., (1992). *Chitin Chemistry*. MacMillan Press, London, p. 350
- ▶ Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G., & Martín-Belloso, O. (2009). Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut 'Kent' mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology* 50, 384–390.
- ▶ Rodríguez-Félix A; Rivera-Domínguez M; & González-Aguilar G. A. (2005). Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. González-Aguilar G. A. (ed.) editorial Guadalajara, México. pp 447-448
- ▶ Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichum* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de*

Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology, 35(3), 549–570.  
<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>

- ▶ Romero, A., & Pereira, J. (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. Revista INGENIERÍA UC, 118-135.
- ▶ Rondón O., N. Sanabría de A., & A. Rondón. (2006). Respuesta In vitro a la acción de fungicidas para el control de antracnosis, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, en frutos de mango. *Agronomía Tropical*. 56(2): 219-235.
- ▶ Rooney, M.L., (1995). Overview of active food packaging, in: Rooney, M.L. (Ed.), *Active food packaging*. Blackie Academic and Professional, Londres, pp. 1-260.
- ▶ Rosen, J. & Kader, A. (1989). Postharvest Physiology and Quality Maintenance of Sliced Pear and Strawberry Fruits. *Journal of Food Science*, 656-659.
- ▶ Sabaghi, S., Alipoormazandarani, N., Gao, W., & Fatehi, P. (2021). Dual lignin-derived polymeric systems for hazardous ion removals. *Journal of Hazardous Materials*, 417, 125970. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125970>
- ▶ Sánchez, M. R., Gorinstein, S., Belloso, O. M., García, H. A., Aguilar, G. G., & Valenzuela, R. C. (2007). Frutos tropicales mínimamente procesados: Potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia: Revista de ciencia y tecnología de América*, 32(4), 227-232.
- ▶ Santos-Villalobos, S. (2011). Puntos críticos en el manejo integral de mango: floración, antracnosis y residuos industriales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 221–234. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342011000200004&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-09342011000200004&script=sci_arttext&tlng=pt)
- ▶ Scalbert A.(1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30:3875-3883.
- ▶ Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. (29 de Agosto de 2020). Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural. Obtenido de El rey de las frutas tropicales: Mango: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-rey-de-las-frutas-tropicales-mango#:~:text=A%20nivel%20de%20producci%C3%B3n%20M%C3%A9xico,3.9%20%25%20de%20la%20producci%C3%B3n%20mundial>.

- ▶ Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (03 de Julio de 2021). Gobierno de México. Obtenido de: El mango, producto estrella en México: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-mango-producto-estrella-en-mexico>
- ▶ Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (20 de Enero de 2023). Gobierno de México. Obtenido de: Se posiciona México entre los principales productores y exportadores de mango en el mundo. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/se-posiciona-mexico-entre-los-principales-productores-y-exportadores-de-mango-en-el-mundo>
- ▶ Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).; Secretaría de Economía (SE). (29 de Marzo de 2005). BANCOMEXT. Obtenido de PC-005-2005 Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México Calidad Suprema en México .
- ▶ Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. (1981). *Norma Mexicana NMX-F-104-1981-Alimentos para humanos-Frutas y Derivados Rebanadas de Mango en Almibar*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado 13 de abril de 2023, de <http://economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/1981/nmx-f-104-1981.pdf>
- ▶ Seeram, N.; Lee, R.; Hardy, M.; & Heber, D. (2005). Rapid large-scale purification of ellagitannins from pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separation and Purification Technology*. 41:49-55
- ▶ Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (11 de Septiembre de 2023). *Avance de Siembras y Cosechas. Resumen por estado*. Obtenido de [http://infosiap.siap.gob.mx/Agricola\\_siap/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx/Agricola_siap/ResumenProducto.do)
- ▶ Seymour, G. B.; Ostergaard, L.; Chapman, N. H.; Knapp, S. & Martin, C. (2013). Fruit development and ripening. *Annual Review of Plant Biology*. 64: 219-241.
- ▶ Shahidi, F., & Abuzaytoun, R., (2005). Chitin, chitosan and co-products: chemistry, production, applications and health effects. *Advances in food and nutrition research* 49, 93-135.
- ▶ Shanmuga P P, Vasantha V S, Jeyasundari J, & Brightson Y A J. (2015). Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using ficus microcarpaleaf extract and evaluation of their antibacterial activities. *European Chemical Bulletin*;4(3):116-20.

- ▶ Shukla, K., (2012). Nanotechnology and emerging trends in dairy foods, the inside story to food additives and ingredients. *International Journal of Science and Nanotechnology*. 1 (1), 41–58.
- ▶ Singh RP, Murthy KNC, & Jayaprakasha GK. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(1):81–6.
- ▶ Sinha Ray, S., & Bousmina, M., (2005). Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: in greening the 21st century materials world. *Progress in Material Science* 50 (8), 962–1079
- ▶ Soltanzadeh, M., Peighambaroust, S. H., Ghanbarzadeh, B., Mohammadi, M., & Lorenzo, J. M. (2021). Chitosan nanoparticles as a promising nanomaterial for encapsulation of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract as a natural source of antioxidants. *Nanomaterials*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/nano11061439>
- ▶ Sorrentino, A., Gorrasi, G., & Vittoria, V., (2007). Potential perspectives of bio-nanocomposites for food packaging applications. *Trends in Food Science & Technology* 18 (2), 84–95.
- ▶ Sothornvit, R. & Rodsamran P. (2008). Effect of a Mango Film on Quality of Whole and Minimally Processed Mangoes. *Postharvest Biology and Technology* 47, no. (3) 407–415.
- ▶ Stern J.L, Hagerman A.E., Steinberg P.D., & Mason .P.K.(1996).Phlorotannin-proteininterac-tions. *Journal of Chemical Ecology*. 22:1887–99
- ▶ Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., & Dalla Rosa, M., (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review.*Trends in Food Science & Technology* 19, 634-643.
- ▶ Soltanzadeh, M. (2021). Chitosan Nanoparticles as a Promising Nanomaterial for Encapsulation of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extract as a Natural Source of Antioxidants. *Nanomaterials*, 1-18.
- ▶ Song, J.H., Murphy, R.J., Narayan, R., & Davies, G.B.H., (2009). Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 364, 2127- 2139.
- ▶ Sujanamulk, B. et al. (2020). Comparison if antifungal efficacy of ethanolic extracts of *Woodfordia fruticosa* leaf and *Punica granatum* peel in uncontrolled diabetic patients

wearing removable dentures: A randomized controlled clinical trial. *Current Medical Mycology*, 15-20.

- ▶ Taberner, R.V. (2011). Aplicación de extractos de granada para el control de podredumbres en poscosecha de frutos cítricos. <https://m.riunet.upv.es/handle/10251/27962?show=full>
- ▶ Tharanathan, R.N. & Kittur, F.S. (2003) Chitin—The undisputed biomolecule of great potential, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 61-87. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690390826455>
- ▶ Tharanathan, R. N., Yashoda, H., & Prabha, T. N. (2006). Mango (*Mangifera indica* L.), “The King of Fruits”—An overview. *Food Reviews International*, 22(2), 95-123. <https://doi.org/10.1080/87559120600574493>
- ▶ Terry, L.A. & Joyce, D.C. (2004) Elicitors of Induced Disease Resistance in Postharvest Horticultural Crops: A Brief Review. *Postharvest Biology and Technology*, 32, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.016>
- ▶ Tiwari B.K., Valdramidis V.P., O’ Donnell C.P., Muthukumarappan K., Bourke P., & Cullen P.J., (2009). Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5987–6000.
- ▶ Uchida, Y., Izume, M., & Ohtakara, A., (1989). In: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T., Sandford, P. (Eds.), *Chitin and chitosan*. Elsevier, London, UK, p. 373
- ▶ Urrejola, M. E. (2018). Sistemas de nanopartículas poliméricas II: Estructura, métodos de elaboración, características, propiedades, biofuncionalización y tecnologías de auto-ensamblaje capa por capa (Layer-by-Layer Self-Assembly). *International Journal of Morphology*., 1463-1471.
- ▶ Villanueva, S. (2016). *Introducción a la tecnología del mango*. México: Centro Público y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
- ▶ Vijayendra,S.V., & Shamala,T.R.(2014).Film forming microbial biopolymers for commercial applications .Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 34(4), 338- 357. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798254>
- ▶ Viuda,M; Fernández, J; & Pérez, J. (2010). Pomegranate and its Many Functional Components as Related to kongman Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*; 635-654

- ▶ Wadhera, D. & Capaldi-Phillips, E. D. (2014). A review of visual cues associated with food on food acceptance and consumption. *Eating Behaviors*, 15(1), 132- 143.
- ▶ Warad HC, & Dutta J (2005) Nanotechnology for agriculture and food systems a view. [http://www.nano.ait.ac.th/Download/AIT%20Papers/2005/Nanotechnology%20For%20Agriculture%20And%20Food%20Systems%20\\_%20A%20View.pdf](http://www.nano.ait.ac.th/Download/AIT%20Papers/2005/Nanotechnology%20For%20Agriculture%20And%20Food%20Systems%20_%20A%20View.pdf)
- ▶ Watada, A. E., Ko, N. P., & Minott, D. A. (1996). Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biology and Technology*, 9(2), 115–125. [https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S0925-5214\(96\)00041-5](https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S0925-5214(96)00041-5).
- ▶ Wiles, J.L., Vergano, P.J., Barron, F.H., Bunn, J.M. & Testin, R.F. (2000). Water vapor transmission rates and sorption behavior of chitosan films. *Journal of Food Science*, 65, 1175–1179.
- ▶ 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
- ▶ Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A., & Nag, D. (2004). Chitosan–starch composite film: Preparation and characterization. *Industrial crops and products*, 21(2), 185–192.
- ▶ Yamada, K., Akiba, Y., Shibuya, T., Kashiwada, A., Matsuda, K., & Hirata, M., (2005). Water purification through bioconversion of phenol compounds by tyrosinase and chemical adsorption by chitosan beads. *Biotechnology Progress* 21, 823–829.
- ▶ Yang, T.C., Chou, C.C., & Li, C.F., (2005). Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives. *International Journal of Food Microbiology* 97, 237–245.
- ▶ Yang, W., Owczarek, J. S., Fortunati, E., Kozanecki, M., Mazzaglia, A., Balestra, G. M., Kenny, J. M., Torre, L., & Puglia, D. (2016). Antioxidant and antibacterial lignin nanoparticles in polyvinyl alcohol/chitosan films for active packaging. *Industrial Crops and Products*, 94, 800–811. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.indcrop.2016.09.061>
- ▶ Yenjit, P., Issarakraisila, M., Intana, W., & Chantrapromma, K. (2010). Fungicidal activity of compounds extracted from the pericarp of *Areca catechu* against *Colletotrichum gloeosporioides* in vitro and in mango fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 55(2): 129–132. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.09.003>

- ▶ Yu, Y., Zhang, S., Ren, Y., Li, H., Zhang, X. & Di, J. (2012). Jujube preservation using chitosan film with nano-silicon dioxide. *Journal of Food Engineering*, 113(3), 408–414. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.06.021>
- ▶ Zaccari, F., Puerto, M. D., Vignale, B., & Pritsch, C. (2017). Colorimetric Parameters and Pigments Content in Five Different Peel Colors of Feijoa Fruit [*Acca sellowiana* (Berg) Burret]. *Agrociencia Uruguay*, 23-30.
- ▶ Zakrzewska A, Boorsma A, Brul S, Hellingwerd KJ, & Klis FM. (2005). Transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to the plasma membrane-perturbing compound chitosan. *Eukaryot Cell*, 4:703-715.
- ▶ Zambrano J. M. M; Materano W; Quintero I; & Valera A. (2011). Efecto de tres recubrimientos sobre algunos aspectos de calidad en mango ‘Bocado’ durante el almacenamiento. Universidad de Los Andes, Venezuela. 1: 636-645.
- ▶ Ziani, K.; Fernández-Pan, I.; Royo, M.; & Maté, J.I.(2009): "Antifungal activity of films and solutions based on chitosan against typical seed fungi", *Food Hydrocolloids*, [en línea] DOI-doi: 10.1016/j.foodhyd.2009.06.005, 23(8): 2309-2314