



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

EFFECTO DEL RECUBRIMIENTO DE FRESAS USANDO
QUITINA-QUITOSANA OBTENIDA DE CEFALOTÓRAX Y
EXOESQUELETO DE CAMARÓN EN SU VIDA DE ANAQUEL
A TEMPERATURA AMBIENTE ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) Y REFRIGERACIÓN
(4°C)

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ORTEGA GRANADOS JESÚS ALFREDO



México, D.F. 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa
Vocal	M. en C. Rolando Salvador García Gómez
Secretario	Q.F.B. Juan Diego Ortiz Palma Pérez
Primer Suplente	Q.A. Esmeralda Paz Lemus
Segundo Suplente	Dra. Verónica Mayela Hernández Izquierdo

Lugar donde se realizó el proyecto:

1. Laboratorios del Conjunto E (301 al 303) de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA) de la Facultad de Química de la U.N.A.M.
2. Laboratorio 312 del Conjunto E de Biotecnología y Alimentos de la Facultad de Química de la U.N.A.M.

Asesor del Tema

Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa _____

Supervisión Técnica

Q.I. Paulina Sarabia Bañuelos _____

Sustentante

Jesús Alfredo Ortega Granados _____

Agradecimientos

A Dios

Gracias por haberme permitido estar rodeado de gente tan maravillosa a lo largo de la vida, haberme dado salud para mis metas. Y eres la fuerza más grande que une a seres tan exitosos de los cuales debo aprender mucho.

A mi padre Alfredo

Que tanto me quiere, siempre está en los momentos difíciles para apoyarme y tiene el consejo adecuado para salir adelante. Papá, éste es un logro que quiero compartir contigo, gracias a ti por ser mi papá y por creer en mí al 100%. Quiero que sepas que ocupas un lugar muy especial en mí.

A mi madre Ma. Guadalupe

Por brindarme su apoyo y cariño de manera incondicional, contribuir en mí desempeño académico y personal. Mamá, no me equivoco si digo que eres la mejor mamá del mundo, gracias por todo tu esfuerzo, tu tiempo y siempre has estado a mi lado y la confianza que depositaste en mí. Una disculpa por las desveladas que pasaste a mi lado, gracias una vez más. Te quiero mucho.

A mi hermana Gisela

Gracias a sus consejos, cariño que me ha brindado durante todos estos años de vida. Siempre has procurado estar conmigo cuando más lo necesito y nunca falta una sonrisa tuya y sabes cómo mantener unida a la familia con tu alegría y carisma. Quiero que sepas que has sido mi ejemplo a seguir.

A mi familia

Por el apoyo y la comprensión, abuelos, tíos, tías, a mis primos y primas, que siempre han depositado un comentario positivo y alegre, gracias por compartir todo este tiempo.

A la Q.I. Paulina Sarabia Bañuelos

Mi supervisora técnica de la tesis, gran amiga y un ejemplo a seguir por su enseñanza y apoyo en la revisión de mi tesis, además de brindarme momentos gratos y su amistad incondicional.

A la Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Que me ha depositado su confianza y su sabiduría, a su vez me brindó una oportunidad de participar en un proyecto en su laboratorio antes de ingresar a la Facultad de Química., U.N.A.M. Aún después de concluir mi carrera, me brindó una nueva oportunidad de realizar el presente proyecto para mi titulación. Estoy muy agradecido con Ud.

Y cómo no, agradecer todos mis compañeros de laboratorio, a los que actualmente se encuentran y a los que ya no están, por su amistad, ayuda, apoyo y compañía durante la realización de la presente tesis. A los señores Hilario y Benjamín y a la Sra. Otilia por su participación, apoyo, su compañía y amistad.

*A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y en especial a la **Facultad de Química**, por brindarme la oportunidad de estudiar y ser mi casa de estudios, además de ser parte de una generación exitosa y triunfadora. Por último todos mis amigos de la carrera que estimo, aprecio y los llevo conmigo, y por todos esos momentos tan gratos que nunca olvidaré. Los materiales y reactivos se adquirieron con el PAIP 5290-6, de la Dra. Carmen Durán (Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado)*

Dedicatorias

A mis padres, hermana y familia, con orgullo les dedico este trabajo.

*A todos aquellos que me apoyaron en espíritu y aquellos que viven en el recuerdo, aún así
fueron parte esencial en mi vida.*

A mis maestros, mi carrera, a la Universidad.

Glosario de términos	VII
Abreviaturas	XI
Resumen	XIII
Capítulo 1. Introducción	1
1.1. Problemática	1
1.2. Justificación y propuesta de solución	2
1.2.1. Justificación	2
1.2.2. Propuesta de solución	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Metas	4
Capítulo 2. Fundamento teóricos	5
2.1. Biopelículas, recubrimientos y películas comestibles	5
2.1.1. Diferentes tipos de películas comestibles con materiales de interés en la industria alimentaria	7
2.2. Aplicación de quitina en alimentos	7
2.3. Aplicación de quitosana en alimentos	7
2.4. La fresa y su problemática en México	8
2.4.1. Fresa	8
2.4.2. Productos industrializados y caseros a partir de la fresa	11
2.4.3. Problemática de la conservación de fresa	11
2.4.4. La Nueva Viga, mercado de la “Central de Abasto”. Una oportunidad o un problema para las fresas	12
2.4.5. Enfermedades en las fresas	15
2.4.6. Cultivo de la fresa en México	15
Capítulo 3. Metodología	18
3.1. Extracción de la mezcla de polímeros naturales quitina-quitosana (Q-Qn)	20
3.2. Elaboración de las películas usadas como controles (quitosana y quitina Sigma Aldrich)	20
3.2.1. Quitosana Sigma Aldrich	20
3.2.2. Quitina Sigma Aldrich	21
3.3. Selección de la fruta	22
3.4. Parámetros cuantitativos de seguimiento para el comportamiento de la fruta con respecto al tiempo	22
3.4.1. Pérdida de humedad, medida en masa (g)	22
3.4.2. Determinación de pH	22
3.4.3. Determinación de acidez titulable	23
3.4.4. Determinación de grados Brix	23
3.4.5. Determinación de vitamina C	23
3.5. Evaluación cualitativa de seguimiento para el comportamiento de la fruta con respecto al tiempo	24
3.5.1. Microscopía estereoscópica y desarrollo visible de hongos (evaluación subjetiva ocular)	24

3.5.2. Preparación en fresco para observación de hongos	24
3.6. Aplicación de las biopelículas (quitina y quitosana)	24
3.7. Lotes de frutas	24
3.8. Análisis estadísticos	26
Capítulo 4. Resultados y discusión	27
4.1. Obtención de quitina a partir de residuos de camarón (Q-Qn)	28
4.2. Datos experimentales	28
4.3. Comparación entre fresas con biopelícula de la mezcla de quitina- quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un control sin película a las dos temperaturas en estudio (ambiente y refrigeración)	30
4.3.1. Pérdida de humedad medida en masa	30
4.3.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales (°Bx)	32
4.3.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)	34
4.4. Comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina grado analítico (Sigma) disuelta en disolvente MAC-141 [®] a las dos temperaturas (20±2 y ~4°C)	37
4.4.1. Pérdida de humedad medida en masa	37
4.4.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales (°Bx)	38
4.4.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)	40
4.5. Comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración	41
4.5.1. Pérdida de humedad medida en masa	41
4.5.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales (°Bx)	46
4.5.2.1. Reacción de solubilización de quitosana con ácido acético	47
4.5.2.2. Reacción de solubilización de quitosana con ácido ascórbico	48
4.5.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)	53
4.6. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20±2 y ~4°C) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana	55
4.6.1. Pérdida de humedad medida en masa	55
4.6.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales (°Bx)	56
4.6.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)	57
4.7. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana	58
4.7.1. Pérdida de humedad medida en masa	58
4.7.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales (°Bx)	59
4.7.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)	60
4.8. Desarrollo visible de hongos/Evaluación subjetiva ocular	64
4.8.1. Influencia del ácido ascórbico en fresas a temperatura de refrigeración	65

(4°C)	
4.8.2. Influencia del ácido acético en fresas a temperatura ambiente (20±2°C)	66
4.8.3. Comparación entre fruta a temperatura ambiente (20±2°C) y refrigeración (4°C)	67
Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones	69
5.1. Conclusiones	69
5.2. Recomendaciones	71
Anexo I. Descripción de las metodologías	73
1.1. Calibración del potenciómetro	73
1.2. Calibración del refractómetro	74
1.3. Reactivos y soluciones para la determinación de Vitamina C	74
1.3.1. Solución de ácido acético 5%	74
1.3.2. Solución de ácido ascórbico (1 mg/mL)	74
1.3.3. Solución de 2,6 diclorofenol indofenol valorada	74
1.4. Extracción del cefalotórax parcialmente desproteínizado (CPD)	74
1.4.1. Recolección del cefalotórax de camarón fresco	74
1.4.2. Limpieza	74
1.4.3. Molienda	75
1.4.4. Filtración	75
1.4.5. Secado y tamizado del CPD	75
1.5. Preparación del disolvente MAC-141 [®] (metanol-agua-cloruro de calcio)	76
Anexo II. Esquemas para lotes a temperatura ambiente (Ácido acético)	77
Anexo III. Esquemas para lotes a temperatura de refrigeración (Ácido ascórbico)	85
Anexo IV. Datos experimentales	93
1. Temperatura refrigeración (4°C)	93
1.1. Pérdida de humedad medida en masa	93
1.2. Determinación de pH	95
1.3. Determinación de acidez titulable	97
1.4. Determinación de grados Brix	99
1.5. Determinación de vitamina C	101
2. Temperatura ambiente (20±2°C)	103
2.1. Pérdida de humedad medida en masa	103
2.2. Determinación de pH	104
2.3. Determinación de acidez titulable	105
2.4. Determinación de grados Brix	106
2.5. Determinación de vitamina C	107
Anexo V. Análisis estadístico de los datos experimentales obtenidos	108
Anexo VI. Gráficos de comparación de medias por el método de DMS	117
Anexo VII. Tratamiento de residuos	130
Bibliografía	133

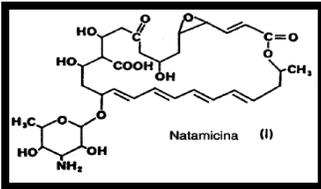
Tabla	Nombre	Página
Tabla 2.1	Propiedades y materiales de las biopelículas	7
Tabla 2.2	Algunos métodos de conservación aplicados en fresa	10
Tabla 2.3	Sistemas tradicional de producción de fresa en Zamora, Michoacán, México	16
Tabla 2.4	Sistemas de tecnología mediana de producción de fresa en Zamora, Michoacán, México	17
Tabla 2.5	Sistemas de alta tecnología de producción de fresa en Zamora, Michoacán, México	17
Tabla 3.1	Comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) empleando el disolvente MAC-141 [®] y un control sin película (blanco)	19
Tabla 3.2	Comparación entre lotes control de fresas con biopelícula de quitina Sigma-Aldrich disuelta en MAC-141 [®] (Q-S) y quitosana grado analítico Sigma-Aldrich (Qn-S) a las dos temperaturas (20±2 y ~4°C) en estudio	19
Tabla 3.3	Cantidades de quitosana y volumen de ácido (acético o ascórbico) adicionado para cada película a diferentes concentraciones	21
Tabla 3.4	Aspectos a considerar para selección de la fruta.	22
Tabla 4.1	Resultados obtenidos a partir de los parámetros fisicoquímicos cualitativos y cuantitativos	29
Tabla 4.2	Comparación del porcentaje de la pérdida de humedad para la biopelícula de quitina-quitosana experimental extraída de cefalotórax de camarón (Q-Qn) y un blanco dos temperaturas (20±2 y ~4°C)	31
Tabla 4.3	Comparación del decremento de la acidez y aumento en el pH, para una fresa recubierta con la mezcla de quitina-quitosana experimental (Q-Qn) y el blanco (20±2 y ~4°C)	33
Tabla 4.4	Pérdida de vitamina C en fresas con biopelículas de una mezcla de quitina-quitosana experimental y un blanco a dos temperaturas (20±2°C y ~4°C)	36
Tabla 4.5	Diferencia significativa de medias (p<0.05) para la comparación entre fresas con biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un control sin película a las dos temperaturas en estudio (20±2 y ~4°C)	36
Tabla 4.6	Comparación del decremento de la acidez y aumento en el pH, para una fresa recubierta con la mezcla de quitina-quitosana experimental y el control de quitina Sigma con disolvente MAC-141 [®] (Q-S) (20±2 y 4°C)	38
Tabla 4.7	Diferencia significativa de medias (p<0.05) para la comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina grado analítico (Sigma) disuelta en disolvente MAC-141 [®] , Q-S, a dos temperaturas (20±2 y ~4°C)	42
Tabla 4.8	Pérdida de vitamina C, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) comparada con la quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) (T~4°C)	53

Tabla 4.9	Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$)	55
Tabla 4.10	Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana	58
Tabla 4.11	Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$), a diferentes concentraciones de quitosana	63
Tabla 4.12	Datos finales de los experimentos después de 12 días	68

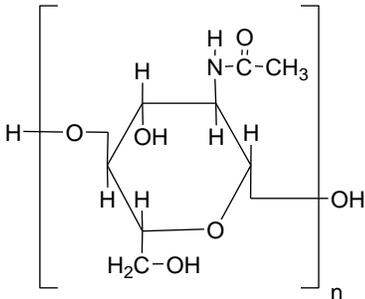
Figura	Nombre	Página
Figura 2.1a	Madroño (<i>Arbutus unedo</i>)	9
Figura 2.1b	Fresas (<i>Fragaria x ananassa</i>)	9
Figura 2.2	Fresas empleadas en esta investigación	9
Figura 2.3	Productos derivados de la fresa	12
Figura 2.4	Estados productores de fresa	13
Figura 2.5	Transporte y almacenaje de fresas en empaques de cartón	14
Figura 2.6	Empaques tipo “ostra”	15
Figura 2.7	Macrotúnel con cobertura plástica para fresa	16
Figura 3.1	Diagrama de flujo para los diseños de experimentos a dos diferentes temperaturas [T. ambiente (20±2°C) y T. refrigeración (~4°C)] empleando los siguientes parámetros de seguimiento: %Humedad, pH, %acidez, °Bx y vitamina C	18
Figura 3.2 ^a	Película filtrada en equipo Millipore	20
Figura 3.2b	Películas en cajas Petri en cámara con atmósfera modificada (mayor humedad relativa)	20
Figura 3.3	Extracción de biopelícula obtenida de cefalotórax y exoesqueleto de camarón	20
Figura 3.4	Elaboración de película de quitina Sigma-Aldrich (Q-S) disuelta en disolvente MAC-141 [®]	21
Figura 3.5	Fruta adquirida en la Central de Abastos de la Ciudad de México para los experimentos	25
Figura 3.6	Lotes de fresas con los diferentes sistemas de estudio en un cuarto frío (~4°C)	25
Figura 4.1	Película de quitina experimental obtenida de residuos de camarón	28
Figura 4.2	Crecimiento y estados de maduración de la fresa	35
Figura 4.3	Ciclo de vida de fresas en el lote control de quitosana disuelta en agua acidulada con de ácido acético	43
Figura 4.4	Fresas de los lotes control dañadas por frío	43
Figura 4.5	Ciclo de vida de las fresas en los lotes control de quitosana disuelta en agua destilada acidulada con ácido ascórbico	45
Figura 4.6	Estado de madurez completo en la fresa en punto de venta	54
Figura 4.7	Reducción de ácido ascórbico	63
Figura 4.8	Ejemplo de la preparación en fresco para hongos	66
Figura 1	Cefalotórax y exoesqueleto de camarón	75
Figura 2	Molienda de CC	75
Figura 3	CPD de camarón	75
Figura 4	Disolvente MAC-141 [®] en baño de hielo	76
Figura 1	Filtro de carbón activado	130
Figura 2	Reducción de ácido ascórbico	131
Figura 3	Equipo de filtración y tratamiento de residuos (residuo de color rosa a incoloro)	131
Figura 4	Residuos de carbón activado con papel filtro	132
Figura 5	Residuos de carbón activado con etiqueta correspondiente	132

Glosario de términos

<i>Término</i>	<i>Significado</i>
Acuicultura del camarón o camaronicultura	Es una forma de producir alimentos marinos a escala comercial por medio de la utilización de tecnologías aplicadas en espacios fijos y controlados
Almidón	Es la sustancia de reserva alimenticia predominante en las plantas, y proporciona el 70-80%. Se encuentra presente en las harinas para hacer pan, de forma natural se encuentran en los granos, en las frutas y hortalizas
Antocianinas	Producen los colores azules y rojos de cebolla morada, betabel, fresas. Cambian notablemente el color cuando varía el pH (p. ej. para conservar el color de los betabeles a los cocineros les conviene un pH ácido y, por lo mismo, les añaden jugo de limón o vinagre). En los frutos enlatados, las antocianinas llegan a corroer el envase formando sales de estaño y hierro disminuyendo la calidad del producto
Biodisponibilidad	Entendida como la proporción absorbida en el tracto intestinal y que es utilizada por el cuerpo
Carbohidrato o hidratos de carbono	El término carbohidrato se usa coloquialmente para denominar a los hidratos de carbono, cuya composición elemental tiene átomos de carbono con otros de hidrógeno y oxígeno
Cefalotórax	Es una combinación de cabeza y tronco en una sola unidad, especialmente de los crustáceos como el camarón, que lleva los órganos como: ojos, dos pares de antenas que le sirven para orientarse, boca, tres pares de patas prensadoras, dos pares de patas caminadoras y las branquias
Crioprotectores	Sustancias que penetran en los tejidos impidiendo la formación de cristales de hielo cuando baja la temperatura
Desviación estándar	Es una medida de dispersión de los datos con respecto al valor promedio. Se puede interpretar como el "promedio" o variación esperada e indica cuánto tienden a alejarse los valores del promedio
Hidrocoloides	Son polisacáridos solubles en agua para modificar la consistencia de los alimentos. También son conocidos como gomas. Se utilizan mayoritariamente para espesar o gelificar soluciones acuosas y para modificar las propiedades de deformación de productos semisólidos
Flavonoides	Los flavonoides son un grupo de fitoquímicos que muestran una amplia gama de actividades biológicas. Han sido reconocidas por ejercer como anti-bacterianos, antivirales, antiinflamatorios, analgésicos y con efectos antialérgicos. Desempeñan un papel importante en el crecimiento, desarrollo y defensa de las plantas contra las plagas y microorganismos. Tienen actividad antioxidante, ayudan a proteger a las plantas contra la oxidación por estrés, están presentes en las semillas, la piel o cáscara, corteza de la fruta y flores de las plantas

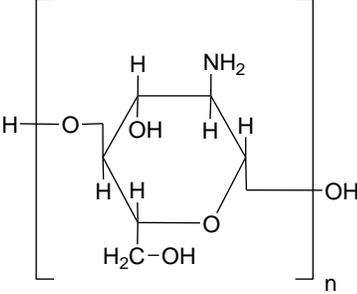
<i>Término</i>	<i>Significado</i>
Glicerol	Es el componente mayoritario en los lípidos (grasas y aceites). Su forma estructural es la siguiente: $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{OH} \end{array}$
Glucosa	Es un carbohidrato, es un monosacárido y el compuesto orgánico más abundante
Grados Brix (°Bx)	Miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido.
Inmersión	Sumergir un alimento en un líquido
Natamicina	También se le conoce como pimaricina, es altamente eficaz cuando se aplica en las superficies de los alimentos. Únicamente está indicada en los alimentos fermentados, como quesos curados, ya que inhibe selectivamente a los mohos, mientras permite el crecimiento y metabolismo de las bacterias responsables de la maduración <div style="text-align: center;">  <p>Natamicina (I)</p> </div> <p style="text-align: center;">Estructura molecular de la natamicina</p>
Pectinas	Están formadas fundamentalmente por largas cadenas de ácido galacturónico, que puede encontrarse como ácido, con el grupo carboxilo libre o con el carboxilo esterificado por metanol (metoxilado) <p>Geles de pectina de alto metoxilo. La primera condición para obtener geles de pectina de alto metoxilo es un pH bajo; en consecuencia, las pectinas de alto metoxilo formarán geles a pH entre 1.0 y 3.5, con contenidos de azúcar entre el 55% como mínimo y el 85% a mayor grado de esterificación.</p> <p>Geles de pectina de bajo metoxilo. En el caso de las pectinas de bajo metoxilo, la unión entre cadenas se produce a través de iones de calcio, que forman puentes entre las cargas negativas. La concentración de calcio es importante hasta llegar a una cierta cantidad, que depende de cada tipo de pectina, y que se conoce como "saturación de calcio". Las pectinas de bajo metoxilo forman geles de consistencia máxima con cantidades de calcio que oscilan de 20 a 100 mg por gramo de pectina. La presencia de azúcar reduce mucho la cantidad de calcio necesaria¹</p>
pH	La sigla significa "potencial de hidrógeno", es una medida de la acidez o basicidad de una solución. El pH indica la concentración de iones [H ⁺] presentes en determinadas sustancias

¹ Disponible en internet: [<http://milksoci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html>]

<i>Término</i>	<i>Significado</i>
Polioles o polialcoholes	Son derivados de carbohidratos cuyos únicos grupos funcionales son los grupos hidroxilos, son hidrosolubles generalmente e higroscópicos y presentan viscosidad moderada cuando se disuelven en agua a elevadas concentraciones
Polifenoles	Se clasifican tradicionalmente en taninos condensados (flavan-3,4-diol-derivados) y taninos hidrolizables (galotaninos o elagitaninos). La importancia reside en su participación en distintas características de los alimentos, como el color y la astringencia
Pulverización	Procedimiento por el cual un líquido o sólido es reducido a partículas diminutas
Quelar, quelante	Formar quelatos, agentes químicos que forman quelatos. Palabras que no existen en el Diccionario de la RAE y que derivan del griego <i>chelé</i> , pinza, del que se tiene la palabra quelato, tipo de compuesto en que un átomo central metálico está unido por enlaces covalentes coordinados a otros átomos
Quitina	<p>La quitina es un polisacárido, β (1-4) N-acetil-D-glucosamina. Puede extraerse del cefalotórax y el exoesqueleto del camarón y otros crustáceos. Los residuos de cefalotórax y exoesqueleto consisten principalmente de 30-40% de proteínas, 30-50% de carbonato de calcio y de 20-30% de quitina</p> <p>Nombre de la IUPAC: N-[(2R)-2,4,5-trihidroxi-6-hidroximetil]oxan-3-il]acetamida</p> <p><i>Masa molecular</i>: 221.207800 g/mol <i>Fórmula</i> : C₈H₁₅NO₆</p> <p>Estructura:</p>  <p>Estructura molecular de la quitina^{2 3}</p>

² Skjak-Braek G., Anthonen T., Sandorf P. 1989. *Chitin and chitosan: Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications*. Elsevier Applied Science. London.

³ Disponible en internet: [http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=6857375&loc=ec_rcs]

Término	Significado
Quitosana	<p>Quitina desacetilada Nombre IUPAC: poli-<i>D</i>-glucosamina Masa molecular: 1526.45392 [g/mol] <i>Fórmula</i> : C₅₆H₁₀₃N₉O₃₉ Estructura:</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Estructura molecular de la quitosana⁴</p>
Sacarosa	<p>Nombre científico del azúcar de caña, que puede consumirse sin refinar, parcialmente purificada. A los cristales de color marrón claro o marrón oscuro cubiertos con una película de melaza de caña se les denomina azúcar mascabado</p>
Sorbitol	<p>Alcohol que se produce mediante hidrogenación de la glucosa. Se encuentra en frutas como peras, manzanas y ciruelas</p>
Taninos	<p>Los taninos son compuestos fenólicos, se pueden combinar con las proteínas y otros polímeros (polisacáridos), con masas moleculares altas, precipitan alcaloides, gelatina y otras proteínas. Se encuentran en la corteza del roble y en frutas. Existen dos tipos de taninos; a) proantocianidinas (taninos condensados) y b) poliésteres de glucosa con el ácido gálico de los ácidos hexahidroxidifénicos (taninos hidrolizables). Los taninos contribuyen a la astringencia de los alimentos, dan coloración al té negro</p>
Termolábil	<p>Que se altera fácilmente por la acción del calor</p>

⁴ *Ibidem*: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=71853&loc=ec_rcs

Abreviaturas

<i>Abreviatura</i>	<i>Significado</i>
AA	Ácido ascórbico
AAc	Ácido acético (Medio ácido usado en el diseño de experimentos a temperatura de refrigeración)
AAs	Ácido ascórbico (Medio ácido usado en el diseño de experimentos a temperatura de refrigeración)
AOAC	Del inglés <i>Association of Official Analytical Chemists</i> , Asociación Oficial de Químicos Analistas
°Bx	Grados Brix
°C	El grado Celsius es la unidad de temperatura creada por Anders Celsius
CC	Cefalotórax y exoesqueleto de camarón
CPD	Cefalotórax y exoesqueleto de camarón parcialmente desproteinizado
DMS	Diferencia mínima significativa, DMS (<i>LSD, Least Significant Difference, en inglés</i>)
DOF	Diario Oficial de la Federación (México)
g	Gramo
ha	Hectáreas
ICMSF	<i>International Commission on Microbiological Specifications for Foods</i> en inglés. Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de Alimentos
K	El Kelvin (llamado anteriormente <i>grado Kelvin</i>) es la unidad de temperatura absoluta
kg	Kilogramo
L	Litro
MAC-141[®]	Mezcla de disolventes con metanol-agua-calcio (relación molar 1:4:1), elaborado en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM
mg	Miligramo
mL	Mililitro
NMX	Norma Mexicana (no obligatoria)
NOM	Norma Oficial Mexicana (obligatoria)
pH	"Potencial de hidrógeno", es una medida de la acidez o basicidad de una solución
S	Desviación estándar
SP	Lote control de fresas, utilizado como un patrón o un blanco en las determinaciones
Ton	Toneladas
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
a	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 0.5% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura ambiente (20±2°C)
b	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.0% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura ambiente (20±2°C)
c	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.5% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura ambiente (20±2°C)
d	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 2.0% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura ambiente (20±2°C)
e	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 0.5% en solución acuosa

	acidulada con ácido acético a temperatura de refrigeración (~4°C)
f	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.0% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura de refrigeración (~4°C)
g	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.5% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura de refrigeración (~4°C)
h	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 2.0% en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura de refrigeración (~4°C)
i	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 0% en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C)
j	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 0.5% en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C)
k	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.0% en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C)
l	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 1.5% en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C)
m	Control de concentración de quitosana Sigma-Aldrich al 2.0% en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C)

Nota: De acuerdo con las reglas para la escritura de los números y su signo decimal de la normativa mexicana, el signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero (DOF, 2009).

Nota: En esta tesis se **usa el punto decimal**, de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002: Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21

Resumen

En el presente trabajo se demuestra el uso de biopelículas de una mezcla de quitina y quitosana extraída a partir de residuos de crustáceos (exoesqueleto y cefalotórax de camarón) mediante una metodología amigable con el ambiente utilizando un disolvente formado por metanol, agua y cloruro de calcio, MAC-141© patentado en los Laboratorios 301, 302 y 303 del Conjunto E en la Facultad de Química, UNAM. La obtención de esta mezcla de polímeros, Q-Qn, se realizó con una técnica de sonicación con diferentes condiciones de calentamiento publicada en la literatura. Se probó este polímero natural usando como controles biopelículas comerciales de quitina Sigma-Aldrich, Q-S, en el mismo disolvente MAC-141©, de quitosana Sigma-Aldrich, Qn-S a diferentes concentraciones (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%) en agua acidulada con ácidos acético, AAc, a 0.5% v/v (0.00875M) o ascórbico, AAs, a 2% m/v (0.1135M) y un lote blanco (sin recubrimiento) aplicadas a una fruta perecedera (*Fragaria x ananassa* o fresas, como se le conoce en México). Los lotes de fresas con las biopelículas correspondientes se almacenaron a dos diferentes temperaturas (ambiente, ~20°C y refrigeración, ~4°C). Cada lote tenía 8 fresas para temperatura ambiente y 14 para refrigeración previamente homogeneizadas en masa individual (20-25 g) y en coloración y apariencia general (rojo intenso y atractivas, sin magullamientos o defectos). Se evaluó la calidad de las frutas a lo largo del tiempo mediante parámetros fisicoquímicos cuantificables (*pérdida de humedad, pH, acidez titulable, grados Brix o sólidos solubles totales y vitamina C*) y con un parámetro cualitativo (*desarrollo visual de hongos, mediante una evaluación subjetiva ocular*). Con ellos se determinó el tiempo de vida de anaquel de las fresas de cada lote. Para la pérdida de humedad, medida en masa, se observó que las fresas presentan una tasa elevada de transpiración que se reflejó en el arrugamiento parcial de la fruta. Se dio seguimiento a este arrugamiento con una técnica microscópica estereoscópica para observar también la descomposición por microorganismos (hongos). Los resultados obtenidos indican que las fresas a temperatura ambiente empiezan a mostrar presencia de microorganismos a partir del 4° día y en refrigeración a partir del 12° día, independientemente de si tienen película o no y de qué tipo de película se trate. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los lotes en sus propiedades físicas y químicas. Los valores de pH y de porcentaje de acidez titulable

variaron aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Un parámetro que se afecta por la actividad metabólica y enzimática de la fresa, son los sólidos solubles totales o grados Brix. Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los lotes de Q-Qn y los de Qn-S-AAs favoreciendo a estos últimos. Por último, la vitamina C como indicador de calidad por su termolabilidad, se conservó en cantidades alrededor de 50 mg ácido ascórbico / 100 g muestra para el lote de fresas recubiertas con la película en estudio, Q-Qn. Las que dieron valores mejores, justamente por contener ácido ascórbico fueron las de Qn-S-AAs. Se recomienda continuar esta investigación haciendo pruebas sensoriales con las fresas recubiertas de los diferentes lotes que hayan mostrado las mejores características. Asimismo, se recomienda hacer un análisis técnico-económico de factibilidad para su posible comercialización si resulta positivo.

Palabras clave: Fresas (*Fragaria x annanasa*), quitina, quitosana, residuos de camarón, biopelículas

Capítulo 1. Introducción

1.1. Problemática

Actualmente, el camarón es uno de los principales productos de altamar en México, siendo Sonora, Sinaloa, Nayarit y Tamaulipas los principales estados pesqueros (CONAPESCA, 2010). La exportación de camarón al mercado estadounidense en el 2009, mejoró enviando más de 40 mil toneladas de producto (PROFEPA, 2010).

Como producto, sólo el 50% del camarón es comestible y el 50% restante, constituido por el cefalotórax y exoesqueleto, genera desperdicios que representan un problema ecológico grave pues éstos contaminan tanto la tierra en granjas camaronícolas como diversas zonas de alta mar donde causan problemas al incrementar la materia orgánica en suspensión, limitando la cantidad de oxígeno disuelto en el medio (Luna-Rodríguez, 2003).

El desperdicio del cefalotórax y exoesqueleto del camarón puede ser aprovechado pues está compuesto, en base seca, de 44.7% de proteína, 26.3% de ceniza, 20.7% de fibra cruda, 5.2% de grasa y 3.1% de otros hidratos de carbono. De esta composición bromatológica destaca la quitina, de 14 a 27% (Flores, 2004), la cual tiene aplicaciones principalmente en el tratamiento de aguas residuales. Existe un derivado desacetilado de la quitina, la quitosana, que por su mejor solubilidad y su baja toxicidad ha sido puesto a prueba en películas para mejorar la vida útil de los alimentos perecederos como las frutas, demostrándose que tiene propiedades antimicrobianas (Dutta y col., 2009). Específicamente, la quitosana se utiliza en la industria alimentaria como recubrimiento para modificar la atmósfera interna de la fruta, disminuyendo la pérdida de agua por transpiración (Jiang y Li, 2001).

La aplicación de la quitosana ha tenido resultados favorables para el recubrimiento de fruta como fresas (Ortega-Granados, 2010; Vu y col., 2011). La aplicación de quitina en el área alimentaria sólo se ha reportado como antioxidante en plátanos (Waliszewski y col., 2002). Por ello, en este trabajo se estudió la conservación de fresa (*Fragaria × ananassa*), mediante la mezcla de polímeros obtenidos de los residuos del camarón, ya que México es

considerado uno de los principales productores de fresa, siendo Michoacán el principal estado productor de fresa del país con una superficie plantada superior a las 3,100 hectáreas, lo que representa el 50% de la superficie plantada en el territorio nacional y cuyo producto es bien aceptado, tanto en el mercado nacional como internacional (SENASICA, 2010). La fresa es considerada un producto de importancia comercial en otros estados productores, como Baja California, Baja California Sur, Estado de México y Guanajuato, que generan 184,762 ton, con un rendimiento de 44.20 ton/ha, siendo el precio en 2010 de \$24.00 pesos mexicanos/kg de fresa (SAGARPA, 2010).

1.2. Justificación y propuesta de solución

1.2.1. Justificación

Se estudiará la utilidad de las mezclas de quitina y quitosana obtenidas a escala de laboratorio, en el área alimentaria ya que en la literatura solamente se ha encontrado una aplicación directa de la quitosana a frutos climatéricos. Para ello, se hizo una comparación del efecto que tiene el recubrimiento de quitina grado reactivo y su derivado la quitosana grado reactivo bajo diferentes concentraciones entre 0.5 a 2.0%, ya que a estas concentraciones se ha reportado utilidad en la conservación de la fresa (*Fragaria × ananassa*) con quitosana (Ortega-Granados, 2010), con la mezcla obtenida en el laboratorio.

Uno de los beneficios de este estudio experimental a escala de laboratorio, si se llevara a la práctica, es que no sólo generaría menores mermas en la producción de fresa en el país sino que ayudaría a los industriales como las plantas procesadoras de frutas (JUMEX, ubicada en la Junta, Chihuahua, México), que usan concentrados y aromas de fresa, a tener un beneficio con la elaboración de jugos con más pulpa y con mayor calidad, ya que las necesidades de producción demandan el abastecimiento de 50 toneladas por día. Un aumento en la producción de fresa abastecería otra planta ubicada en Mexicali, ya que las variedades que más demandan son *Camarosa*, *Pájaro*, *Chandler*, que son fresas con centro rojo, con una alta concentración de azúcar.

El impacto de usar residuos de camarón es, por un lado, reducir la contaminación y, por otro lado, la producción de películas inocuas comestibles (Ortega-Granados, 2010).

1.2.2. Propuesta de solución

Se estudiaron los efectos de dos diferentes temperaturas (ambiente, ~20°C y refrigeración, ~4°C) en lotes de fresas con recubrimiento de quitina y quitosana, ya que la mayoría de los consumidores almacenan la fresa en refrigeración con el propósito de aumentar su vida de anaquel. Para cuantificar la eficiencia de los polímeros de quitina y quitosana como biopelículas se determinaron como parámetros cuantitativos pérdida de humedad, pH, acidez total, grados Brix y vitamina C y, como parámetro cualitativo, la microscopía estereoscópica para observar el desarrollo visible de hongos.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la vida de anaquel de un producto perecedero en refrigeración y a temperatura ambiente, la fresa (*Fragaria × ananassa*) aplicando recubrimientos de mezclas de quitina y quitosana

1.3.2. Objetivos específicos

Cuantificar el tiempo de la vida de anaquel de las fresas al aplicar un recubrimiento de quitina-quitosana obtenido del cefalotórax de camarón

Montar las metodologías adecuadas para la cuantificación de la pérdida de humedad, variabilidad de pH, acidez total, grados Bx⁵, vitamina C y desarrollo visible de hongos sobre la superficie de las fresas (*Fragaria × ananassa*) como variables de respuesta

Evaluar el tiempo de anaquel de las fresas al aplicar un recubrimiento de quitina grado analítico Sigma-Aldrich disuelta empleando el disolvente patentado por la UNAM

⁵ Los grados Brix también se puede simbolizar como °Bx

Evaluar el tiempo de anaquel de las fresas al aplicar un recubrimiento de quitosana grado analítico Sigma-Aldrich disuelta en soluciones acuosas aciduladas a concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0% empleando ácido acético y ascórbico

1.4. Metas

Aprovechamiento de los residuos de camarón que son desechados en los mercados de pescados y mariscos

Obtención de biopelículas de quitina-quitosana extraídas a partir de dichos residuos (cefalotórax de camarón) las cuales pueden usarse para recubrir productos perecederos tomando como ejemplo la fresa

Aprovechamiento de las metodologías de química verde, desarrolladas por la UNAM, que promuevan la producción de insumos que sean sostenibles y amigables con el medio ambiente

Estudio de la generación, a partir de estos residuos, de una materia prima útil para la industria alimentaria

Capítulo 2. Fundamento teórico

El uso de polímeros naturales en el campo biomédico es una buena propuesta debido a que pueden ser biodegradables. Por ello, la introducción de proteínas como biomateriales es de suma importancia (Vaz y *col.*, 2003).

En la industria alimentaria, el uso de proteínas, lípidos y polisacáridos se ha ido promoviendo ya que son buenos agentes formadores de películas comestibles (Tanada-Palmu y *col.*, 2000). En esta área, la preparación de películas antimicrobianas y recubrimientos comestibles es de creciente interés (Ferreira y *col.*, 2009).

La posibilidad de utilizar barreras comestibles para la extensión de la vida útil de los alimentos ha sido reconocida recientemente, debido a una serie de factores tales como legislación ambiental para el menor uso de agentes químicos, expectativas de alimentos frescos para los consumidores y la necesidad de conservación de los alimentos para una menor escasez (Arvanitoyannis y *col.*, 1998; FAO, 1993).

La creciente demanda de productos de alta calidad y listos para comer con una vida de anaquel más larga contribuye al desarrollo de nuevas tecnologías de procesamiento que aseguren que el producto conserva propiedades naturales y que la apariencia no haya sido alterada significativamente (Kokoszka y Lenart, 2007).

2.1 Biopelículas, recubrimientos y películas comestibles

Los biopolímeros son obtenidos a partir de fuentes renovables. Se clasifican en: a) obtenidos de materiales naturales (plantas, un ejemplo es el almidón, la celulosa y las proteínas como el gluten de trigo); b) polímeros producidos por síntesis a partir de monómeros de materiales biológicos (un ejemplo son los biopoliésteres a partir de monómeros de ácido láctico⁶); c) polímeros producidos por microorganismos o modificación genética de las bacterias (ejemplo son los copolímeros como polihidroxiisobutirato, hidroxisobutirato y el hidroxivalerato).

⁶ Estos monómeros se obtienen a partir del proceso de biodegradación de hidrocarburos

Sus aplicaciones son prácticas; sin embargo, la tecnología de producción es limitada y de alto costo (Kokoszka y Lenart, 2007).

Las películas comestibles se definen como una capa delgada de material que puede ser consumido y proporcionan una barrera a la humedad, al oxígeno y al movimiento de solutos en el alimento (Bourtoom, 2008). También logran la retención del aroma y otras aplicaciones específicas útiles entre el alimento y el ambiente (Ferreira y *col.*, 2009). Las propiedades de las películas comestibles pueden ser fuertemente afectadas por condiciones ambientales, como la humedad relativa (Tanada-Palmu y *col.*, 2000).

Durante la fabricación de la película comestible, sus componentes se pueden dispersar o disolver en un solvente como agua, alcohol o una mezcla de ambos o de algunos otros solventes para la preparación de la biopelícula. Algunos componentes utilizados también en la preparación de películas comestibles son hidrocoloides (como proteínas, polisacáridos y alginatos), lípidos (como ácidos grasos, triacilgliceroles, ceras) (Bourtoom, 2008) y algunos otros compuestos como plastificantes (polioles) (Arvanitoyannis y *col.*, 1998).

Los recubrimientos comestibles consisten en una capa delgada de material que se forma alrededor de los productos alimenticios como película y pueden ser aplicados directamente sobre la superficie como protección y para preservación de la calidad del producto y la estabilidad del mismo. Las propiedades del recubrimiento comestible están determinadas por las propiedades específicas del producto (contenido de agua y los cambios durante su almacenamiento).

La principal razón para la investigación de los recubrimientos comestibles es reducir el volumen de residuos mediante el uso de envases de origen natural que sustituyan a los materiales sintéticos y que ofrezcan una solución contra la pérdida de la calidad, es decir, pérdida de vapor de agua, oxígeno y vitamina C (Kokoszka y Lenart, 2007).

2.1.1. Diferentes tipos de películas comestibles con materiales de interés en la industria alimentaria

El uso de diferentes materiales en la elaboración de recubrimientos comestibles ha promovido el empleo de diversos materiales. La Tabla 2.1 presenta algunos de ellos.

Tabla 2.1. Propiedades y materiales de las biopelículas

Material del recubrimiento o película comestible	Propiedades de la biopelícula	Autor
Proteínas de suero de leche y polioles (sorbitol y glicerol)	Resistencia a la rotura y elongación, debido a la adición de polioles hay mayor flexibilidad y reduce la fragilidad	Ozdemir y Floros, 2008
Polisacáridos (gelatina) y polioles (sorbitol)	Resistencia y permeabilidad al vapor de agua, fuerza por el uso de sorbitol como plastificante	Sobral y <i>col.</i> , 2001
Mezcla de quitosana con almidón de tapioca	Acción antibacteriana, reduce permeabilidad al vapor de agua	Vásconez y <i>col.</i> , 2009
Mezcla de quitosana con natamicina	Amplía la vida útil en quesos como obstáculo en la formación de levaduras	Fajardo y <i>col.</i> , 2010

2.2. Aplicación de quitina en alimentos

En la literatura, Waliszewski y *col.* (2002) encontraron que la quitina (Sigma Chemical Co.) puede ser añadida a jarabes de soluciones con concentración de 0.01, 0.05 y 0.1% m/v (masa/volumen), para rebanadas de plátano durante su deshidratación osmótica. En este experimento se evaluaron los parámetros de color en comparación con rebanadas de plátano maduro y concluyeron que la concentración más baja producía menores cambios de color en los plátanos. Kono y *col.* (1986) propusieron usar quitina, quitosana y celulosa como suplementos dietéticos para el pez besugo (pez marino, que se encuentra en las costas), encontrando que, como en el estómago hay bacterias que degradan estos polímeros naturales, no hay aumentos en su masa corporal.

2.3. Aplicación de quitosana en alimentos

Se han propuesto también las mezclas de quitosana con algunos compuestos como polisacáridos, Vásconez y *col.* (2010) reportan el uso de una mezcla de almidón de tapioca con quitosana logrando observar un efecto antibacteriano así como permeabilidad al vapor

de agua. Chien y col. (2007) probaron diferentes concentraciones de quitosana (0 a 2.0%) en soluciones acuosas aciduladas para recubrir rodajas de mango con 20 cm de película de PVDC⁷, encontrando una mejoría de la calidad de la fruta, en los atributos sensoriales y que prolongó la vida útil del mango (*Mangifera indica L.*).

Otra aplicación de la quitosana es cuando se pone en contacto con ácido ascórbico y que sirve para la estabilización de zumos de frutas y vinos, ya que es bien sabido que el ácido ascórbico desempeña el papel de un antioxidante eficaz en los sistemas biológicos (Zoldners y col., 2005).

2.4. La fresa y su problemática en México

2.4.1. Fresa

La fresa de México, a diferencia del madroño (fruto de *Arbutus unedo L.*, ver Figura 2.1a, de la familia Ericaceae, que crece de forma silvestre, en suelos arcillosos y en suelos secos, es una planta cuyos frutos y flores salen durante los meses de invierno. En la medicina, los frutos de *A. unedo* poseen propiedades astringentes, diuréticas, antisépticas y son una buena fuente de minerales (Özcan y Haciseferogullari, 2007). Las fresas pertenecen a un género con varias especies de plantas rastreras. Su nombre deriva de la fragancia que posee (*fraga*, en latín). Son cultivadas por su fruto comestible llamado **fresa** o **frutilla**. Las variedades cultivadas comercialmente son por lo general híbridos, en especial *Fragaria x ananasa*, que ha reemplazado casi universalmente a la especie silvestre, *Fragaria vesca*, por el superior tamaño de sus frutos (Figura 2.1b).

La fresa es una fruta no climatérica, de consumo humano y los atributos sensoriales (Figura 2.2.) son aspectos importantes (el color, la textura, el olor y el balance entre la dulzura y la acidez) para definir la calidad de la fruta (Montero y col., 1996). Como fruto no climatérico, continúa con un metabolismo activo tras su recolección. Es muy perecedero, su calidad y vida útil pueden verse mejoradas por el control de los procesos de deterioro e

⁷ El policloruro de vinilideno, es una película adhesiva que pertenece a los nuevos productos de envasado y es un producto originario de China. De acuerdo con los autores noble con el ambiente, no es tóxico, es insípido, transparente, a prueba de medios ácidos y puede tolerar hasta 140°C y temperaturas bajas (-60°C), mantiene el sabor de los alimentos y cumple la legislación de los EEUU (Chien y col., 2007)

inactivación de los procesos fisiológicos (Almenar, 2005). Es muy popular debido a su buen sabor y valor nutritivo, es altamente susceptible a la descomposición microbiana y, por lo tanto, difícil de comercializar. La temperatura y la humedad relativa afectan la calidad y el aspecto de las fresas frescas (Huang y *col.*, 2009). Por ello, se han propuesto diferentes métodos para la conservación de la fresa según sus propiedades físicas (Tabla 2.3). Aunque en esta investigación no se emplea ninguno de ellos, se consideró pertinente listarlos para conocimiento de los lectores. Asimismo, los puntos que siguen son de cultura general.



Figura 2.1a. Madroño (*Arbutus unedo*)⁸



Figura 2.1b. Fresas (*Fragaria x ananassa*)⁹



Figura 2.2. Fresas empleadas en esta investigación

⁸ http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Arbutus_unedo_Corsica.jpg

⁹ http://es.wikipedia.org/wiki/Archivo:Chandler_strawberries.jpg

Tabla 2.2. Algunos métodos de conservación aplicados a las fresas

Método	Características	Autor
<i>Deshidratación osmótica</i>	Las fresas congeladas fueron deshidratadas con soluciones osmóticas con actividad acuosa (0.9). Estas soluciones contenían sacarosa, glucosa y almidón	Agnieszka y Andrzej, 2010
<i>Deshidratación por congelación y rehidratación con soluciones de azúcar</i>	Las soluciones de azúcar con diferentes concentraciones se utilizaron para reconstituir frutas secas previamente congeladas, indicando que al variar la concentración de azúcar en las soluciones da características diferentes y peculiares, como la actividad de agua, punto de congelación y firmeza	Mastrocola y col., 1998
<i>Deshidratación solar</i>	Se secaron fresas pre-tratadas con concentraciones de metabisulfito de sodio en forma de fresas enteras, en mitades, en cuartos y fresas rebanadas con forma de disco en un calentador de aire forzado con un ventilador eléctrico y se encontró que los tiempos de secado eran de 20,28, 26 y 24 horas, respectivamente. Encontrando que las fresas pre-tratadas con metabisulfito de sodio al 2% tenían alto pH y mejor relación de rehidratación y pudiéndose agregar a pasteles sin presentar algún efecto significativo sobre la aceptabilidad del producto	El-Beltagy y col., 2007
<i>Deshidratación osmótica previo secado por microondas</i>	Se usaron dos agentes osmóticos (sal y sacarosa) en fresas, variando concentraciones de las mismas, la temperatura y tiempo de inmersión fue un factor para observar un cambio midiendo la constante dieléctrica con un secado por microondas previo. Se concluyó que no hay variación en la constante dieléctrica	Changrue y col., 2008
<i>Aplicación de microondas en el secado convectivo</i>	Se encontró que a altas temperaturas se obtenía un producto firme, esto es, con estructura más rígida cuando se aplicaba aire caliente y con microondas se obtenía una disminución en tiempo de secado y un aumento de la degradación del pigmento. Sin embargo, el proceso convectivo implica cambios de coloración, pero se obtiene un producto deshidratado con mayor resistencia a la deformación y la fracturabilidad	Contreras y col., 2008
<i>Hidro-congelación osmótica. Contenido de polifenoles, perfil de volátiles y aceptación al consumidor</i>	Se evaluaron fresas congeladas e hidratadas osmóticamente y se observó la retención de compuestos y sus cualidades sensoriales. La evaluación sensorial confirmó dichos efectos crioprotectores a los no tratados mediante congelación y la muestra control. Hubo pérdida de agua en relación con la ganancia de sólidos. A 5°C se encontró que en las muestras osmohidratadas la retención de compuestos polifenólicos era mayor	Blanda y col., 2009

La fresa es en realidad un engrosamiento del receptáculo floral, no es el fruto de la planta, sino una modificación carnosa del tallo cuya función es contener dentro de ella los frutos de la planta. Por lo tanto es una infrutescencia (Figura 4.2). Cada fresa alberga entre 150 y 200 aquenios, que son los verdaderos frutos. (Monzón, 2006; Mora, 2008).

Las fresas son fuentes ricas de micronutrientes, tales como la vitamina C y compuestos bioactivos como los flavonoides, entre los que destacan las antocianinas (principalmente pelargonidina-3-glucósido y cianidin-3 glucósido), otros flavonoides (quercetina, kempferol, miricetina, catequinas y epicatequinas), taninos hidrolizables (elagitaninos) y ácidos fenólicos (Terefe y *col.*, 2009).

La fresa se caracteriza por una alta tasa de respiración (50-100 mL CO₂/kg·h), que depende de la temperatura y tiempo de almacenamiento, estado de maduración, concentración gaseosa, cantidad de etileno, etc. En cuanto a la producción de etileno, las fresas producen bajas cantidades de etileno (<0.1 µL/ kg·h a 20°C) y, como fruto no climatérico, no responde a la estimulación de etileno (hormona del crecimiento) durante su maduración (Almenar, 2005).

2.4.2. Productos industrializados y caseros a partir de la fresa

La fresa es una de las frutas más delicadas, con una vida muy corta después de la cosecha. Son transformadas en mermeladas, jugos o vinos o congeladas (Figura 2.3), para su uso posterior en postres y yogures (Terefe y *col.*, 2009).

2.4.3. Problemática de la conservación de la fresa

Las fresas son muy sensibles al deterioro de color, la textura y el sabor durante el transporte, almacenamiento y, sobre todo, procesamiento. Durante el transporte y almacenamiento son muy susceptibles al ataque de hongos. Además, la actividad de enzimas como la polifenol oxidasa y peroxidasa provoca la degradación de las antocianinas y otros polifenoles que lleva a la decoloración y, por lo tanto, un aumento en el oscurecimiento de la superficie de la fruta (Terefe y *col.*, 2009). Por ello, en esta

investigación se planteó su recubrimiento con biopelículas obtenidas de residuos de crustáceos para alargar su vida de anaquel.

2.4.4. La Nueva Viga, mercado de la “Central de Abasto”. Un problema o una oportunidad para las fresas y los camarones

En México (Figura 2.4) se cultivan anualmente un promedio de 6,446 hectáreas de fresa con una producción de 110,147 toneladas, lo que representa 4% de la producción mundial. Los principales estados productores de fresa son, como ya se mencionó, Michoacán, Baja California y Guanajuato, con un volumen de cosecha reportado en 1999 de 68,338, 32,922 y 29,077 toneladas, respectivamente.

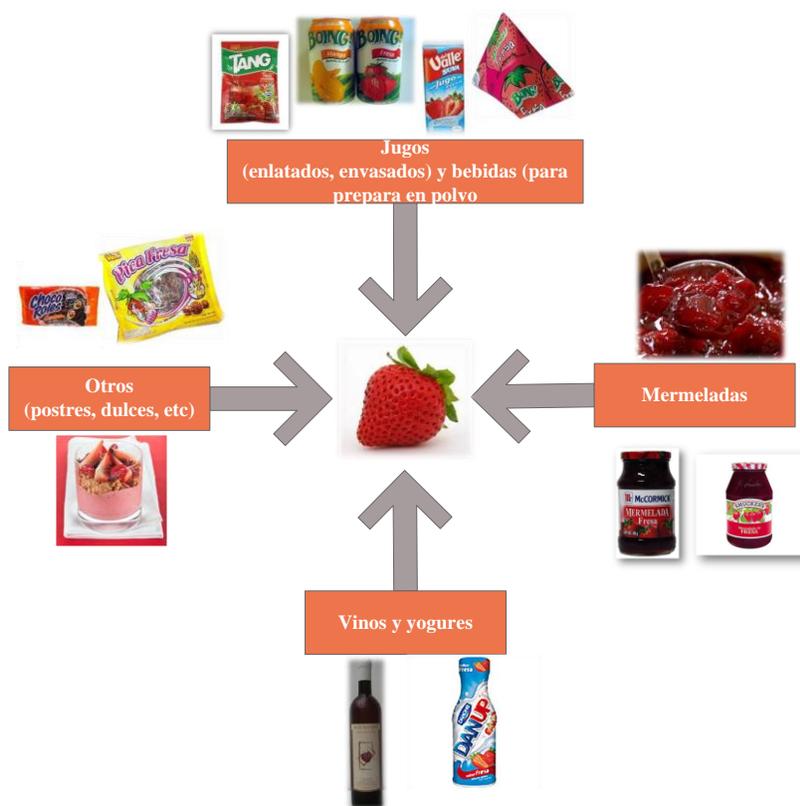


Figura 2.3. Productos derivados de la fresa (fotografías tomadas de las redes internacionales)

La producción de fresa en estos tres estados corresponde al 95% de la producción nacional. Desde hace más de tres décadas el mercado de productos congelados absorbe la mayor parte de la producción, cuyo precio en términos reales se ha depreciado. Esta tendencia se

agudiza con el surgimiento de países que ofertan fresa congelada más barata que la nacional (Velázquez y col., 2008).



Figura 2.4. Estados productores de fresa. Tomada de GECH (2002)

En el mercado denominado “Central de Abastos” de la ciudad de México en sus 327 hectáreas, que representa 51 veces el espacio del Zócalo capitalino o poco más de la mitad de la Ciudad Universitaria de la UNAM, se ubican sectores especializados que generan un movimiento económico anual superior a los 8 mil millones de dólares americanos (FICEDA, 2011). Si con proyectos como éste se lograran aprovechar, por un lado, los residuos camaroneros que se generan en la parte conocida como “La Nueva Viga”, para producir un recubrimiento que alargara la vida de anaquel de las fresas, se tendrían por otro lado, una excelente oportunidad para promover este nuevo producto que dé protección a alimentos percederos cuando estos se producen y venden a granel.

En la Central de Abastos de la ciudad de México se almacenan las fresas en diferentes empaques. Uno de ellos es de cartón (Figura 2.5), cumpliendo con un envasado tradicional para preservar el producto del exterior, evitando contaminaciones cruzadas con otros alimentos, manipulación y el ambiente. Es interesante mencionar que, aunque los materiales de empaque señalan que las fresas son de California, en realidad son mexicanas, según entrevistas con los intermediarios de la Central de Abastos. En entrevistas realizadas a los proveedores intermediarios de fresas en la Central de Abastos relató Francisco, “Panchito”, un dueño de una bodega, una teoría de que los productos se venden y se

consumen el mismo día que llegan, pues son productos que terminan en restaurantes o negocios conocidos como “puestos” de comida rápida (*fast food*).



Figura 2.5. Transporte y almacenaje de fresas en empaques de cartón

Se encontró de la literatura consultada que, por ejemplo, en la Central de Abastos de Chihuahua, Frugada, dirigida por el Sr. Carlos Gaona, por economía de transporte, sus principales proveedores de fresa son de California (EEUU) en los meses de abril-octubre, los cuales utilizan “ostras de plástico” (Figura 2.6) y, de noviembre a enero, sus proveedores son de Zamora, Michoacán, quienes manejan canastas de plástico blando (GECH, 2002).

Estos empaques permiten tener una vida de anaquel que podría alargarse si se tuvieran condiciones controladas de temperatura, humedad relativa, etc. (CODEX, 2011). Sin embargo, para controlar el empaque de las fresas con atmósferas controladas o modificadas donde el alimento se encuentre rodeado de una atmósfera preseleccionada, cuya composición base sea nitrógeno y/o dióxido de carbono, se requiere de sistemas altamente tecnificados para que la composición de esta atmósfera gaseosa se mantenga constante a lo largo del tiempo mediante un control continuo (AZTI, 2005).

Debido a esta razón, en las Centrales de Abastos de la ciudad de México y de Chihuahua no están tomando los factores de calidad de los alimentos y el producto se recibe y almacena con una inocuidad poco adecuada, con la excusa de los dueños de las bodegas que señalan que su consumo es prácticamente inmediato.



Figura 2.6. Empaques tipo “ostra”

2.4.5. Enfermedades en las fresas

Las causas de la baja productividad de la fresa en Guanajuato causadas por enfermedades son, según la literatura (Velázquez y col., 2008):

- a. Variedades extranjeras parcialmente adaptadas, susceptibles a enfermedades de la raíz y resto de la planta por *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae*.
- b. Alta incidencia de enfermedades de la raíz y resto de la planta, causadas principalmente por *Fusarium oxysporum* y en menor grado *Verticillium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, etc., y virus.
- c. Falta de un programa para la generación de planta de fresa certificada.
- d. Amplia incidencia de pudriciones de la fruta por *Colletotrichum spp.*, *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cactorum*.
- e. Falta de un programa de difusión y transferencia de tecnología en fresa.
- f. Enfermedades causadas por un complejo de hongos del suelo, encontrando por su patogenicidad y frecuencia a los géneros: *Fusarium*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Rhizoctonia* y *Phytophthora*.

2.4.6. Cultivo de la fresa en México

El cultivo de la fresa en México ha cobrado una gran importancia a partir del año 2000; con la adopción de nuevas tecnologías, como los sistemas de riego por goteo, acolchado plástico y macrotúnel (Figura 2.7) con cobertura plástica, lo que ha permitido incrementar los rendimientos notablemente (CONAFRESA, 2008).



Figura 2.7. Macrotúnel con cobertura plástica para fresa. Tomada de CONAFRESA (2008)

Se han propuesto diversos sistemas de producción (Tablas 2.3 a 2.5) de fresa en Michoacán, México. Estos tienen como objetivo mejorar la calidad de la fresa y así posicionarla en el mercado internacional para lograr exportarla.

Tabla 2.3. Sistemas tradicional de producción de fresa en Zamora, Michoacán (CONAFRESA, 2008)

Sistema de Producción	Descripción	Figura
A) Sistema Tradicional	<p>La fruta se desarrolla sobre la tierra y por lo tanto tiene contacto con el agua de riego.</p> <p>El rendimiento por hectárea es variable y depende en gran medida de la disponibilidad de agua y de las variaciones climáticas que se presenten en las áreas productoras, así como de las condiciones propicias para la aparición de plagas y enfermedades, aunque el promedio de producción se puede ubicar en 26 Ton de fresa/hectárea, cuya calidad es variable, por lo que su destino en el mayor de los casos es la industria y el mercado nacional. El periodo de producción se limita a los meses de noviembre–mayo</p>	

Tabla 2.4. Sistema de tecnología mediana de producción de fresa en Zamora, Michoacán (CONAFRESA, 2008)

<i>Sistema de Producción</i>	Descripción	Figura
<i>B) Mediana Tecnología</i>	<p>Se caracteriza por el uso de riego tecnificado, particularmente riego por goteo, utilizando aguas superficiales o aguas subterráneas. Utilizan cubiertas plásticas para el acolchado, con lo que hay un mejor uso de la radiación solar y protección a la planta de fresa, así como menor presencia de malezas y por lo tanto se utiliza menor cantidad de herbicidas, se obtiene un ahorro de agua de un 60% en comparación con el riego superficial. En este caso, la fruta se desarrolla sobre el acolchado, existe menor riesgo de que tenga contacto con el agua de riego y por consecuencia se abate el riesgo de enfermedades fungosas o bacterianas y la contaminación por tierra o microorganismos patógenos para el consumidor. El rendimiento promedio mediante este sistema de producción, está en el orden de 32 Ton/ha de fresa con calidad más uniforme en comparación con el sistema tradicional. De acuerdo con la selección de la fruta, la de primera calidad se destina al mercado de exportación en fresco; la segunda al mercado nacional y para la industria</p>	

Tabla 2.5. Sistema de alta tecnología de producción de fresa en Zamora, Michoacán (CONAFRESA, 2008)

<i>C) Alta Tecnología</i>	<p>Es un sistema cuyo uso en México se limita actualmente a los municipios de Tangancícuaro, Jacona y Zamora en el estado de Michoacán</p> <p>En este sistema se utilizan principalmente aguas subterráneas, agua superficial limpia de manantial, río y presas, en estos últimos casos acondicionadas con algún desinfectante; su aplicación es mediante el fertirriego, se emplea el acolchado y la totalidad de la superficie está cubierta con lonas plásticas. La fresa se desarrolla debajo de un macrotúnel, sobre la superficie con acolchado, nunca toca el suelo y no entra en contacto con el agua de riego; al haber condiciones protegidas se mejora el manejo fitosanitario y la fruta que se obtiene es de calidad de buena a excelente. Mediante este sistema se mejora extraordinariamente el rendimiento, al obtener entre 70 y 90 Ton/ha y el periodo de cosecha se prolonga de noviembre a agosto del año subsecuente. En este sistema de producción el margen de utilidades permite el acceso a la asistencia técnica especializada, capacitación y mejora de la infraestructura para la producción</p>	
---------------------------	--	--

Capítulo 3. Metodología

Esta investigación partió de la base de la separación del exoesqueleto y cefalotórax de camarón de la mezcla de quitina y quitosana (Sarabia-Bañuelos, 2011) por química verde. El diagrama de flujo que se presenta en la Figura 3.1 indica las etapas seguidas, tanto para una temperatura ambiente como para una de refrigeración. El control de quitosana se disolvió en agua destilada acidulada con dos tipos de ácidos, acético y ascórbico. Este último ácido solamente se usó en condiciones de refrigeración. El control de quitina se disolvió usando el disolvente patentado por la UNAM, MAC-141[®].

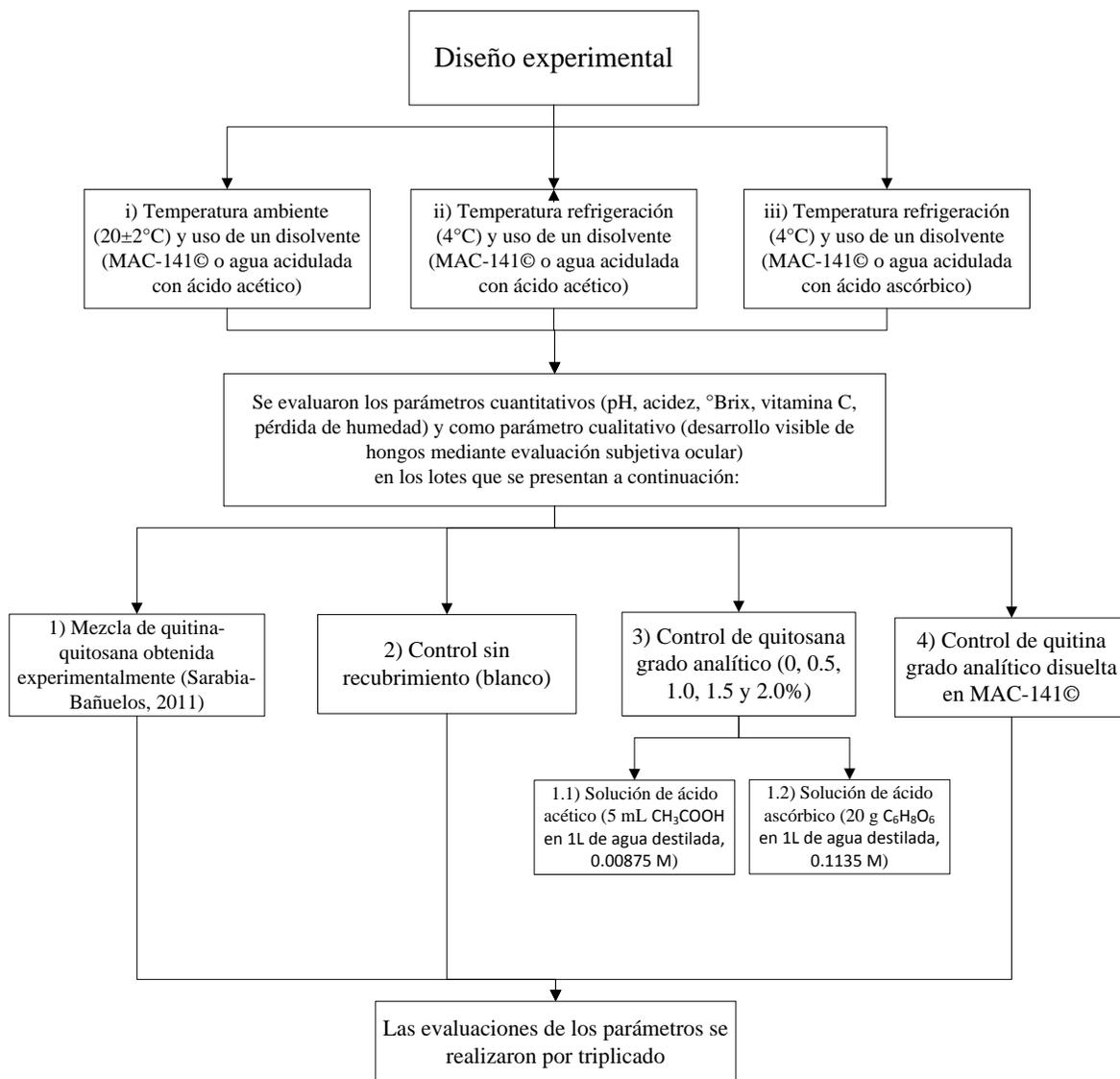


Figura 3.1. Diagrama de flujo para los diseños de experimentos a dos diferentes temperaturas [T. ambiente (20±2°C) y T. refrigeración (~4°C)] empleando los siguientes parámetros de seguimiento: %Humedad, pH, %acidez, °Bx y vitamina C

A continuación se presenta el diseño experimental para: a) la comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) empleando el disolvente MAC-141[©] y un control sin película (blanco) a las dos temperaturas en estudio (ambiente y refrigeración, Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) empleando el disolvente MAC-141[©] y un control sin película (blanco)

Película	T ₁ (Temperatura ambiente, 20±2°C)	T ₂ (Temperatura refrigeración, ~4°C)
Q-Qn (extraída de residuos de camarón)	▶	▶
Sin película	▶	▶

▶ Variables: %Humedad, pH, %acidez, °Bx y vitamina C

Como una comparación a los trabajos encontrados en la literatura, en esta investigación se hizo también una comparación con los datos obtenidos de controles adicionales, uno de quitosana disuelta en agua destilada acidulada con dos diferentes ácidos (acético y ascórbico) y uno de quitina disuelta en MAC-141[©], a las dos temperaturas en estudio (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Comparación entre lotes control de fresas con biopelícula de quitina Sigma-Aldrich disuelta en MAC-141[©] (Q-S) y quitosana grado analítico Sigma-Aldrich (Qn-S) a las dos temperaturas (20±2 y ~4°C) en estudio

Película	T ₁ (Temperatura ambiente, 20±2°C)	T ₂ (Temperatura refrigeración, ~4°C)
Quitina disuelta en MAC-141 [©]	▶	▶
Qn	Ácido acético (%)	▶
	0.5	▶
	1.0	▶
	1.5	▶
	2.0	▶
	Ácido ascórbico (%)	▶
	0	▶
	0.5	▶
	1.0	▶
	2.0	▶

▶ Variables: %Humedad, pH, %acidez, °Bx y vitamina C

3.1. Extracción de la mezcla de polímeros naturales quitina-quitosana (Q-Qn)

En una investigación previa (Sarabia-Bañuelos, 2011) se desarrolló la siguiente metodología: a 1g de cefalotórax de camarón parcialmente desproteínizado (CPD, ver *1.4. Extracción de CPD del Anexo I*) se le adicionaron 10g de MAC-141[®] (metanol-agua-cloruro de calcio, ver *1.5. Preparación del disolvente del Anexo I*). Las muestras se sonicaron con 0.5 pulsos/segundo durante 10 minutos. Posteriormente se filtraron en un equipo Millipore (Figura 3.2a) y la solución extraída se vertió en cajas Petri de vidrio, las cuales se colocaron en una cámara con la atmósfera saturada de agua (Figura 3.2b), para que el calcio del disolvente MAC[®] presente en la película se solubilice y de esta manera poder retirar la mayor cantidad de iones calcio del polímero de quitina. La película permanece en la cámara de humedad el tiempo necesario hasta que ésta se observa cristalina ya que de esta manera es manipulable para ser aplicada como biopelícula sobre la superficie de la fresa (Figura 3.3).



Figura 3.2a. Película filtrada en equipo Millipore



Figura 3.2b. Películas en cajas Petri en una cámara con atmósfera modificada (mayor humedad relativa)



Figura 3.3. Extracción de polímeros obtenidos de cefalotórax y exoesqueleto de camarón

3.2. Elaboración de las películas usadas como controles (quitosana y quitina Sigma Aldrich)

3.2.1. Quitosana Sigma Aldrich (Qn-S)

Se prepararon las soluciones de quitosana Sigma Aldrich (85% desacetilación) disolviéndola en agua acidulada con ácido acético o ácido ascórbico a diferentes concentraciones (0, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0% de quitosana), disolviendo las cantidades y

volúmenes mostrados en la Tabla 3.3. Éstas se vertieron en vasos de precipitados de 250 mL de capacidad con agitación continua para homogeneizar y eliminar las burbujas de la solución.

Tabla 3.3. Cantidades de quitosana y volumen de ácido (acético o ascórbico) adicionado para cada película a diferentes concentraciones

Biopelícula de quitosana [%]	Masa de quitosana [g]	Volumen de ácido acético al 0.5% en volumen* [mL]	Volumen de ácido ascórbico al 2.0% en volumen* [mL]
0	0	50	50
0.5	0.25	50	50
1.0	0.50	50	50
1.5	0.75	50	50
2.0	1.0	50	50

*Estas concentraciones se basaron en pruebas preliminares para garantizar la solubilidad de la quitosana

3.2.2. Quitina Sigma Aldrich (Q-S)

Para preparar la película de quitina Sigma-Aldrich se pesaron 30 mg y se disolvieron en 10 mL de MAC-141[®]. Ésta se llevó agitación para solubilizarse en el MAC-141[®] y una posterior homogenización en el mortero con el objetivo de liberar remanentes de agua y calcio en solución (Figura 3.4). Se realizó el mismo procedimiento que en la Sección 3.1. Se prepararon las cantidades necesarias para recubrir los lotes de fresas establecidos en el diseño experimental.

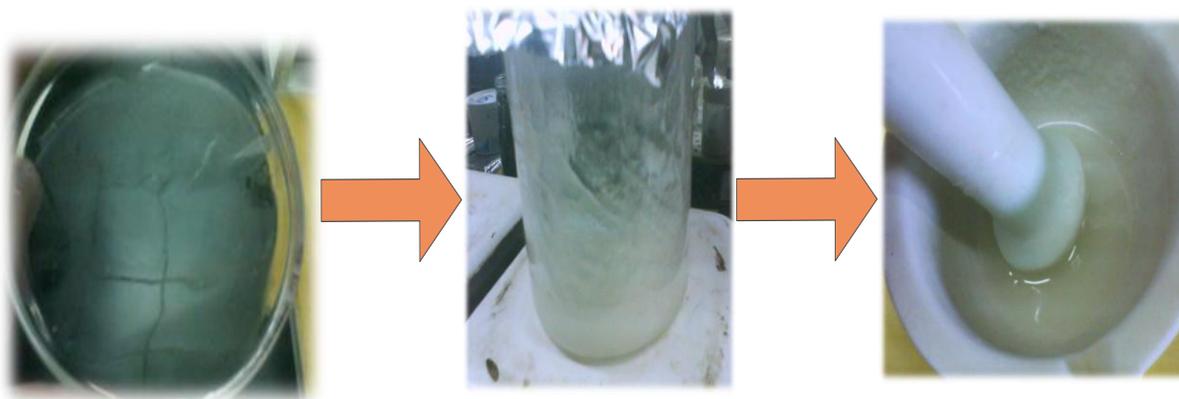


Figura 3.4. Elaboración de película de quitina Sigma-Aldrich (Q-S) disuelta en disolvente MAC-141[®]

3.3. Selección de la fruta

Se consideraron los aspectos para la selección de la fruta especificados en la Tabla 3.4.

Tabla 3.4. Aspectos a considerar para selección de la fruta

Aspecto	Característica
<i>Homogeneidad en masa</i>	Se pesa la fruta y, conforme a su masa, se ordena de mayor a menor masa, con la finalidad de homogenizar el lote a estudiar
<i>Maduración</i>	Se visualiza por color, de 75 hasta el 100% roja en cada fruta
<i>Daño físico</i>	Los frutos no deben presentar visualmente: Pudrición, magullamiento, grietas o heridas en la superficie

3.4. Parámetros cuantitativos de seguimiento para el comportamiento de la fruta con respecto del tiempo

De acuerdo con la Figura 3.1, el diseño experimental consideró como variables de respuesta respecto del tiempo de almacenamiento a la pérdida de humedad, posibles cambios en el pH, la acidez titulable, la determinación del contenido de sólidos solubles medidos como grados Brix y el contenido de vitamina C. A continuación se señalan los métodos utilizados.

3.4.1. Pérdida de humedad, medida en masa¹⁰ (g)

Se pesa la fruta fresca en una balanza analítica Sartorius modelo TE1245 y se registra la masa individual diariamente a la misma hora, observando la pérdida de humedad en relación con la masa inicial. Se realizaron las mediciones por triplicado y los resultados se reportaron en porcentaje.

3.4.2. Determinación de pH

Se determinó el valor del pH con ayuda de un potenciómetro modelo Orion 720-A7. Se colocan 10 g de muestra en una licuadora o mortero, se agregan 100mL de agua destilada,

¹⁰ El **peso**, en física, es la medida de la fuerza que ejerce la gravedad sobre la masa de un cuerpo. Normalmente, se considera respecto de la fuerza de gravedad terrestre. El peso depende de la intensidad del campo gravitatorio, de la posición relativa de los cuerpos y de la masa de los mismos. La **masa** es una propiedad característica de los cuerpos: la cantidad de materia, y no depende de la intensidad del campo gravitatorio, ni de su posición en el espacio. Por ejemplo, una persona de 60 kg de **masa**, pesa 60 **kg-fuerza** en la superficie de la Tierra; pero, la misma persona, en la superficie de la Luna pesaría sólo unos 10 **kg-fuerza**; sin embargo, su masa seguirá siendo de 60 kg. Las unidades de **peso** y **masa** tienen una larga historia compartida, en parte porque su diferencia no fue bien entendida cuando dichas unidades comenzaron a utilizarse. Cotidianamente, el término "peso" se utiliza a menudo *erróneamente* como sinónimo de masa. La unidad de masa del SI es el kilogramo, kg

se filtra la suspensión para obtener una solución y se sumerge el electrodo en dicha solución. Se realiza el procedimiento por triplicado. Para ajustar y calibrar el potenciómetro ver el Apartado 1.1. Calibración del potenciómetro, en el *Anexo I*, basado en la norma mexicana NMX-F-317-S-1978 (DOF, 1978).

3.4.3. Determinación de acidez titulable

Se pesan 10 gramos de la muestra y se colocan en un matraz aforado Erlenmeyer de 100 mL de capacidad, se afora con agua destilada y se agita vigorosamente; posteriormente, se vacía en un vaso de precipitado, se agrega como indicador fenolftaleína de 0.5 a 1.0 mL y la muestra se titula con solución normalizada de hidróxido de sodio (0.1N), que se agrega hasta que el viraje a rosa tenue persista por 15 segundos (González-L. y col., 2009).

3.4.4. Determinación de grados Brix

Se midieron los °Bx a las muestras en estudio (fresas) con ayuda de un refractómetro modelo ATAGO-ATC-1, se coloca el refractómetro en posición horizontal para que difunda la luz natural o cualquier forma de luz artificial. Se coloca agua a 293 K (20°C) a través de los prismas. Se limpia cuidadosamente el refractómetro con alcohol etílico antes de hacer la lectura. Se abre el doble prisma girando el tornillo correspondiente y se ponen unas gotas de muestra sobre el prisma, cerrando y ajustando finamente. Ver Punto 1.2. Calibración del refractómetro, en el *Anexo I* (DOF, 1982).

3.4.5. Determinación de Vitamina C

Se pesan 200 a 250 mg de muestra (fresa), se colocan en un matraz aforado de capacidad de 100 mL y, posteriormente, se les adiciona agua destilada hasta llegar a la línea de aforo. Tomando alícuotas de 10 mL de la muestra, se titulan con una solución de 2,6-diclorofenol indofenol valorada (apartado 1.3.3 del *Anexo I*) con una solución patrón de vitamina C (apartado 1.3.2 del *Anexo I*). Se realizó por triplicado. Ver Reactivos y soluciones para la determinación de Vitamina C, en el *Anexo I* (AOAC, 2006; González-L. y col., 2009).

3.5. Evaluación cualitativa de seguimiento para el comportamiento de la fruta con respecto del tiempo

3.5.1. Microscopía estereoscópica y desarrollo visible de hongos (evaluación subjetiva ocular)

En un microscopio estereoscópico (Optymus modelo 7A2) se observaron las diferentes zonas de la fruta, evaluando la presencia de hongos, el deterioro de la superficie de la muestra (fresa) y la homogeneidad de la película en la superficie de la fresa.

3.5.2. Preparación en fresco para observación de hongos

Se colocó una gota de lactofenol azul de algodón sobre un portaobjetos, utilizando un asa microbiológica, se tomaron muestras del hongo desarrollado sobre la superficie de la fresa y enfocando con el objetivo de 10x, se observó el campo y se mejoró con objetivo de 40x hasta enfocar de la mejor manera la posible morfología del hongo (Ramírez-G. y *col.*, 2008).

3.6. Aplicación de las biopelículas (quitina y quitosana)

Las películas obtenidas se aplicaron por el método de cepillado (usando una brocha), ya que ésta permite utilizar una menor cantidad de polímero que por inmersión, abarcando la totalidad de la superficie de la fresa.

3.7. Lotes de fruta

Las muestras de fresa (*Fragaria x ananassa*) variedad “Diamante” se adquirieron en la “Central de Abastos” de la ciudad de México, con un costo de \$200 pesos mexicanos/caja de 8 kg de fresa (\$25.00 pesos mexicanos/kg; Figura 3.5).

Se lotificaron las fresas [acordes con las concentraciones indicadas en la Figura 1 para las dos temperaturas, ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) y refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$)].

Se colocaron 15 frutas para cada sistema en charolitas de plástico de manera individual, previamente pesadas. Los sistemas en estudio fueron quitina-quitosana de residuos de

camarón, control de quitina Sigma Aldrich, controles de quitosana con los dos ácidos a las diferentes concentraciones 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0%, control sin recubrimiento).

Se realizó el seguimiento diario de cada uno de los lotes durante los días que fueron pertinentes hasta detectar la presencia de hongos observada visualmente.

En el caso de los experimentos en refrigeración se colocaron en un cuarto frío ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) y se identificaron los diferentes sistemas de estudio ya mencionados anteriormente con su etiqueta correspondiente (Figura 3.6), ya no se midieron las variables de seguimiento una vez detectada la presencia de hongos pero sí se siguió la observación visual por un par de días más.



Figura 3.5. Fruta adquirida en la Central de Abastos de la Ciudad de México para los experimentos



Figura 3.6. Lotes de fresas con los diferentes sistemas de estudio en un cuarto frío ($\sim 4^{\circ}\text{C}$)

3.8. Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos se usó un programa de cómputo (Statgraphics versión 5.1) con variables independientes (días y recubrimientos) y variables dependientes (pérdida de humedad, pH, acidez titulable, grados Brix, vitamina C). Los datos del diseño del experimento se evaluaron mediante un análisis de varianza, andeva (ANOVA en inglés)¹¹.

¹¹ Análisis de varianza (*en inglés*, Multivariate Analysis of Variance)

Capítulo 4. Resultados y discusión

A continuación se presentan los resultados obtenidos en esta investigación experimental. Están divididos de la siguiente forma:

En el inciso 4.1 se presenta la obtención de las mezclas de quitina-quitosana a partir de residuos de camarón (Q-Qn).

En el inciso 4.2 se da una tabla integral sobre los resultados obtenidos en esta investigación.

En el inciso 4.3 se presenta la comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) empleando el disolvente MAC-141[®] y el control sin película (blanco) a las dos temperaturas en estudio (ambiente y refrigeración).

En el inciso 4.4 se presenta la comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina grado analítico (Sigma) disuelta también en el disolvente MAC-141[®] a las dos temperaturas en estudio (ambiente y refrigeración).

Los incisos 4.5 a 7 muestran los resultados de los controles adicionales que se probaron en esta investigación para poder compararlos con la información señalada en la literatura. Estos fueron: (i) Quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración (inciso 4.5). (ii) Comparación de la quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración a diferentes concentraciones de quitosana (inciso 4.6). (iii) Quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración a diferentes concentraciones de quitosana (inciso 4.7).

Por último, se presentan los resultados obtenidos de las observaciones visuales (desarrollo visible de hongos/evaluación subjetiva ocular) en el inciso 4.8.

4.1. Obtención de mezclas de quitina-quitosana a partir de residuos de camarón (Q-Qn)

De acuerdo con los resultados obtenidos en una fase previa (Campos-Juárez y Ortega-Granados, 2010), se obtuvo un rendimiento satisfactorio, de 92.41% de quitina-quitosana, usando las condiciones establecidas por Sarabia-Bañuelos (2011). Se logró eliminar prácticamente todo el disolvente MAC-141[®]. Es importante mencionar que esta separación es crucial ya que la quitina obtenida tiende a acomplejarse con el calcio (Flores, 2008), por lo que las películas se dejaron reposar en un humidificador con el propósito de eliminar la mayor cantidad de disolvente MAC (calcio-metanol-agua) pues éste es higroscópico y para el propósito de esta investigación no es conveniente pues deshidrataría a la fresa (Figura 4.1).



Figura 4.1. Película de quitina experimental obtenida de residuos de camarón

4.2. Datos experimentales

La Tabla 4.1 presenta un resumen de toda la información experimental obtenida en esta investigación. Para los experimentos a temperatura ambiente se detectó la presencia de hongos a los 4 días y para los que se realizaron en refrigeración fue hasta los 12 días contados a partir del inicio de los experimentos. El Anexo IV presenta todos los datos experimentales para los diferentes lotes en estudio.

Tabla 4.1. Resultados obtenidos a partir de los parámetros fisicoquímicos cualitativos y cuantitativos

t	Película	T °C	%	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)	Obs. visual	
0 d	Q-Qn	20	NA	100	3.81±0.02	0.76±0.06	9.40	65.47±3.33	***	
		4	NA	100	3.71±0.00	0.87±0.07	8.80	76.77±22.70	***	
	Q-S	20	NA	100	3.40±0.02	0.93±0.09	10.83	64.80±8.73	***	
		4	NA	100	3.38±0.01	0.83±0.16	11.25	57.03±9.87	***	
	Blanco	20	NA	100	3.55±0.03	1.06±0.37	7.80	79.00±9.52	***	
		4	NA	100	3.07±0.02	0.78±0.13	9.33	105.03±20.07	***	
	Q-S-AAc	20	0	100	3.49±0.07	0.61±0.13	11.75	70.86±23.22	***	
			0.5	100	3.74±0.02	1.53±0.00	6.50	147.55±3.01	***	
			1.0	100	3.55±0.01	1.06±0.36	7.70	103.00±12.13	***	
			1.5	100	3.64±0.03	0.85±0.36	8.20	94.08±10.18	***	
			2.0	100	3.76±0.02	1.06±0.36	9.40	101.47±6.63	***	
	Q-S-AAc	4	0.5	100	3.56±0.06	0.96±0.12	6.00	63.75±17.18	***	
			1.0	100	3.54±0.03	0.87±0.03	7.20	59.51±6.44	***	
			1.5	100	3.50±0.00	0.83±0.03	7.20	87.79±35.58	***	
			2.0	100	3.50±0.00	1.08±0.01	9.50	69.72±11.76	***	
	Qn-S-AAs	4	0	100	3.01±0.02	0.85±0.07	11.21	102.93±16.17	***	
			0.5	100	3.02±0.01	0.66±0.09	8.01	96.52±31.89	***	
			1.0	100	2.93±0.01	0.68±0.07	9.01	116.28±16.44	***	
1.5			100	3.12±0.02	0.64±0.12	11.26	108.03±20.64	***		
		2.0	100	3.06±0.01	0.46±0.03	9.28	144.21±4.16	***		
4 d	Q-Qn	20	NA	52.78±2.04	3.95±0.01	0.96±0.06	12.90	58.08±0.00	*	
	Q-S		NA	41.16±10.4	3.25±0.01	1.47±0.06	23.33	73.57±3.35	*	
	Blanco		NA	39.80±10.8						*
	Qn-S-AAc		0	73.08±1.72	3.51±0.03	0.87±0.18	*	73.52±8.86	*	
			0.5	58.31±5.96	3.59±0.07	1.06±0.36	15.00	75.39±5.79	*	
			1.0	68.26±5.07	3.55±0.04	1.28±0.00	11.00	57.63±12.41	*	
			1.5	65.64±3.85	3.60±0.00	1.28±0.00	11.30	69.52±5.79	*	
			2.0	70.08±3.27	3.67±0.03	1.06±0.37	8.90	58.65±17.59	*	
11 d	Qn-S-AAc	0.5	64.74±9.95	3.37±0.00	0.89±0.01	9.66	49.16±6.55	***		
		1.0	67.68±8.16	3.39±0.06	1.06±0.07	13.90	59.49±6.64	***		
		1.5	66.53±9.72	3.51±0.00	0.89±0.06	16.15	61.47±16.30	***		
		2.0	60.40±10.3	3.40±0.00	1.34±0.22	21.00	59.25±3.92	***		
12 d	Q-Qn	4		58.47±4.14	3.84±0.01	1.00±0.26	18.21	40.71±6.41	***	
			Q-S		51.91±6.15	3.33±0.00	1.28±0.16	30.12	85.46±5.69	***
			Blanco		63.64±9.49	3.17±0.01	0.74±0.13	14.82	79.61±6.72	***
	Qn-S-AAs		0	63.87±9.60	3.44±0.01	0.74±0.16	16.18	56.88±5.68	***	
			0.5	59.04±3.37	3.28±0.02	0.57±0.11	19.62	76.32±8.74	***	
			1.0	66.04±3.82	3.38±0.02	0.66±0.03	20.53	89.50±16.49	***	
			1.5	73.66±1.97	3.40±0.00	0.57±0.11	20.96	101.62±13.54	***	
			2.0	71.81±1.24	3.33±0.02	0.59±0.03	18.16	82.80±12.02	***	

(a) En el refractómetro no se podían realizar las tres lecturas porque la muestra se deshidratava rápidamente

(*) No se reportó debido a que presentaban hongos observables visualmente

(***) Excelente estado (ningún defecto observado visualmente)

(NA) No aplicó

4.3. Comparación entre fresas con biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un control sin película a las dos temperaturas en estudio (ambiente y refrigeración)

4.3.1. Pérdida de humedad medida en masa

La conservación de humedad en la fruta a temperatura ambiente para la película de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax de camarón muestra diferencia significativa con respecto del blanco sin recubrimiento (Anexo VI, Gráfico 1). Chen y colaboradores (2011) estudiaron la influencia de un aumento significativo de calcio (CaCl_2) y señalaron que tiene propiedades positivas en la fresa, ya que inhibe la pérdida de masa, fortalece las redes celulares (entre las moléculas de pectina) y mejora la calidad postcosecha en la fruta. El cambio de temperatura en refrigeración y la cantidad de calcio remanente que formarían un complejo con la quitina presente en los lotes de fresas con la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax de camarón ayudaría a explicar una conservación con respecto de los lotes de fresa que no se vieron beneficiados con biopelícula (blanco).

En estudios anteriores, realizados por Flores (2004), se reportó la extracción de quitina con un disolvente que contiene MeOH (metanol) y CaCl_2 (cloruro de calcio). El metanol al poseer una constante dieléctrica más alta puede disolver el cloruro de calcio para ingresar al complejo de quitina y destruir los enlaces de hidrógeno entre moléculas, para formar el complejo soluble sal-quitina. Es por esta razón que la mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax de camarón usando el método propuesto por Flores (2004, 2008) y modificado por Sarabia-Bañuelos (2011), para incluir la sonicación, explica cómo la quitina forma un complejo con el calcio. Al aplicar la quitina con calcio residual se observan sobre la superficie de los lotes de fresas puntos blancos y cúmulos de burbujas, visible gracias a la microscopía estereoscópica (Ver Anexo II y III, Esquema 7).

En el Anexo V (Tabla 1) se muestra el análisis de varianza (ANOVA, en inglés). Para este análisis se consideró una comparación entre los lotes con la biopelícula en estudio (una mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de

camarón, Q-Qn) y un blanco sin película a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos de biopelículas película de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y el blanco. Los recubrimientos que se encuentran a temperatura de 4°C , la película de Q-Qn y el blanco conservan mejor a la fresa, y entre ellos el blanco a 4°C favorece la pérdida de humedad. Lo mismo ocurre con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y el blanco que se encuentran a temperatura de $20\pm 2^\circ\text{C}$. En este caso, la fresa con biopelícula Q-Qn muestra ser un recubrimiento apto para evitar la pérdida de humedad en comparación del blanco a temperatura de refrigeración (Anexo VI, Gráfico 1). En la Tabla 4.2 se aprecia que la pérdida de humedad es menor para la biopelícula de quitina-quitosana experimental extraída de cefalotórax de camarón (Q-Qn).

Tabla 4.2. Comparación del porcentaje de la pérdida de humedad para la biopelícula de quitina-quitosana experimental extraída de cefalotórax de camarón, Q-Qn, y un blanco dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$)

Día	Porcentaje de humedad [%]			
	T. ambiente ($20\pm 2^\circ\text{C}$)		Refrigeración (4°C)	
	Q-Qn	Blanco	Q-Qn	Blanco
0	100	100	100	100
1	86.70 ± 0.90	79.07 ± 4.84	100	95.16 ± 1.73
2	73.75 ± 0.45	64.67 ± 7.74	93.53 ± 0.99	90.93 ± 2.66
3	62.16 ± 1.34	51.69 ± 9.57	88.83 ± 1.84	87.01 ± 5.70
4	52.78 ± 2.04	39.80 ± 10.82	85.09 ± 2.21	85.51 ± 4.33
5	-	-	80.83 ± 2.64	82.30 ± 5.33
6	-	-	77.61 ± 2.82	80.33 ± 5.89
7	-	-	74.25 ± 3.04	77.40 ± 6.63
8	-	-	70.20 ± 3.54	75.06 ± 7.21
9	-	-	67.68 ± 3.77	72.27 ± 7.75
10	-	-	63.70 ± 4.01	68.97 ± 8.41
11	-	-	60.90 ± 4.24	66.47 ± 8.98
12	-	-	58.47 ± 4.14	63.64 ± 9.49

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

En el caso de la fruta a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) muestra mayor duración. Se le dio seguimiento analítico hasta el decaimiento por microorganismos (12 días). El hecho de tener una menor pérdida de humedad podría atribuirse a la presencia de la fracción residual del disolvente MAC-141[®] que no pudo eliminarse de la disolución y que es muy higroscópico. Esta parte deberá estudiarse a futuro para definir los efectos positivos y negativos de tener trazas del disolvente de la solución de quitina, ya que en refrigeración hay una ligera diferencia aparentemente favoreciendo al lote blanco sobre el de Q-Qn, aunque no hay diferencia significativa entre ellos.

4.3.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales ($\bullet\text{Bx}$)

En la Tabla 4.3 se presenta, como ejemplo, la información experimental obtenida de los lotes de fresas mantenidos a dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$), tanto los recubiertos con la película en estudio (Q-Qn) como el blanco (control sin película) para pH y % de acidez.

En el Anexo IV (Tablas 2, 3) se visualizan los datos de pH y % de acidez, respectivamente. Se observa que las fresas con recubrimiento de la mezcla de quitina-quitosana experimental obtenida de cefalotórax-exoesqueleto de camarón tienen un mayor valor de pH en el día 1.

En la literatura investigada, Flores (2004) explica que el complejo resultante proteína-quitina gana considerable estabilidad y confiere a la estructura dureza, rigidez y resistencia para la hidrólisis enzimática. Según este autor, la N-acetilglucosamida y la quitina pueden reaccionar con α -aminoácidos, especialmente tirosina, péptidos y proteína cuticular, para dar complejos estables y disociables a cambios de pH altos. Esto podría explicar el aumento del pH en el día 1 para los recubrimientos con la mezcla de quitina-quitosana experimental obtenida de cefalotórax-exoesqueleto de camarón y posterior al día 2 se estabiliza en un pH de rango menor a 3.9.

Doyle y colaboradores (2000) mencionan que los intervalos para el pH de las fresas están entre 3.0 y 3.9, por lo que los datos de esta investigación concuerdan con esa información.

Tabla 4.3. Comparación del decremento de la acidez y aumento en el pH, para una fresa recubierta con la mezcla de quitina-quitosana experimental, Q-Qn, y el blanco (20±2 y ~4°C)

Día	pH		Porcentaje de acidez [%]		pH		Porcentaje de acidez [%]	
	Refrigeración (4°C)				T. ambiente (20±2°C)			
	Q-Qn	Blanco	Q-Qn	Blanco	Q-Qn	Blanco	Q-Qn	Blanco
0	3.71±0.00	3.07±0.02	0.87±0.07	0.78±0.13	3.81±0.02	3.55±0.03	0.76±0.06	1.06±0.37
1	4.14±0.03	3.20±0.04	1.04±0.36	0.81±0.07	4.34±0.04	3.32±0.02	0.72±0.18	1.06±0.37
2	3.78±0.12	3.25±0.18	0.98±0.03	0.72±0.16	3.63±0.04	3.41±0.03	1.55±0.28	1.06±0.37
3	3.80±0.04	3.35±0.04	0.70±0.16	0.70±0.06	3.78±0.04	3.53±0.04	1.04±0.14	1.06±0.37
4	4.00±0.03	3.21±0.06	0.92±0.20	0.68±0.07	3.95±0.01	-	0.96±0.06	-
5	3.82±0.02	3.31±0.01	0.87±0.13	0.78±0.16	-	-	-	-
6	3.71±0.02	3.21±0.02	0.96±0.06	0.74±0.03	-	-	-	-
7	3.67±0.02	3.24±0.06	0.89±0.26	0.78±0.18	-	-	-	-
8	3.78±0.01	3.32±0.05	1.13±0.19	0.68±0.07	-	-	-	-
9	3.79±0.00	3.32±0.00	0.89±0.12	0.89±0.06	-	-	-	-
10	3.77±0.00	3.10±0.02	0.98±0.09	0.59±0.03	-	-	-	-
11	3.77±0.02	3.47±0.03	1.36±0.13	0.66±0.03	-	-	-	-
12	3.84±0.01	3.17±0.01	1.00±0.26	0.74±0.13	-	-	-	-

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

En el Anexo V (Tablas 2 y 3) se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos de variación en el pH y % de acidez. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un blanco sin película a las dos diferentes temperaturas (20±2 y ~4°C) y se observó que entre ellos sí hubo diferencia significativa a las dos temperaturas ($p < 0.05$) para el valor de pH.

En el caso del pH, la fruta recubierta con la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura de refrigeración y ambiente muestra no haber diferencia significativa ($p < 0.05$), lo mismo ocurre en el lote de fresas control (blanco). Por lo cual, se le dio seguimiento analítico hasta el decaimiento por microorganismos (hasta los 12 días).

Para la acidez, se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado fue menor que el nivel de significancia deseado ($p < 0.05$) para la película de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón que se encuentra a las dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$). Por tanto, no hay diferencia significativa. En este caso, la fresa con biopelícula de Q-Qn muestra ser un recubrimiento que no presenta variación del pH y en el % de acidez.

En el Anexo IV (Tabla 4) se presenta la información obtenida de los sólidos solubles totales medidos como grados Brix. En el Anexo VI (Gráfico 4) se presenta la diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) y se observa que entre los lotes de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a las dos diferentes temperaturas sí hubo diferencia significativa ($p < 0.05$). También se encuentra diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el blanco a las dos temperaturas. El contenido de sólidos ($^\circ\text{Bx}$) fue menor para los lotes de frutas recubiertas con respecto del blanco.

Gössinger y colaboradores (2009) mencionan que en las fresas frescas son de alto interés comercial y el atractivo de su color es debido a la presencia de pigmentos como las antocianidinas (color rojo brillante) y dentro de ellas, la pelargonidina (rojo predominante) y cuando ésta oscurece, el tipo de pigmento presente es la cianidina (rojo oscuro, menor proporción en una fruta fresca). La falta de una técnica de conservación hizo que la fruta no se viera beneficiada para evitar la descomposición, lo cual se observó en el lote blanco donde no hay conservación de pigmentación. Aunque en esta investigación no se partió de fresas desde la planta, en la Figura 4.2, se muestra una secuencia fotográfica de lo que ocurre cuando estos pigmentos no se forman adecuadamente.

4.3.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)

Tee y colaboradores (1988), encontraron que la vitamina C está presente de forma natural en los alimentos como ácido L-ascórbico y L-deshidroascórbico (DHAA). La forma más común es el ácido L-ascórbico, pero no se descarta la forma del DHAA ya que hay pequeñas cantidades presentes en su forma oxidada.

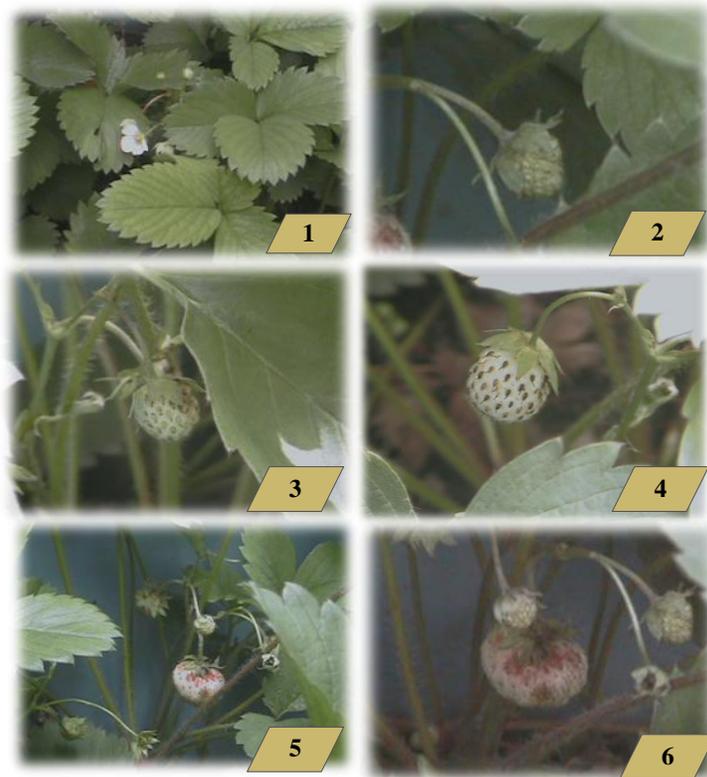


Figura 4.2. Crecimiento y estados de maduración de la fresa (secuencia fotográfica tomada por el autor en una planta cultivada en su casa)

En esta investigación solamente se cuantificó el ácido L-ascórbico. El cambio de temperatura es fundamental en la conservación de la vitamina C. En la Tabla 4.4 se observa una pérdida de este nutrimento en todos los lotes de frutas, tanto con la biopelícula de Q-Qn como en el blanco a las dos temperaturas en estudio. En el Anexo V (Tabla 5) se presenta el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para estos datos de vitamina C. Se observa que se acepta la hipótesis nula (H_0), ya que el valor P calculado es mayor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos.

Los datos del Anexo VI (Gráfico 5) muestran que no hay diferencia significativa entre el decremento de vitamina C entre las frutas con la película de Q-Qn y el blanco ($p < 0.05$) a ambas temperaturas. Es claro que la pérdida de vitamina C afecta la calidad de la fruta debido al valor nutrimental (Ortega-Granados, 2010).

En la Tabla 4.5 se resumen los resultados obtenidos.

Tabla 4.4. Pérdida de vitamina C en fresas con biopelículas de una mezcla de quitina- quitosana experimental y un blanco a dos temperaturas (20±2 y ~4°C)

Día	Vitamina C (mgAA/100g)			
	T. ambiente (20±2°C)		Refrigeración (4°C)	
	Q-Qn	Blanco	Q-Qn	Blanco
0	65.47±3.33	79.00±9.52	76.77±22.70	105.03±20.07
1	67.11±3.32	71.16±3.62	50.04±14.71	66.20±6.55
2	53.89±5.98	65.06±6.62	63.29±5.75	70.87±11.96
3	74.04±8.27	67.92±3.36	63.74±8.34	70.15±8.68
4	58.08±0.00	-	60.53±3.27	45.99±11.49
5	-	-	56.25±5.62	48.47±13.43
6	-	-	76.47±17.09	76.37±17.62
7	-	-	66.90±11.93	69.90±11.65
8	-	-	69.20±30.09	77.86±14.69
9	-	-	70.69±13.23	56.31±9.75
10	-	-	53.94±8.82	68.09±8.91
11	-	-	49.25±3.28	53.39±6.60
12	-	-	40.71±6.41	79.61±6.72

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

Nota del autor: Como se tomaba una fresa de cada lote para hacer la determinación, aunque fueron seleccionadas para que fueran homogéneas, los datos muestran cierta variabilidad debida a la individualidad de cada muestra

Tabla 4.5. Diferencia significativa de medias (p<0.05) para la comparación entre fresas con biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un control sin película a las dos temperaturas en estudio (20±2 y ~4°C)

Película	T	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)
	°C					
Q-Qn t= 4 d	20	a	b	b	a	b
	4					
Blanco t= 4 d	20	b	b	b	a	b
	4					

Nota: Letra: “a” dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$), y la letra “b” indica que no hubo diferencia significativa con respecto de su contraparte

4.4. Comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina grado analítico (Sigma) disuelta en disolvente MAC-141[®], Q-S, a dos temperaturas (20±2 y ~4°C)

4.4.1. Pérdida de humedad medida en masa

Anteriormente se mencionó que la conservación de la humedad en la fruta es importante para la película de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax de camarón y se esperaba que ocurriera lo mismo para la quitina grado analítico (Sigma-Aldrich).

En el Anexo V (Tabla 6) se muestra el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés), se deduce el rechazo de la hipótesis nula (H_0) debido a que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$). En el Anexo VI, Gráfico 6, se presenta la diferencia significativa de medias ($p < 0.05$), que muestra que hay diferencia significativa entre las dos biopelículas Q-Qn y Q-S para ambas temperaturas. Algo interesante es que ambas poseen la capacidad de retener humedad cuando se encuentran sometidas a temperatura de refrigeración. Nuevamente, esto puede deberse a la cantidad de calcio remanente que forma un complejo con la quitina y comienza un fenómeno de deshidratación en la fruta que, aunque aparentemente era muy baja, sí tiene un efecto.

Como ya se mencionó, en la literatura investigada, Chen y colaboradores (2011) estudiaron la influencia de un aumento significativo de calcio (CaCl_2) y afirmaron que se tienen propiedades positivas en la fresa, inhibiendo la pérdida de masa, fortaleciendo las redes celulares (entre las moléculas de pectina) y mejorando la calidad postcosecha en la fruta.

Este efecto se pudo observar en la fruta con biopelícula Q-Qn, ya que al contener por su propia composición una cantidad de calcio en su superficie, ayudó a retener humedad. Esto, aunado con la temperatura de refrigeración, mejoró la conservación de humedad en la fruta. El efecto también se dio con la Q-S ya que el uso del disolvente MAC-141[®] la promovió, aunque fue ligeramente menor.

Ambas películas a temperatura de refrigeración conservan mejor a la fresa que las mismas películas a temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. En el caso de los lotes de fresa con biopelícula Q-Qn, ésta muestra ser un recubrimiento apto para evitar la pérdida de humedad en comparación con el lote control de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) a refrigeración.

4.4.2. Acidez, pH y sólidos solubles totales ($\bullet\text{Bx}$)

En la Tabla 4.6 se presenta, como ejemplo, la información experimental obtenida de los lotes de fresas mantenidos a dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$), tanto de los recubiertos con la película en estudio (Q-Qn) así como del control de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) para pH y % de acidez.

Tabla 4.6. Comparación del decremento de la acidez y aumento en el pH, para una fresa recubierta con la mezcla de quitina-quitosana experimental y el control de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

Día	Refrigeración (4°C)				T. ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$)			
	pH		Porcentaje de acidez [%]		pH		Porcentaje de acidez [%]	
	Q-Qn	Q-S	Q-Qn	Q-S	Q-Qn	Q-S	Q-Qn	Q-S
0	3.71 \pm 0.00	3.38 \pm 0.01	0.87 \pm 0.07	0.83 \pm 0.16	3.81 \pm 0.02	3.40 \pm 0.02	0.76 \pm 0.06	0.93 \pm 0.09
1	4.14 \pm 0.03	3.38 \pm 0.02	1.04 \pm 0.36	1.21 \pm 0.06	4.34 \pm 0.04	3.47 \pm 0.02	0.72 \pm 0.18	1.06 \pm 0.03
2	3.78 \pm 0.12	3.41 \pm 0.00	0.98 \pm 0.03	1.15 \pm 0.06	3.63 \pm 0.04	3.57 \pm 0.01	1.55 \pm 0.28	1.62 \pm 0.03
3	3.80 \pm 0.04	3.3 \pm 0.05	0.70 \pm 0.16	1.11 \pm 0.09	3.78 \pm 0.04	3.34 \pm 0.04	1.04 \pm 0.14	1.77 \pm 0.03
4	4.00 \pm 0.03	3.39 \pm 0.02	0.92 \pm 0.20	1.19 \pm 0.09	3.95 \pm 0.01	3.25 \pm 0.01	0.96 \pm 0.06	1.47 \pm 0.06
5	3.82 \pm 0.02	3.44 \pm 0.01	0.87 \pm 0.13	1.30 \pm 0.07	-	-	-	-
6	3.71 \pm 0.02	3.36 \pm 0.04	0.96 \pm 0.06	1.30 \pm 0.16	-	-	-	-
7	3.67 \pm 0.02	3.35 \pm 0.03	0.89 \pm 0.26	1.32 \pm 0.13	-	-	-	-
8	3.78 \pm 0.01	3.32 \pm 0.02	1.13 \pm 0.19	1.11 \pm 0.16	-	-	-	-
9	3.79 \pm 0.00	3.57 \pm 0.01	0.89 \pm 0.12	1.47 \pm 0.23	-	-	-	-
10	3.77 \pm 0.00	3.29 \pm 0.01	0.98 \pm 0.09	1.00 \pm 0.22	-	-	-	-
11	3.77 \pm 0.02	3.44 \pm 0.00	1.36 \pm 0.13	1.12 \pm 0.14	-	-	-	-
12	3.84 \pm 0.01	3.33 \pm 0.00	1.00 \pm 0.26	1.28 \pm 0.16	-	-	-	-

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

En el Anexo IV (Gráfico 3, 4, 5 y 6) y Anexo IV (Tabla 5 y 6) se encuentran los datos de pH y del % de acidez, respectivamente. En el Anexo V (Tabla 7 y 8) se presenta el análisis

de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos de variación en el pH y % de acidez. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre los lotes de fruta con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el del control de quitina a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$).

El lote de la fruta a temperatura de refrigeración muestra una mayor duración con respecto del control de quitina. Se le dio seguimiento analítico hasta el decaimiento por microorganismos (hasta los 12 días). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$). En este caso, el lote de fresas con recubrimiento de biopelícula Q-Qn no muestra variación del pH y el % de acidez para las dos temperaturas. En cambio, el lote con la película de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) tiene valores de pH ligeramente menores y también presentó mayor variación en el % de acidez en comparación con el de la película Q-Qn. Los datos del Anexo VI, Gráficos 7 y 8, indican que la película de Q-Qn muestra ser diferente de la película con biopelícula de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) ($p < 0.05$) para ambos parámetros (pH y % de acidez). En la literatura, Doyle y colaboradores (2000), reportan en un rango de 3.0 a 3.9 de pH, datos similares.

En el Anexo IV (Tablas 4 y 8) se presenta la información obtenida de los sólidos solubles totales medidos como grados Brix. En el Anexo V (Tabla 9) se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos del porcentaje de °Bx. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre los lotes de biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y del control de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). En el Anexo VI (Gráfico 9) se presenta la diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) y se observa que entre los lotes de quitina grado analítico Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) a las dos diferentes temperaturas sí hay diferencia y lo mismo ocurrió con los lotes de fruta con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana experimental extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn), ya que el contenido de sólidos (°Bx) aparentemente no aumenta cuando son sometidos a

temperatura de refrigeración. Sin embargo, hay diferencia entre los lotes a temperatura de refrigeración (Q-Qn y Q-S) pareciendo indicar que no aumentaron en el lote de frutas recubiertas con biopelícula de Q-Qn.

Draye y Cutsem (2008) mencionan que, durante la maduración la fresa (*Fragaria x anananassa* Duch), ésta sufre un ablandamiento o cambio en la textura debido a los polisacáridos presentes en la pared. La vida útil está fuertemente limitada por la pérdida de firmeza debido a la degradación de la pared celular por enzimas hidrolíticas, como pectoliasas, poligalacturonasas y metilesterasas. Fennema (2000), explica que el ablandamiento se produce por la solubilización de la pectina y la liberación de poliuronidos¹², en la enzima pectinmetilesterasa, que cataliza la hidrólisis de los ésteres metílicos de la pectina, la pectinesterasa también aumenta la maduración del plátano, pero por el contrario, disminuye en la de la manzana, la guayaba, el mango y la fresa¹³. Esto se pudo observar principalmente cuando la fresa estaba en el último día de vida que visualmente hay obscurecimiento en la fruta (Figura 4.2). En el lote de fresas con la biopelícula del control de quitina (Q-S) se observan valores de 23.33 y 30.12°Bx (20±2 y ~4°C), respectivamente, y en el de la película con la biopelícula de quitina-quitosana extraída de camarón no presentaron en su superficie crecimiento de hongos (observación visual) y su valores fue de 12.90 y 18.21 (20±2 y ~4°C), respectivamente.

4.4.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)

En el Anexo IV, Tabla 5 y 10, se observa la pérdida de este nutrimento en todos los lotes de frutas, tanto con la biopelícula de Q-Qn como en el control de quitina grado analítico Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) a las dos temperatura en estudio.

Como ya se mencionó anteriormente, Tee y colaboradores (1988), indicaron que la vitamina C está presente de forma natural en los alimentos como ácido L-ascórbico y L-

¹² Este término se da a aquellos polímeros de azúcares de cadena lineal o ramificada, en los que todos o algunos de los enlaces están remplazados por ácido urónico (sustancia en la que el grupo alcoholico primario aparece oxidado a carboxilo)

¹³ Un ejemplo es el sistema de procesado de zumo de jitomate denominado “ruptura caliente” donde la inactivación de la pectinesterasa antes de la ruptura celular evita que la enzima actúe posteriormente y desesterifique la pectina. En algunos procesos se añade poligalacturonasa para solubilizar la pectina y mejorar el rendimiento den sólidos solubles

deshidroascórbico (DHAA), siendo el ácido L-ascórbico la forma más común. Como en esta investigación solamente se cuantificó el ácido L-ascórbico no se descarta la forma del DHAA ya que podría presentarse en pequeñas cantidades siendo ésta su forma oxidada.

El análisis de varianza (Anexo V, Tabla 10) se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Los datos del Anexo VI (Gráfico 10) muestran que no hay diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el decremento de vitamina C entre las frutas con la película de Q-Qn a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Los lotes de fruta con película de quitina grado analítico (Q-S) muestran diferencia significativa entre sí ($p < 0.05$) a ambas temperaturas. Como se mencionó antes, la pérdida de vitamina C sí afecta la calidad de la fruta debido al valor nutrimental (Ortega-Granados, 2010). El lote con la película Q-S tuvo menores pérdidas de este nutrimento a temperatura ambiente, aunque no se descarta el cambio de temperatura para favorecer la conservación de la vitamina C en la película de quitina Sigma-Aldrich con el disolvente MAC-141[®] (Q-S). Derossi y colaboradores (2010) mencionan que, en fresas, hay una disminución del ácido ascórbico en función del tiempo.

En la Tabla 4.7, como en el inciso anterior, se resumen los resultados obtenidos. Como una referencia a los trabajos encontrados en la literatura, a continuación se hace un análisis estadístico de los datos obtenidos en esta investigación sobre las películas elaboradas con quitosana disuelta en agua destilada acidulada con ácidos (acético y ascórbico) a las dos temperaturas en estudio.

4.5. Comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración

4.5.1. Pérdida de humedad medida en masa

La pérdida de humedad se midió por la diferencia de masa entre las fresas frescas iniciales y las mediciones subsecuentes. En el Anexo IV (Tabla 1) se presentan los resultados

obtenidos para la parte que incluye la comparación de los lotes con la película de quitina-quitosana obtenida de exoesqueleto y cefalotórax de camarón con los controles de películas de quitosana en soluciones de agua destilada acidulada con ácido acético o ascórbico de los lotes de fresas en refrigeración (4°C).

Tabla 4.7. Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre los lotes de fresas con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y el control de quitina grado analítico (Sigma) disuelta en disolvente MAC-141[®], Q-S, a dos temperaturas (20±2 y ~4°C)

Película	T °C	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)
Q-Qn t= 4 d	20	a	b	b	a	b
	4					
Q-S t= 4 d	20	a	b	a	a	a
	4					

Nota: Letra: “a” dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$), y la letra “b” indica que no hubo diferencia significativa con respecto de su contraparte

Por inspección visual, en la Figura 4.3 se observa que ninguna fresa se encontró dañada hasta el día 3; sin embargo, a partir del 6° día, las frutas presentaron manchas oscuras sobre su superficie, indicando que el ácido acético de la solución influyó, al no ser la película de quitosana una buena protectora, dañándola. ElMasry y colaboradores (2009) realizaron un estudio donde mencionan la influencia de daño por frío en manzanas (variedad *Red Delicious*) explicando cómo el daño por frío es el trastorno más común reconocido por la industria, tratándose de un daño fisiológico en membranas celulares de frutas, que puede ocurrir en cualquier momento debido a las condiciones ambientales: Durante la temporada de crecimiento, en el transporte, en el almacenamiento, en la tienda o incluso en el refrigerador de la casa. Para los días 12 a 15 (Figura 4.3), la fresa ya no presentó buena presencia visual mostrando desarrollo de hongos sobre la superficie, además del daño por frío (Figura 4.4). Por eso se consideró que la vida de anaquel era de 12 días.

En la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de Alimentos (ICMSF, 1980) se realiza una clasificación de tipos de conservadores ácidos, el ácido usado (acético) es un ácido débil lipofílico (según esta clasificación) que provoca una entrada de protones a través de la membrana celular, acidificando el interior de la célula e inhibiendo el transporte de nutrientes para los microorganismos que se desarrollan en la fruta, logrando

que estos no proliferen aunque no haya un buen control de temperatura, pero sí un medio ácido (conservador), que logre el efecto de inhibición (Figura 4.3).

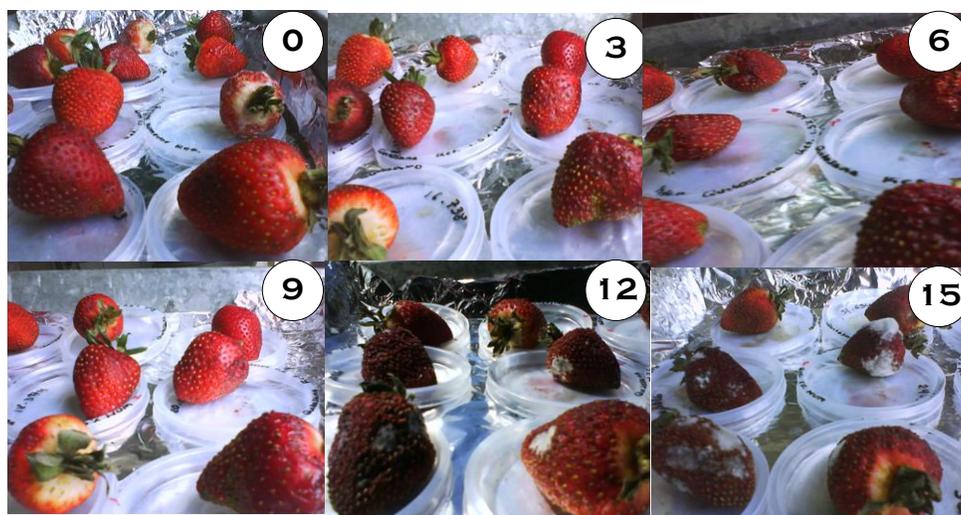


Figura 4.3. Ciclo de vida de fresas en el lote control de quitosana disuelta en agua acidulada con de ácido acético

Holcroft y Kader (1999) explicaron que el obscurecimiento de las fresas (*Fragaria x ananassa*) es debido a la estabilidad de las antocianinas puesto que son responsables del color y lo cambian después de la cosecha y el almacenamiento en atmósferas elevadas de CO₂, así como por cambios de pH (Gutiérrez-Vite y col., 2009).

También Chen y colaboradores (2011) estudiaron la influencia de un aumento significativo de calcio (CaCl₂) que tiene propiedades positivas en la fresa, ya que inhibe la pérdida de masa, fortaleciendo las redes celulares (entre las moléculas de pectina) y mejorando la calidad postcosecha en la fruta.



Figura 4.4. Fresas de los lotes control dañadas por el frío

En el Anexo VI (Gráfico 11), los datos obtenidos parecen indicar que solamente el lote de fresas con mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) presentó diferencia significativa ($p < 0.05$) con los lotes con biopelícula de quitosana en ácido acético con concentración de quitosana al 1.5%, con la biopelícula de quitosana en ácido ascórbico con concentración de quitosana al 1.0, 1.5 y 2.0% ($p < 0.05$), ya que estas biopelículas no promueven la pérdida de humedad hacia la superficie en la fresa en comparación con la película de Q-Qn, que presenta un valor de pérdida de humedad de 58.47%. En el Anexo V, Tabla 11, se presenta el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para los datos experimentales de la comparación entre con biopelículas control de quitosana en solución acuosa acidulada en ácido acético y ascórbico y la obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperaturas ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) señalándose que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$). Los datos parecen indicar que la mayoría de los recubrimientos control de quitosana son diferentes entre sí; sin embargo, los recubrimientos más representativos que permiten la retención de humedad en comparación con la biopelícula de Q-Qn son los de quitosana en solución acuosa acidulada en ácido ascórbico en concentración de quitosana al 1.5 y 2.0%. Anexo VI (Gráfico 11).

Aliste y Del Mastro (2004) mencionan que usando el ácido ascórbico al 2.0% como una película demostró ser buena protectora así como tener un efecto antioxidante, ser un agente quelante de metales y un agente de reducción. Comparados los lotes de quitosana con la película Q-Qn, de acuerdo con los datos experimentales, la película de Qn-S-AAs-1.5% afirmó ser la película con la mayor retención de porcentaje de humedad. Los valores son 58.47 y 73.66% (Anexo IV, Tabla 1), respectivamente. Al retener la cantidad de agua representada por estos contenidos de humedad, a los 12 días de vida de anaquel con una temperatura de refrigeración de 4°C . Con estos datos experimentales, se encontró que el mejor recubrimiento que permite retener agua en la fresa está representado por los controles de Qn-S-AAs al 1.5 y 2.0%.

En la Figura 4.5 se observa que no existe presencia de hongos en las fresas con las películas a diferentes concentraciones desde el inicio hasta el final del experimento para el diseño en AAs. Las fresas tienen una extensión de vida de anaquel de 15 días; sin embargo, se registran datos hasta los 12 días del experimento, debido a que a partir del décimo tercer día al decimo quinto día (la fruta visualmente parecer ser comestible, pero tal vez ya no fuera aceptable por parte de los consumidores ya que presenta deshidratación y algunas manchas oscuras).

En el Anexo III¹⁴, Esquema 1, se puede observar un ejemplo de cómo la película control de quitosana en agua acidulada con ácido ascórbico al 0.5% en concentración de quitosana evita la senescencia en la fruta. Hasta los 9 días tiene una pérdida del 30% de humedad y se observó maduración. El Masry y colaboradores (2009) explicaron cómo el daño de membrana es a menudo seguido de una cascada de efectos secundarios, tales como la producción de etileno, un aumento en la respiración, una disminución de la fotosíntesis y una alteración en la estructura celular causando en los frutos susceptibilidad a lesiones (efecto en la firmeza). Este efecto no se presenta en este diseño experimental pues se observó cómo las fresas mostraron sus oclusiones, pero todavía podrían ser aceptables al agrado del consumidor por no presentar algún daño físico como lesión en superficie o, en su caso, desarrollo microbiano (Figura 4.5, día 12).



Figura 4.5. Ciclo de vida de las fresas en los lotes control de quitosana disuelta en agua destilada acidulada con ácido ascórbico

¹⁴ Las fotografías del microscopio tienen una parte blanca que es realmente el trasfondo de la fotografía y no parte de las frutas

El ácido ascórbico a bajas temperaturas ayuda a proteger la fruta contra daño por frío. Para la película de la mezcla de quitina-quitosana experimental (Q-Qn) con calcio residual presente en dichas películas fortalece la red celular de las frutas como ya se explicó anteriormente. También la temperatura de refrigeración es considerada como un método de conservación de alimentos.

4.5.2. Acidez (g ácido cítrico/100g), pH y sólidos solubles totales (°Bx)

Los valores registrados en el Anexo IV (Tabla 2) muestran el avance de los valores de pH para lotes de fruta con las biopelículas que contenían ácidos acético, AAC, y ascórbico, AAs, y los datos graficados aparecen en el mismo anexo (Gráfico 3 y 4). Se observa un pH en el rango de 3.5 y 4.0. El seguimiento analítico de los 12 días transcurridos de pH en el diseño en AAs, se debe a que presentaron mayor duración por la influencia del medio de ácido ascórbico y, como se mencionó anteriormente, un rango de pH para las fresas de 3.0 a 3.9. El ascenso o descenso de pH también se asocia con algunos microorganismos responsables, como los mohos (ICMSF, 1980; Doyle y *col.*, 2000).

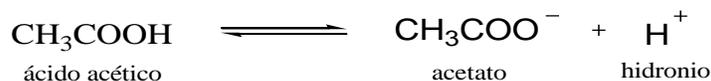
En el Anexo VI (Gráfico 12) se observa el efecto del aumento del pH con la biopelícula control de quitosana en solución acuosa acidulada en medio de ácido acético y ascórbico, donde hay diferencias significativas ($p < 0.05$). Entre los recubrimientos con quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana y la biopelícula con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn). Las biopelículas de quitosana en agua acidulada con ácido ascórbico presentaron un menor pH en comparación con el pH de las biopelículas de quitosana en solución acidulada con ácido acético. Esto se puede justificar por las propiedades del ácido ascórbico como agente reductor y como indicador de calidad (Aliste y Del Mastro, 2004; Pérez y *col.*, 2005).

En la literatura investigada, a continuación se presenta algunas posibles explicaciones de la solubilización de la Qn-S en medio acuoso acidulado. Así lo proponen Skjak-Break y colaboradores (1989) muestran como en la Reacción 1 hay una disociación del ácido

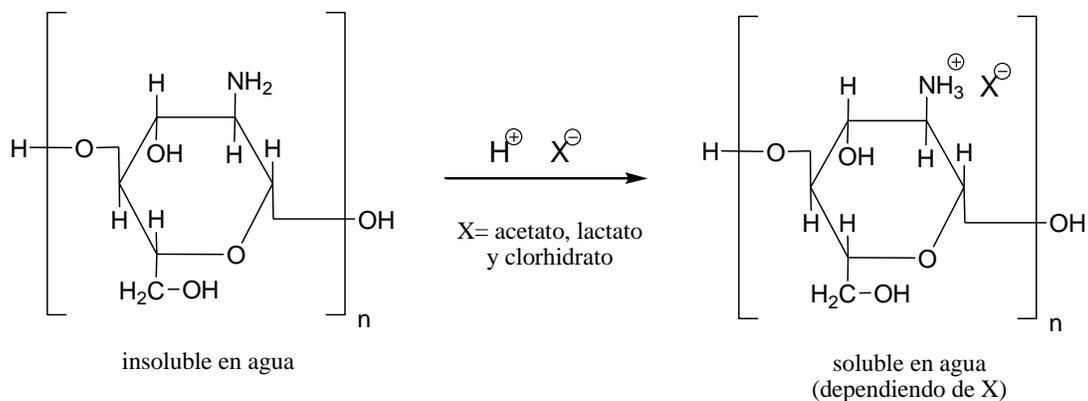
acético formando iones acetatos los cuales reaccionarían con el complejo de quitina soluble (Reacción 2). Esto podría estar asegurando que la quitosana grado analítico a diferentes concentraciones en solución acuosa se encuentra como sal sobre la superficie de la fresa (Reacción 3). Asimismo, afirmarí­a que está recubriendo la totalidad de la superficie de la fresa y es por ello que esta sal al disociarse en agua da una variación de pH (Anexo IV, Tabla 2). En la Reacción 4, el autor plantea una modificación de la propuesta por Skjak-Break y colaboradores (1989), quienes usaron ácidos láctico, clorhídrico y acético, por el ácido ascórbico como un medio ácido para promover la solubilidad de la quitosana.

4.5.2.1. Reacción de solubilización de quitosana con ácido acético

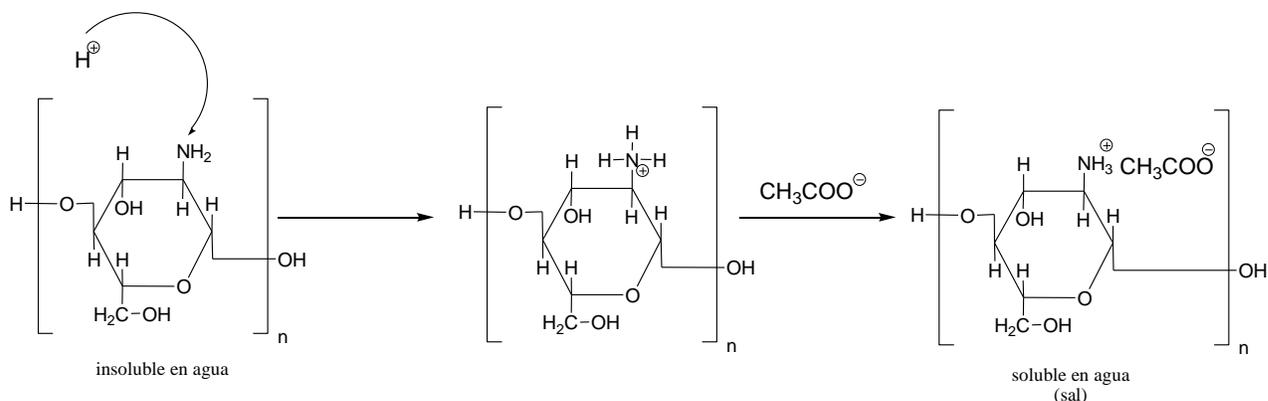
Debido a la desprotonación del ácido acético (Reacción 1), se forma un ion acetato el cual en reacción con la forma insoluble de la quitosana propuesta por Skjak-Break y colaboradores (1989), en la cual (Reacción 2) la quitosana es soluble en agua formando sales cuando ésta es acidulada con ácidos como el clorhídrico, acético, láctico o ácido fórmico, ya que también estas sales son útiles como champúes (*shampoos*, en inglés) y acondicionadores de cabello. El mecanismo de la reacción propuesto de acuerdo con la reacción propuesta por Skjak-Break y colaboradores (1989) y el medio de ácido acético usado en el diseño de experimento sería el que se visualiza en la Reacción 3.



Reacción 1. Desprotonación del ácido acético



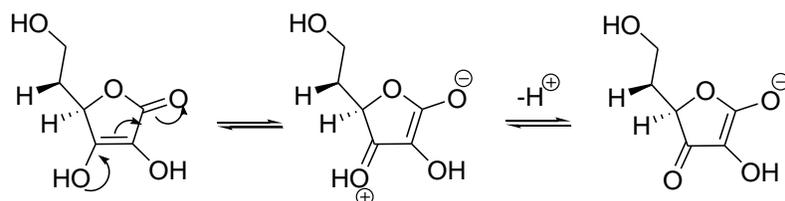
Reacción 2. Reacción propuesta por Skjak-Break y colaboradores (1989)



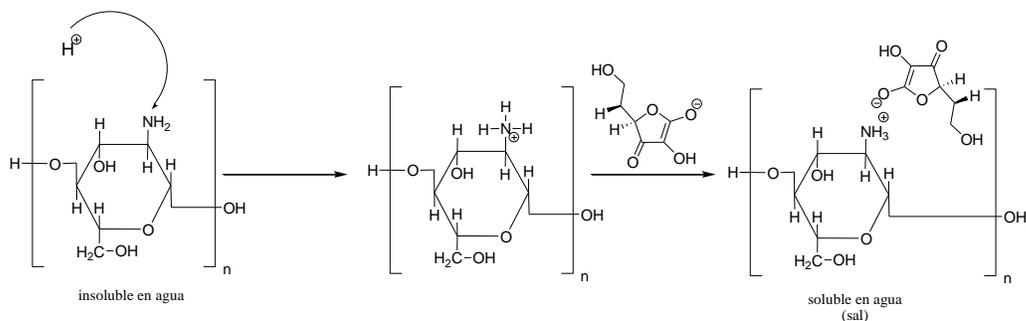
Reacción 3. Reacción de formación de sal con el acetato proveniente del ácido acético
(Skjak-Break y col., 1989)

4.5.2.2. Reacción de solubilización de quitosana con ácido ascórbico

El ácido ascórbico se comporta como un ácido carboxílico vinílico, en donde el doble enlace ("vinilo") comparte pares de electrones entre el hidroxilo y el carbonilo. Hay dos estructuras de resonancia para la forma desprotonada, que se diferencian en la posición del doble enlace (Reacción 4). Otro modo de ver el ácido ascórbico es considerarlo como un enol. La forma desprotonada es un enolato, que por lo general es fuertemente básico. Sin embargo, el doble enlace adyacente estabiliza la forma desprotonada (AAC, 2011). La Reacción 5, propuesta en esta investigación, muestra esto.



Reacción 4. Desprotonación del ácido ascórbico (AAC, 2011)



Reacción 5. Reacción de formación de sal con el ascorbato proveniente del ácido ascórbico

Los lotes de fruta a temperatura de refrigeración mostraron una mayor duración con respecto a sus contrapartes a temperatura ambiente. Se les dio seguimiento analítico hasta el decaimiento por microorganismos que ocurrió alrededor de los días 11/12 (para el caso de los lotes de fruta con biopelículas disueltas en agua acidulado con ácidos acético o ascórbico, este último no tenía contrapartes a temperatura ambiente). Los datos estadísticos se presentan en el Anexo V (Tabla 12). Allí se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos de la variación de pH en biopelículas de quitosana (Qn-S) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) para los recubrimientos que se encuentra a la temperaturas ($\sim 4^\circ\text{C}$). En el caso de los valores de pH sí hay diferencias significativas entre los lotes de fresas con biopelícula Q-Qn y con biopelículas de quitosana en los dos medios ácidos (acético y ascórbico). Los lotes de las biopelículas de quitosana en acético y ascórbico muestran variación del pH; en cambio, la película de Q-Qn no mostró variación en el pH y tuvo un valor de pH mayor. Los datos del Anexo VI, Gráfico 12 indican que la película de Q-Qn muestra ser diferente de la película Qn-S ($p < 0.05$) para ambos ácidos (pH). En la literatura Doyle y colaboradores (2000), reportan un rango de 3.0 a 3.9.

Ali-Sahari y colaboradores (2004) estudiaron el congelamiento de la fresa a -12°C y encontraron una disminución de su acidez de 1.08%. En esta investigación no se llevaron a cabo estudios a temperaturas de congelación; sin embargo, a la temperatura de refrigeración (de 4°C), se obtuvo también una disminución de acidez para las fresas siguiendo el patrón del trabajo mencionado. Esto ocurrió para los lotes con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) que, a los 12 días, tuvieron una reducción del 1.00% (Tabla 4.1). Los datos estadísticos se presentan en el Anexo V (Tabla 13). El análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos de la variación del porcentaje de acidez en los lotes con biopelículas de quitosana (Qn-S) acidulada con los dos diferentes ácidos a las distintas concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana (Q-Qn)

indicando que hubieron diferencias significativas entre ellos. En el Anexo IV (Tabla 3) se presenta la variación de la acidez y en el Gráfico 5 (mismo anexo) se muestra el porcentaje de la acidez. Las diferencias significativas se observan en el Anexo VI (Gráfico 13) donde se observa que el porcentaje de acidez disminuye conforme aumenta la concentración de quitosana Sigma-Aldrich (Qn-S). Para el medio de ácido acético no se presentaron diferencias significativas pero para la biopelícula de quitosana en ácido ascórbico sí hay diferencias significativas con respecto al recubrimiento de Q-Qn (Anexo VI, Gráfico 13). Montero y colaboradores (1996), en un estudio que realizaron con fresas “Chandler”, describen cómo se presenta una disminución de pH y un aumento de acidez atribuida a la maduración de la fruta de 24 a 41 días en su fase de desarrollo.

En el Anexo IV (Tabla 4) se pueden observar el seguimiento de los datos de los grados Bx. En el mismo anexo, en los Gráficos 7 y 8, se observa con detalle la tendencia de aumento de los °Bx para ambos medios ácidos acético y ascórbico en comparación del Q-Qn, encontrándose diferencias entre los lotes con recubrimientos de la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn), que presentan un mayor aumento en los grados Bx y que, a diferencia de las biopelículas de quitosana en ácido acético, tienen un menor incremento. En el Anexo V (Tabla 14) se presenta el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para los datos experimentales entre la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y los controles de quitosana en agua acidulada con ácido acético. Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$). En el Anexo VI (Gráfico 14) se presenta la información con la biopelícula de Q-Qn que no presenta diferencia significativa ($p < 0.05$) con el recubrimiento de quitosana en un medio de ácido ascórbico con concentraciones de quitosana al 0, 0.5, 1.0, 1.5%, pero sí presenta diferencias significativas con los lotes de fresas con biopelículas de quitosana en agua acidulada con ácido acético. Como se dijo arriba, la calidad de la fresa se ve mejorada en los grados Bx con la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y, a su vez, la conservación genera que la fruta madure lentamente.

Una posible explicación de la disminución de los °Bx en los recubrimientos control de quitosana en solución acuosa acidulada en medio de ácido acético a diferentes concentraciones es la presencia de hongos en la superficie ya que, por ejemplo, en los días 11 y 12 se observan en la Figura 4.3 de este capítulo. El desarrollo microbiano (hongos) requiere como nutriente la presencia de carbohidratos y, al ir disminuyendo el valor de los °Bx, se iría promoviendo su desarrollo. Por otro lado, la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para Alimentos o *International Commission on Microbiological Specifications for Foods* (ICMSF, 1980) realiza una clasificación de tipos de conservadores ácidos y el ácido usado (acético) es un ácido débil lipofílico que provoca una entrada de protones a través de la membrana celular, acidificando el interior de la célula e inhibe el transporte de nutrientes. Sin embargo, en este diseño la concentración de ácido acético es menor, lo que tal vez causó que este mecanismo no se diera. En los días posteriores ya no se considera cuantificable el valor de los grados Brix, debido al desarrollo de microorganismos. En la sección *Desarrollo visible de hongos mediante la evaluación subjetiva ocular* se explica más ampliamente acerca de las causas del desarrollo microbiano en la superficie de la fruta.

En el día 9 de la misma Figura 4.3, los lotes de fruta con recubrimientos control de quitosana en ácido acético muestran manchas oscuras en la superficie. Özkan y colaboradores (2004) estudiaron la influencia de la adición de peróxido de hidrógeno en jugos de naranja, uva y granada, encontrando que la concentración de 0.5 a 5 ppm de peróxido de hidrógeno, causaba notables cambios en las antocianinas y la degradación del ácido ascórbico en dichos jugos. Haciendo un símil con lo que ocurrió a partir del 9° día, podría ser probable que estas manchas fueran debidas a cambios en las antocianinas por la oxidación natural ocurrida mediante el oxígeno del aire.

Las frutas con biopelícula de Q-Qn muestran un aumento de la firmeza como lo explican Shin y colaboradores (2007). Ellos mencionan que el aumento de la firmeza es el resultado del almacenamiento en frío, un fenómeno común en las frutas y vegetales, incluidas las fresas. El aumento de la firmeza puede ser debido a un incremento en la viscosidad de la pectina (comportamiento de gelificación). En la literatura investigada, Fraeye y

colaboradores (2007, 2010), quienes estudiaron el comportamiento de las pectinmetilesterasas en fresas y manzanas, observaron que, en presencia de iones bivalentes, por ejemplo, Ca^{2+} , el entrecruzamiento resultante de los grupos carboxilo en la pared celular hace que la textura se mejore minimizando el efecto de las pectinmetilesterasas. Como mencionan Fraeye y colaboradores (2010), la pectinmetilesterasa (que es una enzima que cataliza la hidrólisis de los ésteres de metoxilo, dando como resultado la liberación de metanol y la pectina con grupos carboxilo libres¹⁵) afectaría a la pared celular compuesta principalmente por microfibrillas de celulosa, embebidas en una matriz de pectina, hemicelulosa, proteínas y compuestos fenólicos, pero los iones Ca^{2+} impedirían esto, dando fuerza a la pared celular. Para el caso de los recubrimientos estudiados, el que contenía calcio era el de quitina-quitosana experimental extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y que tuvo mayor firmeza por la presencia de los residuos del disolvente MAC-141[®]. Los otros recubrimientos que no tenían esta protección adicional probablemente al tener una firmeza menor eran más susceptibles al daño por frío y, por ende, a tener esas manchas.

La disminución de sólidos solubles totales en la fresa control de quitosana en ácido acético fue estudiado por Cordenunsi y colaboradores (2003) quienes proponen que la invertasa, debido a su actividad, genera una mayor actividad metabólica que podría explicar el consumo de sacarosa por el tejido. Se observó que las películas control de quitosana al 2.0% retardaban la actividad enzimática, generando estabilidad en la fruta.

Kafkas y colaboradores (2007) señalan que, conforme aumenta la maduración de la fruta, aumentan los sólidos solubles totales. Cuando las fresas están verdes, la cantidad de glucosa, fructosa y sacarosa es menor, aumentando conforme van madurando, siendo lineal el aumento de los sólidos totales en estado rosa y cuando alcanza la madurez total. En esta

¹⁵ En las frutas, la mayoría de los grupos ácidos del ácido galacturónico están esterificados por metanol. Este metanol puede perderse con relativa facilidad por hidrólisis ácida o enzimática, dejando el grupo ácido libre. En función del porcentaje de restos de ácido galacturónico esterificado, las pectinas se clasifican como "de alto metoxilo", cuando este porcentaje es superior al 50%, y "de bajo metoxilo", cuando es inferior. Una aplicación de lo anterior se encuentra en la elaboración de mermeladas

investigación el objetivo no fue analizar el aumento progresivo de los sólidos totales en las fresas por sus diferentes estados de madurez (Figura 4.2), sino que estaban completamente maduras (Figura 4.6). Sin embargo, este estudio de la literatura permite explicar el comportamiento de las fresas que conformaron el lote con la biopelícula de Q-Qn. Considerando los resultados obtenidos, los lotes que tuvieron los valores más altos fueron el lote blanco (solución de ácido ascórbico al 2.0%) y el de quitosana grado analítico Sigma-Aldrich (Qn-S) al 2.0% en solución acuosa acidulada de ácido ascórbico al 2.0% (>11°Bx). Los demás están por debajo de este valor.

4.5.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)

Como se mencionó al inicio de este capítulo, todos los datos experimentales se encuentran en el Anexo IV. La Tabla 4 del mismo anexo, señala los datos de los contenidos de vitamina C en todos los lotes en estudio. Abajo se presentan los correspondientes a la comparación entre los lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración (Tabla 4.8).

Tabla 4.8. Pérdida de vitamina C, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) comparada con la quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) (T~4°C)

Día	Q-Qn [mg AA/100g muestra]	Qn-S-AAc [mg AA/100g muestra]				Qn-S-AAs [mg AA/100g muestra]				
		0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0
0	76.77±22.70	63.75±17.18	59.51±6.44	87.79±35.58	69.72±11.76	102.93±16.17	96.52±31.89	116.28±16.44	108.03±20.64	144.21±4.16
1	50.04±14.71	60.68±8.69	66.67±6.59	48.89±9.40	55.26±5.52	78.29±18.87	83.42±3.28	105.40±59.83	109.55±35.07	88.07±30.51
2	63.29±5.75	51.79±5.75	64.71±8.47	53.10±11.84	42.55±3.20	68.92±17.23	68.53±12.22	68.16±18.78	87.42±15.42	68.58±11.43
3	63.74±8.34	65.98±22.85	59.81±5.43	53.65±6.40	59.50±5.40	63.39±9.98	59.00±3.29	70.60±21.21	69.97±15.42	51.04±6.80
4	60.53±3.27	65.41±12.01	61.40±5.58	57.03±5.70	51.45±0.00	70.42±14.37	65.88±21.38	51.56±5.79	100.47±32.90	74.59±17.99
5	56.25±5.62	68.81±8.52	46.77±11.23	39.88±0.00	56.64±14.98	80.60±11.51	63.91±14.19	87.34±11.64	75.21±20.04	77.25±8.63
6	76.47±17.09	78.30±14.73	66.82±11.13	60.09±17.21	60.65±13.31	62.27±5.66	55.49±11.95	63.33±0.00	68.33±3.38	74.41±26.23
7	66.90±11.93	69.14±6.47	85.71±8.53	67.13±3.32	56.83±0.00	57.13±6.82	66.61±14.37	58.71±11.74	60.79±18.91	69.58±14.19
8	69.20±30.09	55.18±31.44	45.71±11.42	45.09±15.34	75.09±0.00	64.55±5.86	66.05±18.73	78.80±39.35	86.38±34.42	87.94±20.31
9	70.69±13.23	61.70±16.82	90.31±11.28	57.40±8.11	46.58±3.95	43.63±3.28	43.44±3.27	78.11±25.77	60.67±8.96	55.98±8.84
10	53.94±8.82	43.74±3.29	70.37±13.17	61.07±12.14	45.62±0.00	88.03±15.52	60.70±6.78	84.77±17.65	96.09±27.24	86.48±5.76
11	49.25±3.28	49.16±6.55	59.49±6.64	61.47±16.30	59.25±3.92	50.11±8.83	66.58±6.78	78.22±17.48	76.17±13.19	70.70±5.89
12	40.71±6.41	-	-	-	-	56.88±5.68	76.32±8.74	89.50±16.49	101.62±13.54	82.80±12.02

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%



Figura 4.6. Estado de madurez completo en la fresa en punto de venta

Puede verse que hay una gran variabilidad en los datos de porcentajes de vitamina C en las frutas pero, como ya se mencionó en la nota de la tabla anterior, debe tomarse en cuenta que para los análisis se tomaba una fresa al azar del lote y que aunque visualmente todas se veían iguales, su composición no es exactamente la misma.

En el Anexo V (Tabla 15) se presentan los datos estadísticos y el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para los contenidos de vitamina C medidos como el contenido de mg AA/g muestra. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana (Q-Qn) y los controles de quitosana con los dos diferentes ácidos (AAc y AAs) a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$).

Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0), ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$). Esto muestra que hay diferencia significativa entre el decremento de vitamina C entre las frutas con la película de Q-Qn con los lotes de fruta con biopelícula de quitosana (Qn-S) en medio acuoso de ácido ascórbico en concentración de quitosana grado analítico al 1.0, 1.5 y 2.0% a temperatura ($\sim 4^{\circ}\text{C}$). Respecto de los lotes de fruta con película de quitosana grado analítico hay diferencia significativa entre ellas para el caso del medio acuoso de ácido acético y ascórbico ($p < 0.05$) a la temperatura de 4°C .

Se reitera lo mencionado de que la pérdida de vitamina C sí afecta la calidad de la fruta debido a su valor nutricional (Ortega-Granados, 2010). Por esta razón, la película Q-Qn no

es tan efectiva para la conservación de este nutriente, siendo mejor el control de quitosana en agua acidulada con ácido ascórbico en concentraciones de quitosana al 1.0, 1.5 y 2.0%.

En la Tabla 4.9 se presenta el resumen de esta parte de la investigación.

Tabla 4.9. Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$)

t	T °C	Película	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)
11 d	4	Q-Qn	Referencia				
		Qn-S-AAc al 0.5%	b	a	b	b	b
		Qn-S-AAc al 1.0%	a	a	b	b	b
		Qn-S-AAc al 1.5%	a	a	b	b	b
		Qn-S-AAc al 2.0%	b	a	b	b	b
		Qn-S-AAs al 0%	a	a	a	a	b
		Qn-S-AAs al 0.5%	b	a	a	a	b
		Qn-S-AAs al 1.0%	a	a	a	a	a
		Qn-S-AAs al 1.5%	a	a	a	b	a
Qn-S-AAs al 2.0%	a	a	a	a	a		

Nota: Letra: “a” dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$), y la letra “b” indica que no hubo diferencia significativa con respecto de su contraparte

4.6. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

4.6.1. Pérdida de humedad medida en masa

En el Anexo IV se presentan los resultados obtenidos para los datos del porcentaje de humedad sometido a una temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Por inspección visual se observó en el día 2 (Anexo II, Esquema 1) el desarrollo de hongos en la superficie de las fresas del lote control de quitosana al 0.5% con solución acidulada de ácido acético (Qn-S-AAc-0.5%). Sin embargo, no superaba el 20% de la superficie, por lo que no se descartó esta fresa para evaluar su comportamiento en los siguientes días, aunque sí se considera un riesgo potencial para el consumidor.

En el Anexo V (Tabla 16) se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para los datos de porcentaje de humedad. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula control de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos control de quitosana Sigma-Aldrich (Qn-S). El lote de fresas control con quitosana Sigma-Aldrich a temperatura ambiente mostraron la menor retención de humedad en la fruta que sus contrapartes a temperatura de refrigeración, donde sí representaron una buena protección en la retención de humedad de las fresas de esos lotes. Ortega-Granados (2010) demostró que el uso de biopelículas protectoras en fresas ayuda significativamente a mantener la calidad de las fresas y que una biopelícula control de quitosana al 2.0% en solución acuosa acidulada en ácido acético mejora sus propiedades de textura, humedad y brillo, lo que indica que esta película favorece una buena protección.

4.6.2. Acidez (g ácido cítrico/100g), pH y sólidos solubles totales ($\bullet\text{Bx}$)

En el Anexo V (Tabla 17 y 18) se presentan los análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para estos datos de variación en el pH y % de acidez. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$).

Se le dio seguimiento analítico a los lotes hasta el decaimiento por microorganismos (hasta los 12 días). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) para la película de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). En este caso las fresas con biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) muestra ser un recubrimiento que no presenta variación en el pH. Sin embargo, sí muestra diferencias significativas en el % de acidez para las dos temperaturas. Los datos del Anexo VI, Gráficos 17 y 18, indican que la película de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos

diferentes temperaturas ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) mostraron ser diferentes de sus contrapartes en refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) ya que el % de acidez presento una disminución cuando la concentración de quitosana aumenta y la temperatura cambia.

En el Anexo IV se presenta la información obtenida de los sólidos solubles totales medidos como grados Brix. En el Anexo V (Tabla 19) se presenta el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para estos datos del porcentaje de °Bx. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos.

En el Anexo VI (Gráfico 19) se presenta el análisis de medias ($p < 0.05$) observándose que entre los lotes de la biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) existe diferencia significativa, ya que el contenido de sólidos (°Bx) aparentemente no aumentó cuando son sometidos a temperatura de refrigeración. Sin embargo, hay diferencia entre los lotes a temperatura ambiente al 0.5% en concentración de quitosana y refrigeración al .5 y 2.0% en concentración de quitosana, pues las últimas dos concentraciones parecieron indicar que no se ven aumentados los °Bx en el lote de frutas mencionadas, con anterioridad.

4.6.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)

En el Anexo IV se muestra la cantidad de ácido ascórbico presente en las frutas de los diferentes tratamientos y cómo va disminuyendo. En el Anexo V (Tabla 20) se presenta el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para estos datos de vitamina C. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre la biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada en medio de ácido acético a las dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos. En el Anexo VI (Gráfico 20) se presentan los

valores de las medias con los intervalos *LSD* (95%) de vitamina C. La biopelícula de quitosana grado analítico Sigma-Aldrich (Qn-S) muestra ser mejor protectora a temperatura de refrigeración, gracias a la temperatura de refrigeración se ve conservada e inhibida la degradación de dicha vitamina, como lo mencionan Odriozola-Serrano y colaboradores (2007), ya que dicha vitamina se oxida fácilmente cuando es expuesta a temperaturas elevadas, cationes bivalentes (por ejemplo; cobre y hierro), oxígeno, pH alcalino, la luz o degradación de enzimas.

La Tabla 4.10 resume los resultados de esta parte de la investigación.

Tabla 4.10. Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Película	T °C	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx^a	Vitamina C (mg AA/100g)
Qn-S t= 4 d	20	a	b	a	a	a
	4					

Nota: Letra: “a” dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha = 0.05$), y la letra “b” indica que no hubo diferencia significativa con respecto de su contraparte.

4.7. Comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración ($\sim 4^\circ\text{C}$), a diferentes concentraciones de quitosana

4.7.1. Pérdida de humedad medida en masa

En el Anexo V, Tabla 21, se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para los datos experimentales del porcentaje de humedad entre biopelículas control de quitosana en solución acuosa acidulada con ácidos acético y ascórbico a $\sim 4^\circ\text{C}$. Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos. Los datos parecen indicar que la mayoría de los recubrimientos control de quitosana a dos medios ácidos son diferentes entre sí; sin embargo, los recubrimientos más representativos que permiten la retención de humedad son los de quitosana en solución acuosa acidulada en ácido ascórbico en concentración de quitosana al 1.5 y 2.0% en comparación con las

biopelículas de quitosana en ácido acético que no permiten la retención de humedad en la fruta (Anexo VI, Gráfico 21). Aliste y Del Mastro (2004) mencionan cómo el ácido ascórbico al 2.0% demostró ser buena película protectora así como un antioxidante, un agente quelante de metales y un agente de reducción.

4.7.2. Acidez (g ácido cítrico/100g), pH y sólidos solubles totales (°Bx)

Los datos estadísticos se presentan en el Anexo V (Tabla 22 y 23). Se muestra el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para los datos de la variación de pH y el % de acidez, en biopelículas de quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos (acético y ascórbico) a diferentes concentraciones de quitosana. Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos a la temperatura de $\sim 4^\circ\text{C}$. En el caso del pH, sí hay diferencias significativas entre los lotes de fresas con biopelículas de quitosana en los dos medios ácidos (acético y ascórbico) y muestran un comportamiento contrario al del pH, para el caso de la acidez. Los datos del Anexo VI, Gráficos 22 y 23, indican que las biopelículas que no permiten variación en el pH y en la acidez son las de la película Qn-S ($p < 0.05$) para el ácido ascórbico.

En el Anexo IV se puede observar la información sobre los grados Bx. En el Anexo V (Tabla 24) se presenta el análisis de varianza (*ANOVA*, en inglés) para los datos experimentales de los controles de quitosana en agua acidulada con los dos diferentes ácidos (acético y ascórbico). Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por el tratamiento de adición de recubrimientos. En el Anexo VI (Gráfico 24) se presentan las diferencias significativas ($p < 0.05$) y se observa que la biopelícula de quitosana en medio de ácido ascórbico sí presenta diferencias significativas con las biopelículas de quitosana en ácido acético, pero los lotes de fresas con biopelículas de quitosana en agua acidulada con ácido ascórbico indican que la calidad de la fresa se ve mejorada en los grados Bx evitando su aumento y, a su vez, la conservación genera que la fruta continúe su senescencia más lentamente.

Una posible explicación de la disminución de los °Bx en los recubrimientos control de quitosana en solución acuosa acidulada en medio de ácido acético se debe al desarrollo microbiano (hongos). Como ya se dijo, en los días 11 y 12 para los recubrimientos control de quitosana al 1.0% en solución se presentan presencia de hongos en superficie (Figura 4.3).

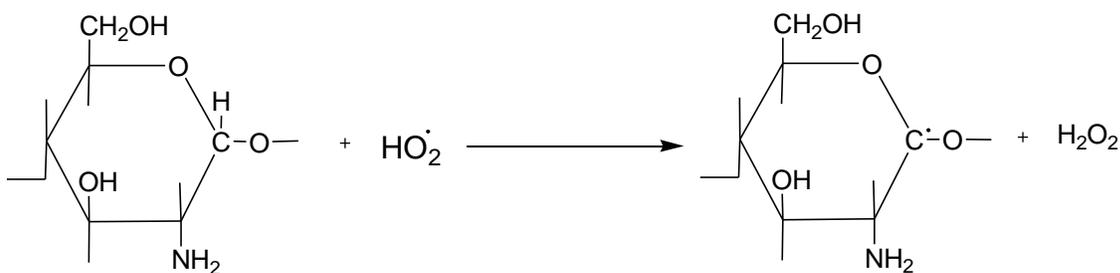
4.7.3. Contenido de vitamina C (ácido ascórbico, mg AA/100g)

En el Anexo V (Tabla 25) se presentan los datos estadísticos y el análisis de varianza (ANOVA, en inglés) para los porcentajes de vitamina C. El análisis de varianza se consideró haciendo una comparación entre las biopelículas de control de quitosana a la temperatura de ~4°C. Se observa que se rechaza la hipótesis nula (H_0) ya que el valor P calculado es menor que el nivel de significancia que se desea ($p < 0.05$) por la adición de estos recubrimientos. Hay diferencia significativa entre la pérdida de vitamina C entre las frutas con las biopelículas de quitosana en medio acuoso de ácido ascórbico en concentración de quitosana grado analítico al 1.0, 1.5 y 2.0% a temperatura ~4°C con respecto a las biopelículas en medio acuoso acidulado con ácido acético. Como se ha mencionado anteriormente, es claro que la pérdida de vitamina C sí afecta la calidad de la fruta (Ortega-Granados, 2010), siendo más efectivo el control de quitosana en agua acidulada en ácido ascórbico en concentración de quitosana al 1.0, 1.5 y 2.0% en evitar la pérdida de vitamina C, ya que también en su composición química contenían ácido ascórbico en su superficie y que muy probablemente evitaban la oxidación y pérdida del ácido ascórbico en el interior por degeneración a lo largo de los días de estudio.

En el Anexo IV (Tabla 5) se muestra la información de la degradación de la vitamina C por efecto probable de la temperatura. Muzzarelli y colaboradores (1984) probaron la reacción de la quitosana en ácido ascórbico y concluyeron que es un buen disolvente orgánico comprobándolo mediante la quelación de iones metálicos. En este trabajo experimental se realizó la disolución de quitosana en ácido ascórbico sin saber que algunos autores habían reportado dicha solubilidad, ya que la investigación bibliográfica se iba haciendo en paralelo. Zolderns y colaboradores (2005) estudiaron que la viscosidad de la quitosana es proporcional con respecto a la concentración de ácido ascórbico.

Muzzarelli y colaboradores (1984) mencionan también cómo el ácido ascórbico además de ser un ácido potencialmente adecuado para la formación de una sal soluble en agua (ascorbato de quitosana) puede también reaccionar con la quitosana para formar derivados de quitosana vía reacción de Schiff¹⁶. Otra forma de reacción con la quitosana en presencia de ácido ascórbico es la desprotonación propuesta por AAC (2011), ya mencionada del ácido ascórbico para la formación de un ion ascorbato y realizar una reacción ácido-base con la quitosana insoluble para así solubilizarla en medio acuoso por estabilidad de carga del amina (Reacción 4).

Sin embargo, Zolderns y colaboradores (2005) también suponen una reacción para la solubilidad de la quitosana en ácido ascórbico mediante la formación de un anión superóxido (Reacción 6) y un radical hidropéroxido que puede reaccionar con polisacáridos por la abstracción de hidrógeno de la molécula del carbohidrato para la formación de hidropéroxidos inestables, que tienen como posibles sitios de reacción enlaces glicosídicos¹⁷ o bien grupos aldehídos. Ellos explican que los radicales formados no son estables y se puede provocar la ruptura de la cadena polimérica formando grupos carbonilo.



Reacción 6. Reacción de hidropéroxidos con polisacáridos

Es por esta razón que una suposición de esa índole, da diferentes vías de reacción desde una reacción ácido-base hasta una reacción por una vía de *Schiff*. Para esta investigación

¹⁶ Una base de Schiff (o azometino), nombrado así en honor a Hugo Schiff es un grupo funcional que contiene un doble enlace carbono-nitrógeno

¹⁷ Compuestos con grupos OH, NH₂ y SH pueden reaccionar con el OH del carbono anómérico hemiacetalico de un monosacárido, con pérdida de una molécula de agua para formar los compuestos llamados generalmente *glicósidos*. El enlace acetálico establecido se llama *enlace glicosídico*

experimental se sugiere cómo la estabilidad de cargas del ascorbato con la quitosana insoluble puede de esta forma llevarla a la solubilización como lo propusieron Skjak-Break y colaboradores, en 1989, como ocurre con los iones acetato, lactato y clorhidrato. Anteriormente, se ejemplificaron diversas vías de solubilización de la quitosana para obtener diferentes productos como quelación de iones metálicos (Muzzarelli y *col.*, 1984).

El propósito de este trabajo experimental no es discutir la complejidad del mecanismo de oxidación de la vitamina C. Sin embargo, causa interés debido a que fue utilizado como una variable para evaluar la capacidad protectora de los diferentes recubrimientos de las fresas estudiadas. Zolderns y colaboradores (2005) presentaron la posibilidad (Reacción 6) de la formación de peróxido de hidrógeno en la solubilidad de la quitosana. Como se mencionó anteriormente, Özkan y colaboradores (2004) estudiaron la influencia de la adición de peróxido de hidrógeno en jugos de granada y naranja encontrando que, con concentraciones de 0.5 a 5 ppm, se causaban notables cambios en las antocianinas y la degradación del ácido ascórbico en dichos jugos. Debido a la última afirmación, en esta investigación experimental no se consideró la formación de este producto (peróxido de hidrógeno) en la solubilidad de la quitosana grado analítico en ácido ascórbico. Sin embargo, para estudios futuros debe tomarse en cuenta dicha posibilidad. Sansal y Somer (1997) estudiaron la formación de peróxido de hidrógeno en la descomposición de ácido ascórbico en presencia de riboflavina como un fotosensibilizador, en la cual se excita con luz visible a la riboflavina y así se genera la oxidación del ácido ascórbico generando peróxido de hidrógeno y, dado que no pudieron cuantificarlo, señalaron que lo que observaron mediante polarografía, podía suponerse que se formaba.

Dado que este trabajo experimental se enfoca en la adición de ácido ascórbico como solvente para producir una película protectora, González y colaboradores (2009) explican cómo la degradación de ácido ascórbico a ácido deshidroascórbico por la presencia del 2,6-diclorofenolindofenol (como indicador redox) por medio una reducción, y así un aumento inicial de vitamina C, podría adjudicarse al hecho de que la vitamina C se encuentra de manera oxidada en la superficie. Al momento de determinarse, como la reacción es reversible, también se determina el ácido deshidroascórbico en la superficie (Figura 4.7).

Saari y colaboradores (1999) estudiaron la interacción de la enzima ascorbato-oxidasa presente en la “fruta estrella¹⁸” con relación al ácido ascórbico por un método enzimático encontrando que el método del 2,6-diclorofenol indofenol es un buen método de determinación y no genera mucha variación en la interpretación de resultados, a diferencia del uso de un método enzimático tal vez con más precisión pero mucho más costoso.

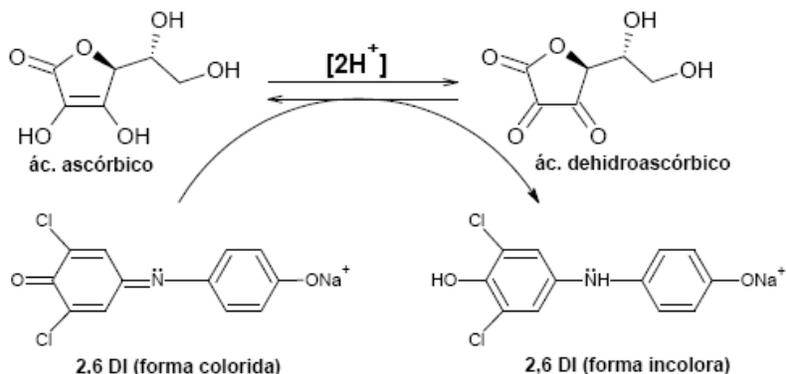


Figura 4.7. Reducción de ácido ascórbico (González y col., 2009)

La Tabla 4.11 muestra el resumen de esta parte de la investigación.

Tabla 4.11. Diferencia significativa de medias ($p < 0.05$) para la comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración ($\sim 4^{\circ}\text{C}$), a diferentes concentraciones de quitosana

t	T °C	Película	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)	
11 d	4	Qn-S-AAc 4 al 0.5	a	a	a	a	b	
		Qn-S-AAc 4 al 1.0	b	a	a	a	a	
		Qn-S-AAc 4 al 1.5	a	a	a	a	a	
		Qn-S-AAc 4 al 2.0	a	a	a	a	a	
		Qn-S-AAs 4 al 0	a	a	a	a	a	b
		Qn-S-AAs 4 al 0.5	b	a	a	a	a	a
		Qn-S-AAs 4 al 1.0	a	a	a	a	a	a
		Qn-S-AAs 4 al 1.5	a	a	a	a	a	a

Nota: Letra: “a” dentro de la columna indican diferencias significativas ($\alpha = 0.05$), y la letra “b” indica que no hubo diferencia significativa con respecto de su contraparte

18 *Starfruit (Averrhoa carambola)*. Conocida en México como carambola, que es un arbusto tropical perenne, perteneciente la familia Oxalidaceae

4.8. Desarrollo visible de hongos/Evaluación subjetiva ocular

En el microscopio estereoscópico Olympus modelo SP-ILK se tomaron micrografías de todos los lotes (Anexo II y III) que permitieron observar la influencia de las diferentes películas con respecto de la textura de la fresa. De esas microfotografías pudo verse que la película con la mezcla de quitina-quitosana experimental obtenida de cefalotórax de camarón (Q-Qn) (Anexo III, Esquema 7) y las dos películas control de quitosana al 1.5 y 2.0% en solución acuosa en un medio acuoso acidulado en ácido ascórbico (Anexo III, Esquema 3 y 4) y el recubrimiento de ácido ascórbico al 2.0% (blanco) (Anexo III, Esquema 5) son los mejores recubrimientos que no permiten la pérdida de agua. En los respectivos incisos anteriores, se mencionó que, según Aliste y Del Mastro (2004) el ácido ascórbico al 2.0% demostró ser buena película protectora así como un antioxidante y se veía mejorada con una temperatura a refrigeración reforzando los resultados obtenidos en esta investigación.

En las micrografías del Anexo III (Esquema 5), se muestran sendos esquemas donde se observa que en los días 3 y 6 hay un avance en la pérdida de humedad hasta de 10 y 20% para el recubrimiento que sólo contiene ácido ascórbico al 2.0%. En promedio, la pérdida de humedad fue del 7 al 14% para las dos biopelículas control de quitosana de 1.5 y 2.0% en solución acuosa acidulada de ácido ascórbico (Anexo III, Esquema 3 y 4).

Asimismo, se ve que hubo un decaimiento visual en la textura de la fresa. En la literatura, Hernández-Muñoz y colaboradores (2008), reportaron que la concentración de 1.5% de quitosana en las películas inhibe el desarrollo de hongos mientras que la de 1.0% muestra cierta incidencia en la presencia de hongos. En esta investigación, las películas de los controles de quitosana al 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0% disueltos en un medio de ácido ascórbico ayudaron a evitar el desarrollo de hongos. Los lotes de fresas recubiertas con ácido acético (control de solvente) y el lote control sin recubrimiento representaron medios de cultivo para la presencia de hongos al no contener un recubrimiento efectivo que los protegiera (Anexo II, Esquema 5 y 6).

Las fresas recubiertas con las biopelículas control de quitosana disueltas en solución acidulada de ácido ascórbico al 2.0% en refrigeración (~4°C) mostraron aparentemente mayor retención en humedad. Observándose un retardo de la senescencia, la cual se mejora en la textura, da un mayor brillo y evita el desarrollo de hongos. Por la pérdida de la humedad se muestran expuestas las oclusiones de las fresas, pero esto sucedió al finalizar los 12 días (Anexo III, Esquema 1 al 8).

Para terminar esta sección de observaciones visuales, se comenta que Frazier y Westhoff (1993) mencionan que existen diversos factores para la alteración de la fruta. Dentro de los que pueden ser cruciales estaría el contacto directo de las frutas sanas con las que se están alterando por microorganismos, aumentando las pérdidas. También destacan las condiciones ambientales inadecuadas durante su recolección (ver Capítulo 2, Tabla 2.5), transporte, almacenamiento y venta (Capítulo 2, Imagen 2.7). Estos autores mencionan también que el probable defecto comercial de la fresa más importante es el debido a la podredumbre gris por mohos, coriácea (*Phytophthora cactorum*) y por *Rhizopus*.

Velázquez y colaboradores (2008) reportaron una amplia incidencia de pudriciones de la fruta en raíz y corona. Señalan que son daños causados por un complejo de hongos del suelo encontrando, por su patogenicidad y frecuencia, a los géneros: *Fusarium*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum* spp., *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cactorum*. En esta investigación ya no se realizó un cultivo microbiológico de los últimos días (12 a 15, Figura 4.4) porque se consideró que debería ser objeto de otra investigación.

4.8.1. Influencia del ácido ascórbico en las soluciones de Qn-S aplicadas a fresas a temperatura de refrigeración (4°C)

Mediante la evaluación subjetiva del desarrollo microbiano no se observó la presencia de algún microorganismo (hongos) durante 15 días del experimento en refrigeración para los lotes que tenían de ácido ascórbico en la solución de la película (12 y 15, Figura 4.5) y sólo se apreciaron las frutas menos hidratadas, por lo que no serían aceptables por parte del consumidor al querer adquirir frutas frescas (fresas), pero se podría considerar como materia prima para un procesamiento posterior (mermeladas, helados, etc.).

En la literatura Velázquez y colaboradores (2008) reportan crecimiento de los géneros *Fusarium*, *Verticillium*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum* spp., *Botrytis cinerea* y *Phytophthora cactorum* como los más comunes en fresas. Dado que no se observaron manchas de hongos en la fruta puede considerarse que este recubrimiento fue adecuado.

4.8.2. Influencia del ácido acético en las soluciones de Qn-S aplicadas a fresas a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$)

El control de enfermedades postcosecha como la pudrición blanda ocasionada por *Rhizopus stolonifer* es muy limitado (Bautista-Baños y col., 2004). Es por esta razón que se caracterizaron las frutas de cada lote tomando una muestra de fruto con desarrollo microbiano (más del 75%) (Figura 4.7).

Buscando en la literatura los principales microorganismos que afectan directamente la fruta, se encontró que la podredumbre se clasifica de la siguiente manera: a) podredumbre gris por mohos, podredumbre coriácea (*Phytophthora cactorum*) o podredumbre por *Rhizopus* (Frazier y Westhoff, 1993). *Botrytis cinerea* y *Rhizopus* sp. son los dos hongos más frecuentes en fresas y responsables de su pudrición (Park y col., 2005). Realizando una preparación en fresco, dio como resultado lo que se muestra en la Figura 4.8, donde se observan principalmente esporas y esporangios.

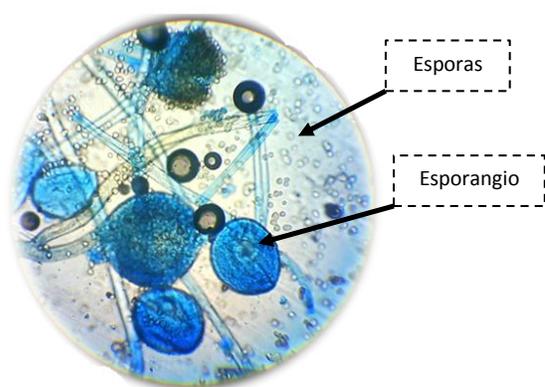


Figura 4.8. Ejemplo de la preparación en fresco para hongos (Ortega-Granados, 2010)

Park y colaboradores (2005) encontraron que al aplicar una concentración del 2.0% de quitosana en frutas frescas, las pérdidas de agua fueron menores. Ellos, al inocular *Rhizopus sp.*, confirmaron lo encontrado en la presente investigación sobre el hecho de que la inhibición de hongos fue debido a la presencia de quitosana y, como se mencionó en el apartado anterior, se reducía la pérdida de humedad. Otro estudio previo, realizado por Bautista-Baños y colaboradores (2004) reportaron que, a partir de concentraciones de quitosana de 1.5% en las películas, se reduce hasta en un 50% de desarrollo de hongos y se retardándose el crecimiento micelar, la esporulación y la morfología del conidio de *Fusarium*, *Penicillium* y *Rhizopus*.

4.8.3. Comparación entre fruta a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) y refrigeración (4°C)

Se encontró que, como un mejor recubrimiento que permitió la inhibición de microorganismos, fue el diseño que incluyó el ácido ascórbico como solvente de la quitosana. Los recubrimientos menos efectivos fueron aquéllos que estuvieron a temperatura ambiente (Anexo 2, Esquema 1 al 6), ya que la fruta es susceptible a la humedad relativa de la atmósfera durante el almacenamiento y maduración y, por ello, un factor de conducción del desarrollo microbiano. Una combinación adecuada de temperatura y humedad pudo retrasar, pero no eliminar, el deterioro de los frutos (ICMSF, 1980)

Un factor que pudiera ayudar a las fresas a conservarlas, sería un tratamiento con atmósferas modificadas, aumentando los niveles de CO_2 , pues se ha observado que al aumentar CO_2 en un 10% inhibe la flora fúngica, con otros tratamientos como los químicos utilizando fungicidas, tales como bifenilo, son impregnados en envolturas de frutos y en algunos casos usando SO_2 (ICMSF, 1980).

Finalmente para concluir este capítulo, en la Tabla 4.12 se presenta un resumen de los datos finales de los experimentos donde se señalan las diferencias significativas entre los lotes y los comentarios pertinentes.

Tabla 4.12. Datos finales de los experimentos después de 12 días. Los datos mostrados son para las películas en estudio

Película	T °C	%	%Humedad	pH	%Acidez (g ácido cítrico/100g)	°Bx ^a	Vitamina C (mg AA/100g)	Comentario
Q-Qn t= 4 d	20	NA	**	No	No	**	No	La fresa con biopelícula de Q-Qn a refrigeración es una buena biopelícula protectora de la humedad que no varía el valor de pH ni el de % de acidez y no hay un aumento pronunciado de los °Bx, con respecto a su contraparte. Para ambos lotes a las dos temperaturas muestra no poder conservar la vitamina C
	4	NA						
Q-S t= 4 d	20	NA	**	No	**	**	**	La fresa con biopelícula Q-S Qn a refrigeración muestra ser un recubrimiento apto para evitar la pérdida de humedad, no muestra variación del pH pero sí en los datos del % de acidez, conserva los °Bx con respecto de la biopelícula de Q-S a temperatura ambiente. Ambos lotes a las dos temperaturas tienen pérdidas de vitamina C
	4	NA						
Blanco t= 4 d	20	NA	**	No	No	**	No	El lote de fresas blanco a refrigeración muestra menores pérdidas de humedad, no varía el pH, ni el & de acidez, ni la vitamina C, muestra variación con respecto a su contraparte a temperatura ambiente
	4	NA						
Q-S-AAc t= 4 d	20	0	NA	NA	NA	NA	NA	La biopelícula de quitosana grado analítico (Qn-S) en agua acidulada con ácido acético a refrigeración (4°C) retiene humedad, no hay variación de pH, ni de los °Bx, pero sí en el % de acidez. Conserva mejor a la vitamina C, en comparación con su contraparte a temperatura ambiente
		0.5	**	No	No	**	**	
		1.0	**	No	No	No	No	
		1.5	**	No	No	**	**	
	4	2.0	**	No	No	No	**	
		0	NA	NA	NA	NA	NA	
		0.5	**	No	No	**	**	
		1.0	**	No	**	No	No	
	1.5	**	No	**	**	**		
	2.0	**	No	**	**	**		
	0.5	**	**	**	**	No		
	1.0	No	**	**	**	**		
Q-S-AAc t= 11 d	4	1.5	**	**	**	**	**	La película de ácido ascórbico mostró retener mayor humedad, muestran variación en el pH. Ocurrió lo contrario con el % de acidez. No hubo aumento pronunciado de °Bx con respecto a la película de Qn (en ácido acético). Conserva mejor la vitamina C, ya que en su composición contenía ácido ascórbico
		2.0	**	**	**	**	**	
		0	NA	NA	NA	NA	NA	
		0.5	**	**	**	**	No	
Qn-S-AAs [♦] t= 11 d		1.0	**	**	**	**	**	
		1.5	**	**	**	**	**	
		2.0	**	**	**	**	**	
		0.5	**	**	**	**	**	

**Método de diferencias mínimas significativas (LSD, por sus siglas en inglés) usando $\alpha=0.05$

♦En estos experimentos, la vida de anaquel fue de 12 días, se considero el análisis estadístico a los 11 días para dicha comparación
NA, no aplicable

Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

De acuerdo con el objetivo general y específicos planteados en esta investigación de aplicar recubrimientos de películas de quitina y quitosana a un producto perecedero, la fresa (*Fragaria × ananassa*), evaluando la vida de anaquel, montando las metodologías adecuadas para la cuantificación de la pérdida de humedad y variabilidad de pH, acidez total, grados Brix y vitamina C, así como desarrollo visible de hongos sobre la superficie de las fresas (*Fragaria × ananassa*), aplicando esos recubrimientos de una mezcla quitina-quitosana obtenida de residuos de camarón obtenida en el laboratorio (Q-Qn), de un control de quitina grado reactivo analítico (Sigma-Aldrich) (Q-S), de un control de quitosana (Qn-S) grado reactivo analítico (Sigma-Aldrich) a dos temperaturas, ambiente y refrigeración, se puede concluir lo siguiente:

5.1.1. Lote de fruta recubierta con biopelícula Q-Qn en comparación de un blanco (sin película a dos diferentes temperaturas (20±2 y ~4°C):

- Los lotes de fresas recubiertas con la mezcla de quitina quitosana (Q-Qn a temperatura ambiente y en refrigeración demostraron ser mejores de manera global que el blanco. Hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en la pérdida de humedad, no presenta variación del pH, pero sí en el % de acidez, el contenido de sólidos (°Bx) es menor indicando madurez lenta y no mostró diferencia significativa en la pérdida de vitamina C indicando que ni la fruta con recubrimiento ni el blanco conservan dicho nutriente. El tiempo de vida de anaquel fue de 12 días en refrigeración y de 4 días a temperatura ambiente, a partir de esos lapsos aparecieron microorganismos.

5.1.2. Lote de fruta recubierta con biopelícula Q-Qn en comparación de un lote control con biopelícula Q-S a dos diferentes temperaturas (20±2 y ~4°C)

- Al comparar los lotes de fresas recubiertas con la mezcla de quitina quitosana (Q-Qn) y la biopelícula con quitina Sigma Aldrich (Q-S) se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la pérdida de humedad que favorecen a los de la Q-Qn en refrigeración. Los lotes de fresas con biopelícula Q-Qn demostraron que su recubrimiento no muestra variación del pH y el % de acidez para las dos temperaturas, en comparación con los de la biopelícula de quitina Sigma con disolvente MAC-141[®] (Q-S) que tuvieron una mayor variación en el % de acidez y no en los datos de pH ($p < 0.05$). El lote de fruta recubierta con biopelícula de Q-Qn en comparación con el de la biopelícula de Q-S a la misma temperatura con respecto

de los datos obtenidos para los sólidos solubles medidos como °Bx tienen valores menores, indicando que la película retarda la senescencia. Con respecto de la pérdida de vitamina C, ni las biopelículas de Q-Qn ni las de Q-S a ambas temperaturas, retienen este nutrimento. La biopelícula control de quitina (Q-S) muestra una mejor retención de este índice de la calidad con respecto de los lotes de fruta con biopelícula Q-Qn ($p < 0.05$).

5.1.3. Comparación de lotes con la biopelícula Q-Qn con respecto de los de frutas recubiertas con la película control de Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido acético sometidas a temperatura de refrigeración

- Haciendo un estudio comparativo en los lotes control con ácido acético a cuatro diferentes proporciones, la que contenía Qn-S al 1.0 y 1.5% en concentración de quitosana a temperatura de refrigeración mostró la menor pérdida de humedad con respecto de la del lote de Q-Qn. Sí hubo diferencias significativas en el pH para la película de Q-Qn y Qn-S, favoreciendo a la de Q-Qn. No hubo variación en el % de acidez para ambos recubrimientos. Donde sí hubo diferencia significativa fue en los °Bx, los cuales aumentaban cuando la proporción de quitosana se incrementaba en el caso de los lotes control (1.5 y 2.0%), en comparación con el lote de la biopelícula Q-Qn. Por último no hubo diferencia significativa con la conservación de la vitamina C para los lotes con recubrimientos de quitosana en solución acuosa acidulada con respecto de la biopelícula Q-Qn.

5.1.4. Comparación de lotes con la biopelícula Q-Qn con respecto de los de frutas recubiertas con la película control de Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico sometidas a temperatura de refrigeración

- Todos los lotes con biopelículas control de quitosana grado analítico (Qn-S) en solución acuosa acidulada en ácido ascórbico al 1.5 y 2.0% fueron mejores que las de Q-Qn. Esto fue debido a la adición del ácido ascórbico.

5.1.5. Lotes de frutas recubiertas control Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido acético a dos diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$)

- Todas las variables son diferentes significativamente en refrigeración ($p < 0.05$) siendo estos productos mejores que a temperatura ambiente en el tiempo de vida de anaquel equivalente (4 días). Los únicos lotes que mostraron decaimiento por microorganismos antes de la vida de anaquel de 12 días fueron estos (hasta los 11 días).

5.1.6. Lotes de frutas recubiertas control Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc) o ascórbico (Qn-S-AAs) a temperatura de refrigeración ($\sim 4^\circ\text{C}$)

- Los lotes de biopelículas de Qn-S-AAs fueron mejores en comparación con los de las biopelículas de Qn-S-AAc para todas las variables.

5.1.7. Lotes de frutas recubiertas control Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido acético a temperatura de refrigeración (~4°C) a diferentes concentraciones (0.5, 1.0, 1.5, 2.0)

- Los lotes con las películas control de quitosana elaboradas con disoluciones acuosas aciduladas con ácido acético al 1.5% mostraron las mejores características.

5.1.8. Lotes de frutas recubiertas control Qn-S en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico a temperatura de refrigeración (~4°C) a diferentes concentraciones (0.5, 1.0, 1.5, 2.0)

- Los lotes con las películas control de quitosana elaboradas con disoluciones acuosas aciduladas con ácido ascórbico al 1.5 y 2.0% fueron las que mostraron las mejores características.

Aunque no se tiene conocimiento de la aplicación de la quitina como conservador de alimentos en comparación con los controles de quitosana Sigma Aldrich (Qn-S), la mezcla de quitina-quitosana experimental obtenida del cefalotórax de camarón (Q-Qn) y el control de quitina Sigma-Aldrich (Q-S) también disuelto en MAC-141[®] demostraron ser eficientes en la inhibición de microorganismos en fresa teniendo una vida de anaquel de 4 días para la temperatura ambiente y de 12 días para la temperatura de refrigeración que, aunque era igual para el blanco, desde el punto de vista del desarrollo de microorganismos, considerando las variables en estudio y su apariencia visual eran mejores que el blanco.

5.2. Recomendaciones

Con base en los resultados de esta investigación, a continuación se recomiendan algunas nuevas líneas a seguir para dar más conocimiento sobre esta posible solución a la problemática planteada por el alargamiento de la vida de anaquel para la fresa, tanto para consumo fresco, como para su industrialización.

- Realizar pruebas sensoriales para verificar la aceptación de las fresas recubiertas por los consumidores potenciales a lo largo de los 12 días de conservación en refrigeración
- Realizar pruebas químicas para verificar que no queden trazas de metanol del disolvente MAC-141[®] en las biopelículas
- Realizar pruebas químicas para verificar que no queden trazas de metanol del disolvente MAC-141[®] en las fresas recubiertas
- Utilizar la fruta que estuvo en observación con las mejores biopelículas para elaborar un producto industrializado como la mermelada para cuantificar la

conservación de un nutriente como las antocianinas ya que la vitamina C es termolábil y así saber qué impacto tendría la conservación de la materia prima por más tiempo en la industria alimentaria.

- Existen diferentes métodos de conservación de la fresa, entre ellos está la deshidratación y secado. En este trabajo se observó que la quitina conserva la fresa y ocurre la deshidratación sin descomposición. Por lo tanto se podría diseñar un método de deshidratación con quitina comparándolo con otros métodos de deshidratación para la conservación no solamente de fresas sino de otros productos hortofrutícolas que se comercialicen secos.
- Evaluar el costo de los recubrimientos con objeto de verificar si la tecnología es viable económicamente. En caso de ser positiva, realizar un estudio conceptual de la tecnología y, finalmente, si el estudio es positivo, realizar pruebas a escala piloto para desarrollar la ingeniería de detalle y ofrecerla a los empresarios de las Centrales de Abastos.

Anexo I. Descripción de las metodologías

1.1. Calibración del potenciómetro

Ajustar la temperatura a $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ y determinar el valor de pH de la disolución como se indica a continuación:

- a) Calibrar el potenciómetro con las soluciones reguladoras de pH 4, 7 y 10 según la acidez del producto.
- b) Tomar una porción de la muestra ya preparada, mezclarla bien por medio de un agitador y ajustar su temperatura a $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.
- c) Sumergir el electrodo en la muestra de manera que los cubra perfectamente. Hacer la medición del pH. Sacar el electrodo y lavarlo con agua, siguiendo el método basado en la norma mexicana NMX-F-317-S-1978 (DOF, 1978).

1.2. Calibración del refractómetro

Verificar la exactitud del refractómetro con agua a 293 K (20°C). A esta temperatura el índice de refracción del agua es de 1.3330, o bien utilizar la placa de cuarzo que viene con el equipo, usando bromonaftaleno. Al leer hacer las correcciones necesarias. Mover el brazo giratorio del aparato hacia delante y hacia atrás hasta que el campo visual se divida en dos partes, una luminosa y otra oscura. A la línea divisoria entre esas dos partes, se le conoce como "línea margen". Ajustar la línea margen y leer directamente el por ciento de los sólidos en la escala Brix.

Nota: Este método también incluye, tanto a los refractómetros manuales (o portátiles), en los cuales únicamente se coloca la muestra y se observa a contraluz para tomar la lectura directamente; como a los refractómetros digitales en los cuales el mismo procedimiento anteriormente descrito en esta norma, se simplifica siguiendo las indicaciones específicas que para cada aparato proporciona el fabricante. El método está basado en la norma NMX-F-103-1982 (DOF, 1982).

1.3. Reactivos y soluciones para la determinación de Vitamina C

1.3.1. Solución de ácido acético 5%

En un matraz aforado de capacidad de un litro (1L) colocar 100 mL de agua destilada y adicionar poco a poco ácido acético glacial (este procedimiento realizarlo en la campana) y llevar con agua destilada a la marca volumen. (AOAC, 2006; González-L. y col., 2009)

1.3.2. Solución de ácido ascórbico (1 mg/mL)

Pesar en una balanza analítica 100 mg de ácido ascórbico anhidro (Aldrich), colocarlo en un matraz aforado de capacidad de 100 mL y llevar al volumen indicado con la solución **1.3.1** (AOAC, 2006; González-L. y col., 2009)

1.3.3. Solución de 2,6-diclorofenol indofenol valorada

En un matraz aforado de capacidad de un litro (1L) se colocan 100 mg de 2,6 diclorofenol indofenol y 50 mg de bicarbonato de sodio previamente pesados en una balanza analítica y se disuelven con agua destilada y en seguida llevar a la marca deseada. (AOAC, 2006; González-L. y col., 2009)

1.4. Extracción del cefalotórax parcialmente desproteínizado (CPD)

1.4.1. Recolección del cefalotórax de camarón fresco

Las cabezas de camarón (cefalotórax) se obtuvieron de la zona de pescados y mariscos de la central de abasto “La Nueva Viga”, en la Ciudad de México (Distrito Federal). Las cabezas fueron adquiridas a \$10 pesos mexicanos la bolsa de aproximadamente 5 kilogramos de materia prima (kg)¹⁹. Predominan en los desechos cefalotórax de camarón café y blanco (*Penaeus monodon* y *Penaeus vannamei*).

1.4.2. Limpieza

El cefalotórax del camarón (CC) (*Figura 2*) fresco se colocó en recipientes de plástico, donde posteriormente se limpió de objetos extraños y se lavó bajo un chorro de agua. Se dejó escurrir. El (CC) debe utilizarse fresco, en caso contrario se debe mantener en

¹⁹ Este subproducto siempre ha sido entregado gratuitamente, pero en ese momento había una huelga de pescadores por los aumentos en el precio del diesel y no había camarón de forma abundante. Por eso es que cobraron por dar estos residuos

refrigeración para evitar la descomposición de las proteínas y la oxidación de lípidos presentes, dando lugar a olores desagradables.

1.4.3. Molienda

En una licuadora doméstica, marca Osterizer modelo 10-C de una velocidad, se adicionó el CC limpio y agua en una relación 1:2 en peso (una parte de CC y dos partes de agua), se licuó por 1 minuto hasta observar un tamaño de partícula reducido (*Figura 3*).

1.4.4. Filtración

Durante la molienda la mayor parte de proteínas, grasas, pigmentos y parte de los minerales se eliminan en la fase de licuefacción del CC en agua y así obtener cefalotórax parcialmente desproteinizado (CPD). El CPD se filtra con un tamiz y se enjuaga con agua.

1.4.5. Secado y tamizado del (CPD)

Una vez eliminada el agua excedente del CPD obtenido se puede procesar directamente o puede secarse en una estufa eléctrica marca Felisa a temperatura de 60°C durante 18 horas si se desea conservar en forma de harina para estudios posteriores. El CPD obtenido se tamizó para obtener un tamaño de partícula de $149\mu\text{m} <P>2\text{mm}$ y se conservó en refrigeración dentro de un envase hermético (*Figura 4*).



Figura 1. Cefalotórax y exoesqueletos de camarón



Figura 2. Molienda de CC



Figura 3. CPD de camarón

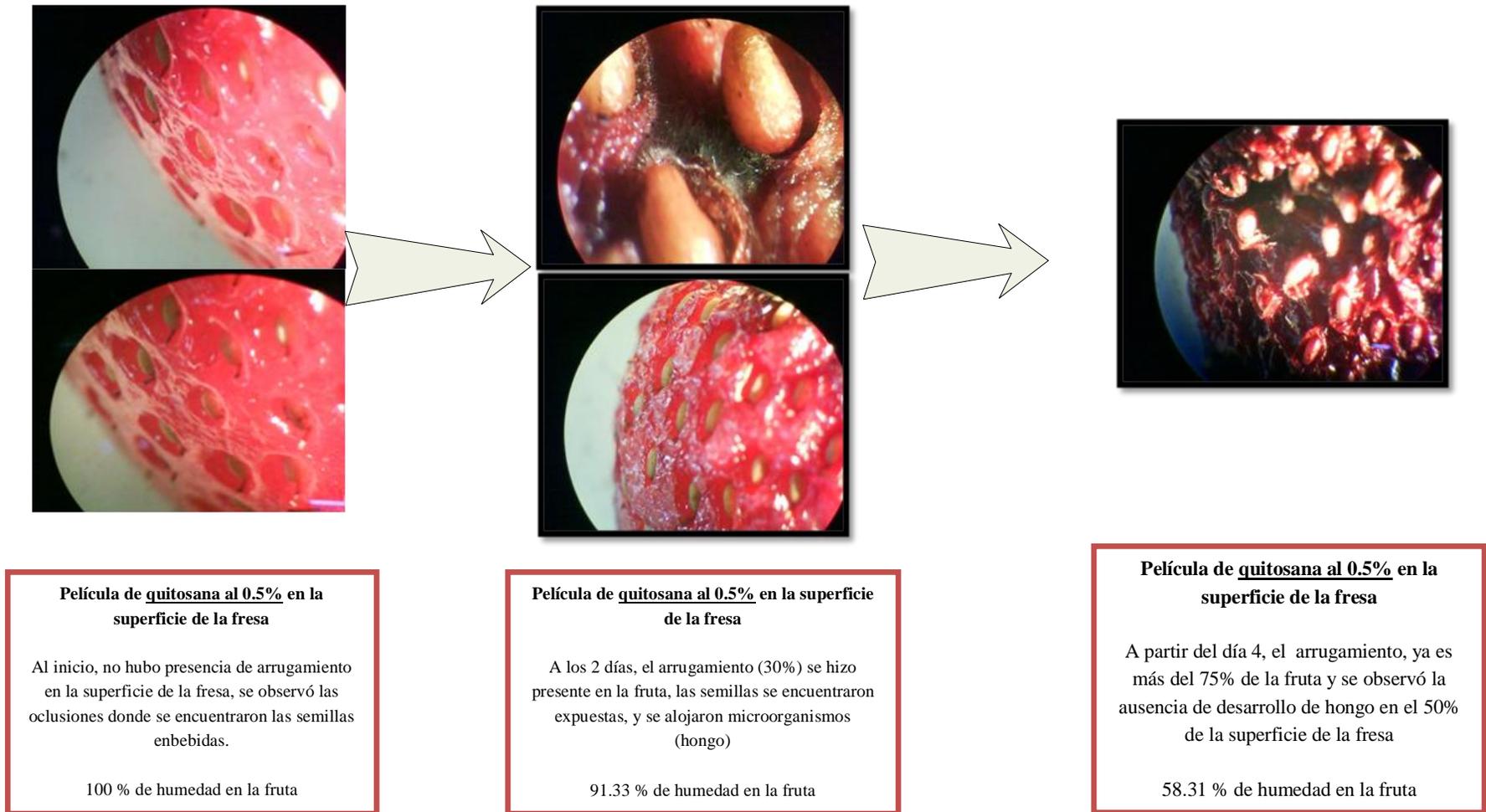
1.5. Preparación del disolvente MAC-141 (metanol-agua-cloruro de calcio)

En un matraz de bola de fondo plano de 500 mL, se añaden 99 mL de etanol, 180 mL de agua destilada y 277.5 g de cloruro de calcio (CaCl_2), relación molar de 1:4:1 (Flores, 2004, 2008). Este procedimiento se realiza en un baño de hielo (Figura 5), debido a que la reacción es exotérmica. Se adapta un refrigerante de agua en posición de reflujo y se calienta el matraz con una parrilla eléctrica a 60°C durante 4 horas. La temperatura deberá ser menor a 60°C , para evitar la evaporación del metanol. La solución anterior debe ser traslúcida al disolverse el cloruro de calcio y así obtener el disolvente MAC-141[®].

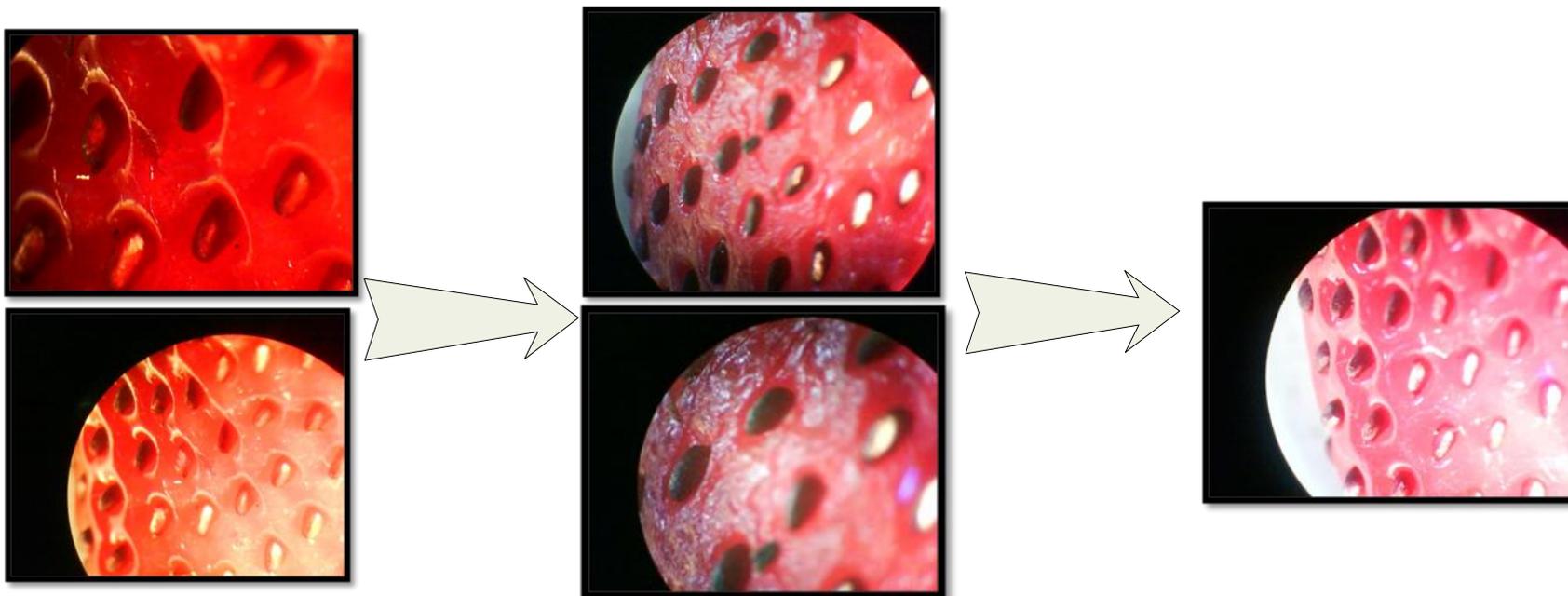


Figura 4. Disolvente MAC-141[®] en baño de hielo

Anexo II. Lotes a temperatura ambiente (Ácido acético)



Esquema 1. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 0.5% a temperatura ambiente



Película de quitosana al 1.0% en la superficie de la fresa

En la aplicación inicial de la película, se observó cómo se mejoró la textura y se vio observó brillante. Con arrugamiento inicial nulo.

100 % de humedad en la fruta

Película de quitosana al 1.0% en la superficie de la fresa

A los 2 días de la aplicación de la película de quitosana, comenzó a perder humedad de la fruta como en un 20%, ya que las semillas se mostraron un poco fuera de la oclusión.

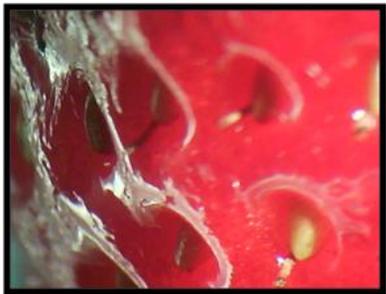
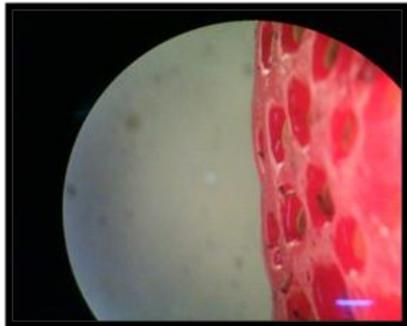
86.78 % de humedad en la fruta

Película de quitosana al 1.0% en la superficie de la fresa

Cuando transcurrieron 4 días, la fruta se observó con una apariencia buena y con pérdida de humedad casi constante a los 3 días.

68.26.34 % de humedad en la fruta

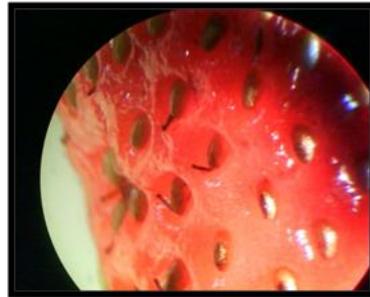
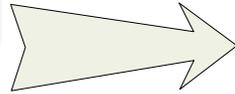
Esquema 2. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 1.0% a temperatura ambiente



Película de quitosana al 1.5% en la superficie de la fresa

Al inicio, cuando se aplicó la película, se observa uniformidad en la fresa.

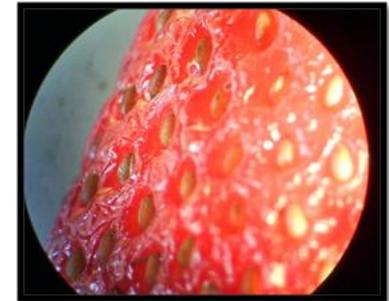
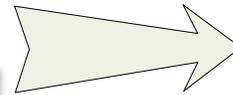
100 % de humedad en la fruta



Película de quitosana al 1.5% en la superficie de la fresa

En el Día 2, se observó un arrugamiento considerable en la superficie de la fresa (20%).

86.45 % de humedad en la fruta

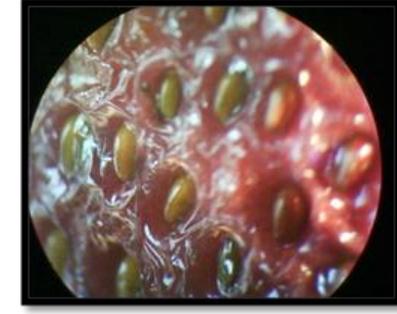
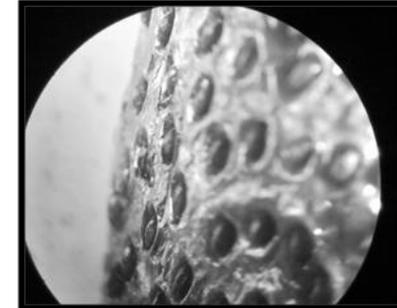
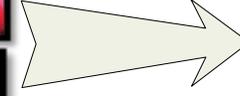
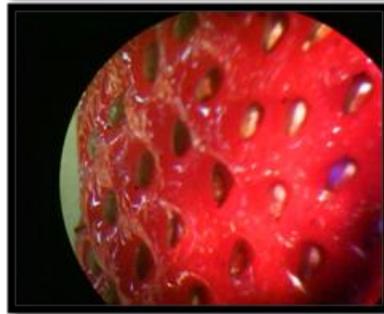
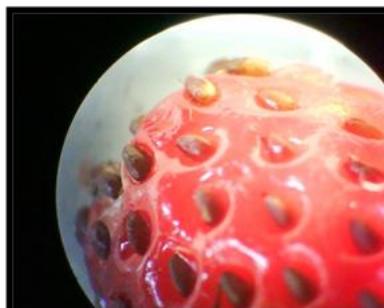
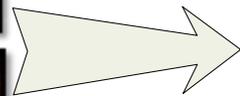
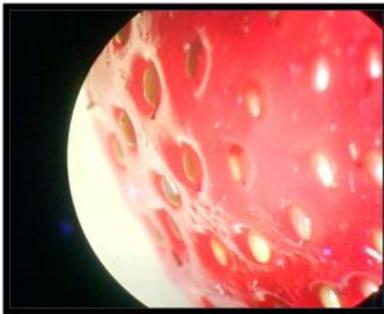
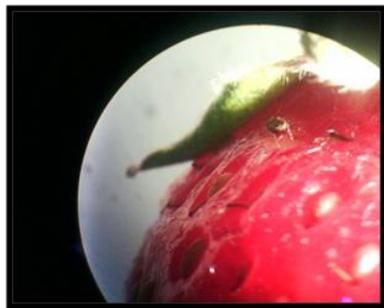


Película de quitosana al 1.5% en la superficie de la fresa

A los 4 días, se observó daño físico en la fruta con crecimiento de hongo y también pérdida de agua en un 40%.

65.64 % Humedad en la fruta

Esquema 3. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 1.5% a temperatura ambiente



Película de quitosana al 2.0% en la superficie de la fresa

En la aplicación inicial de la película al 2.0%, se observó una superficie más atractiva, la firmeza se ve reforzada y la difusión de la película está en el 100% de la superficie. El arrugamiento inicial es inexistente

100 % Humedad en la fruta

Película de quitosana al 2.0% en la superficie de la fresa

A los 2 días de la aplicación de la película de quitosana al 2.0%, la firmeza de la película se vio aún constante, sin embargo en otra fresa, se presentó un arrugamiento superficial del 20%; sin embargo, la textura permanece brillante.

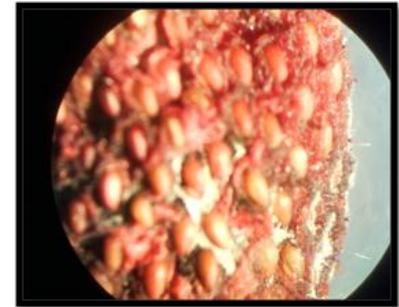
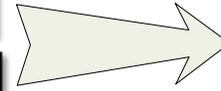
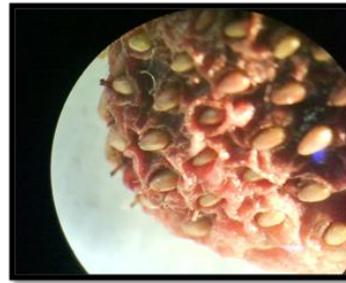
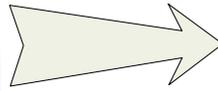
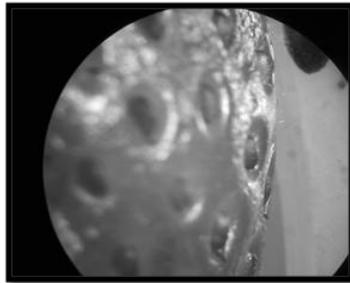
87.71 % Humedad en la fruta

Película de quitosana al 2.0% en la superficie de la fresa

Al paso de 4 días, la fruta se observó un poco oscura, pero aún conservó la superficie brillante y el arrugamiento se presentó en un 30%.

70.08 % Humedad en la fruta

Esquema 4. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 2.0% a temperatura ambiente



Recubrimiento de ácido acético al 0.5% en la superficie de la fresa

Cuando inicialmente se aplicó el ácido acético al 0.5% directamente en la fruta, se observó opacidad en la superficie y la superficie era lisa.

100 % Humedad en la fruta

Recubrimiento de ácido acético al 0.5% en la superficie de la fresa

A los 2 días de la aplicación del ácido acético al 0.5%, se observó deshidratación superficial en la fresa, carga microbiana, oscurecimiento en la piel y en las semillas de la fruta. (15%).

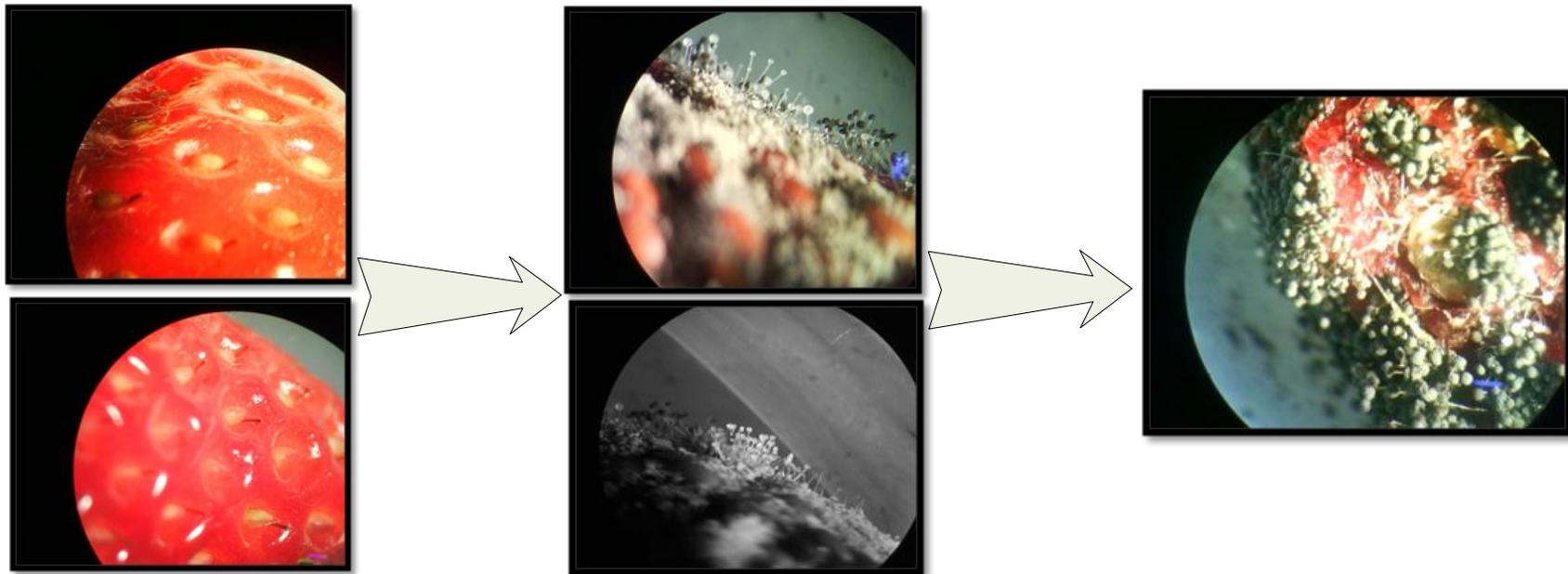
90.56% Humedad en la fruta

Recubrimiento de ácido acético al 0.5% en la superficie de la fresa

Transcurridos los 4 días la fresa presentaba presencia de hongos en las oclusiones, la semilla se encontraba expuesta y en sus alrededores crecimiento microbiano.

73.08 % Humedad en la fruta

Esquema 5. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con un recubrimiento de ácido acético al 0.5% a temperatura ambiente



Sin recubrimiento en la superficie de la fresa

En la aplicación inicial de la película, se observó cómo mejoró la textura, se vio brillante. Con arrugamiento inicial nulo

100 % Humedad en la fruta

Sin recubrimiento en la superficie de la fresa

A los 2 días de la aplicación de la película de quitosana, comenzó a perder humedad de la fruta alrededor de un 35%, ya que las semillas se mostraron un poco fuera de la oclusión

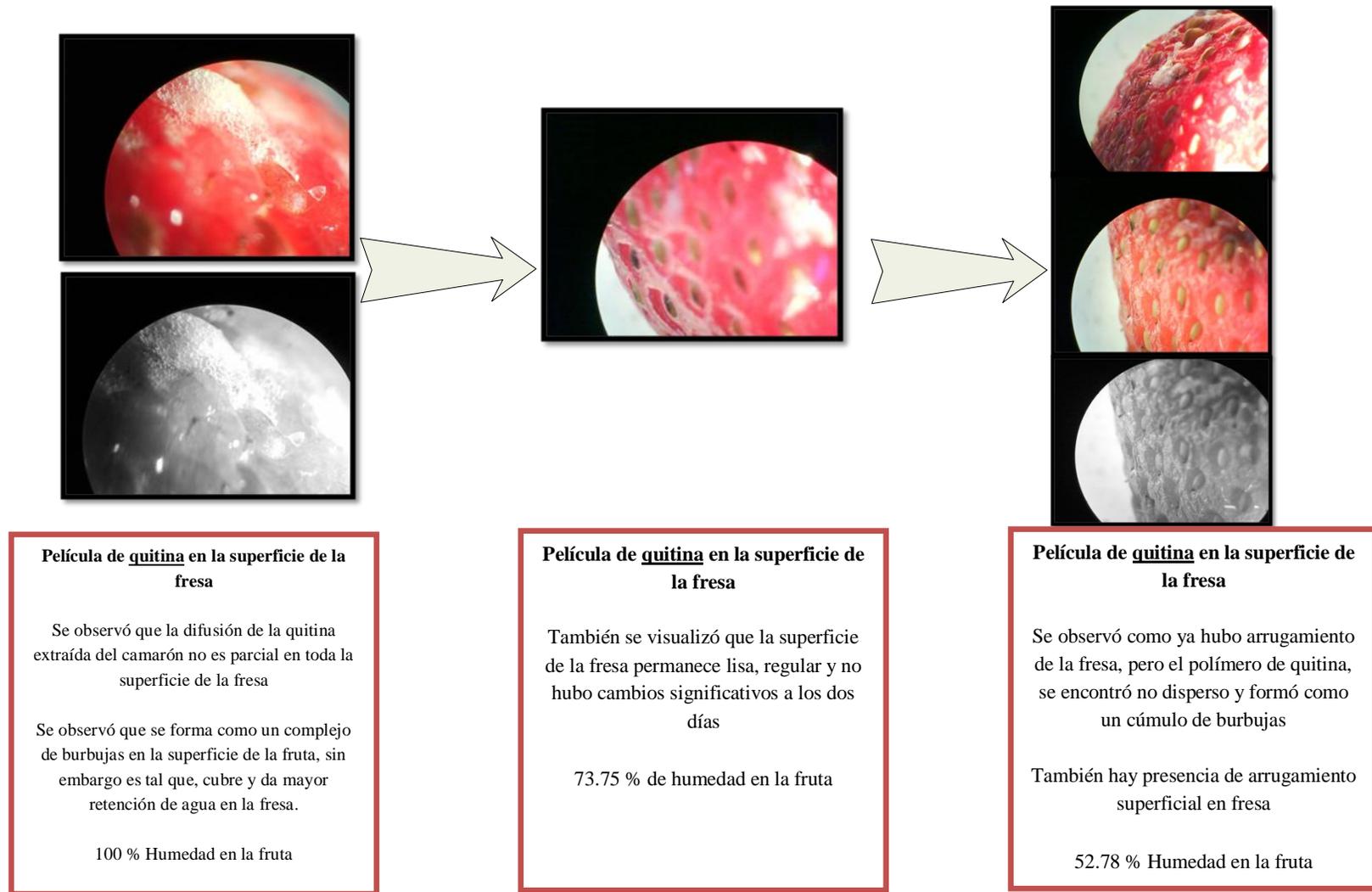
64.67 % Humedad en la fruta

Sin recubrimiento en la superficie de la fresa

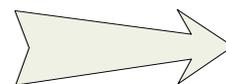
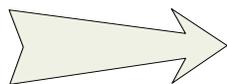
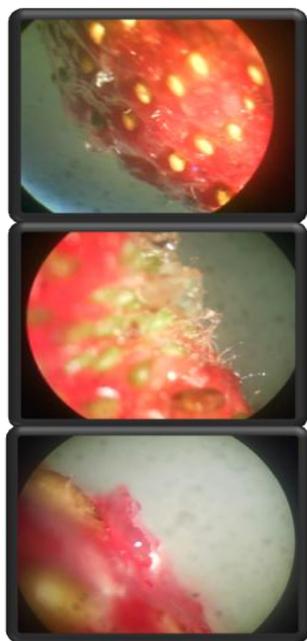
Cuando transcurrieron 4 días, la fruta no tuvo una apariencia muy buena visualmente y carente probablemente por parte del consumidor con un riesgo a la salud por su consumo

Se reporta un 39.80% de Humedad en la fruta con presencia de hongo

Esquema 6. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas sin película (control) a temperatura ambiente.



Esquema 7. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de una mezcla de quitina-quitosana obtenida del cefalotórax de camarón a temperatura ambiente



Película de quitina comercial en la superficie de la fresa

Al inicio, no hubo presencia de arrugamiento y se observó que la quitina formó cristales en la superficie de la fresa específicamente en las oclusiones (las semillas)

100 % de humedad en la fruta

Película de quitina comercial en la superficie de la fresa

A los 2 días, el arrugamiento (30%) se hizo visible en la fruta, las semillas se empezaron a exponer, sin embargo, no alojaron microorganismos (hongo). Pero si se alojó el cristal de quitina.

62.46% de humedad en la fruta

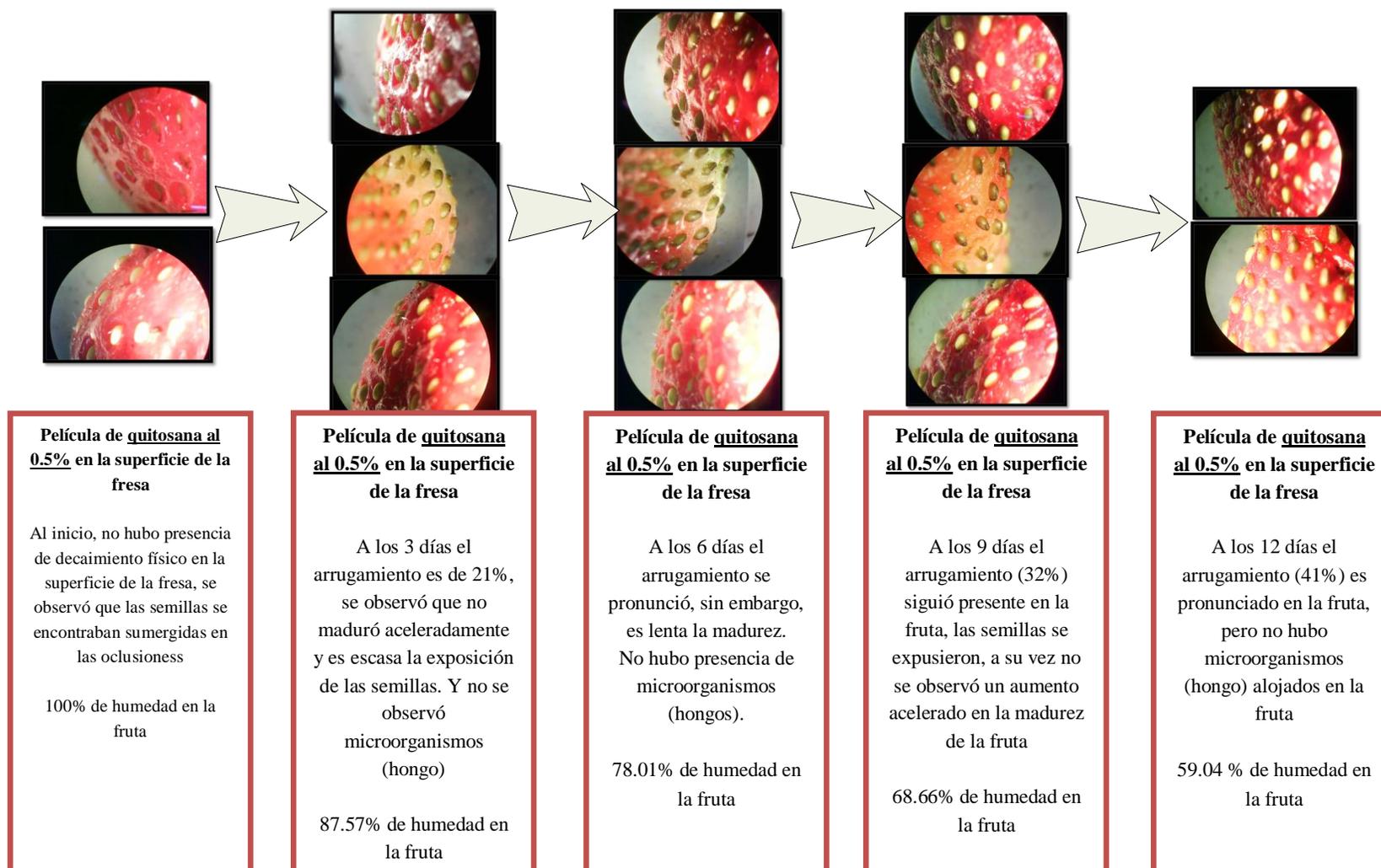
Película de quitina comercial en la superficie de la fresa

A los 4 días el arrugamiento ya es más del 60%, en la fruta se observó la ausencia de crecimiento microbiano (hongo) y se observó la cristalización del compuesto en superficie de la fresa.

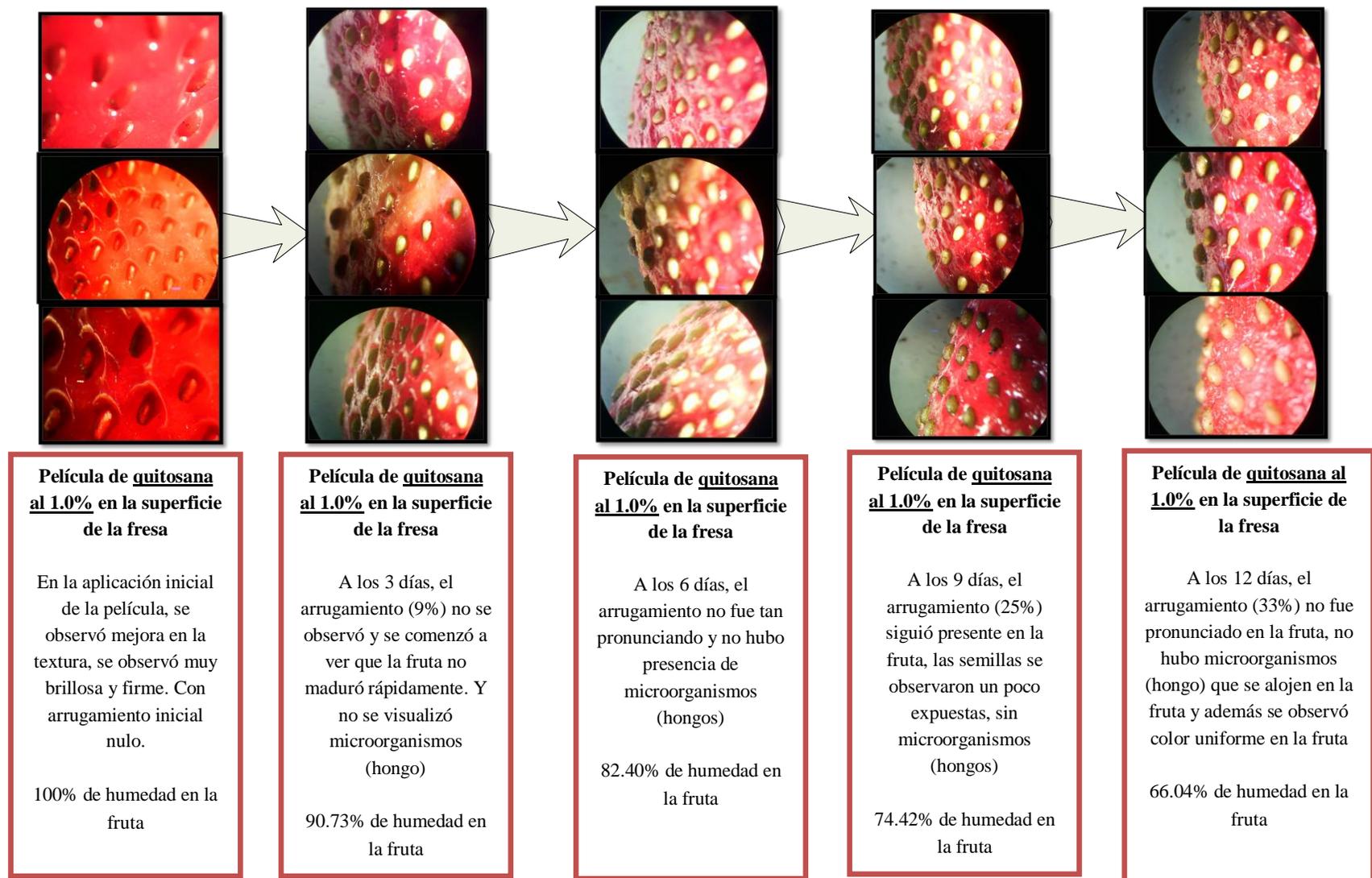
41.16% de humedad en la fruta

Esquema 8. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de quitina comercial a temperatura ambiente

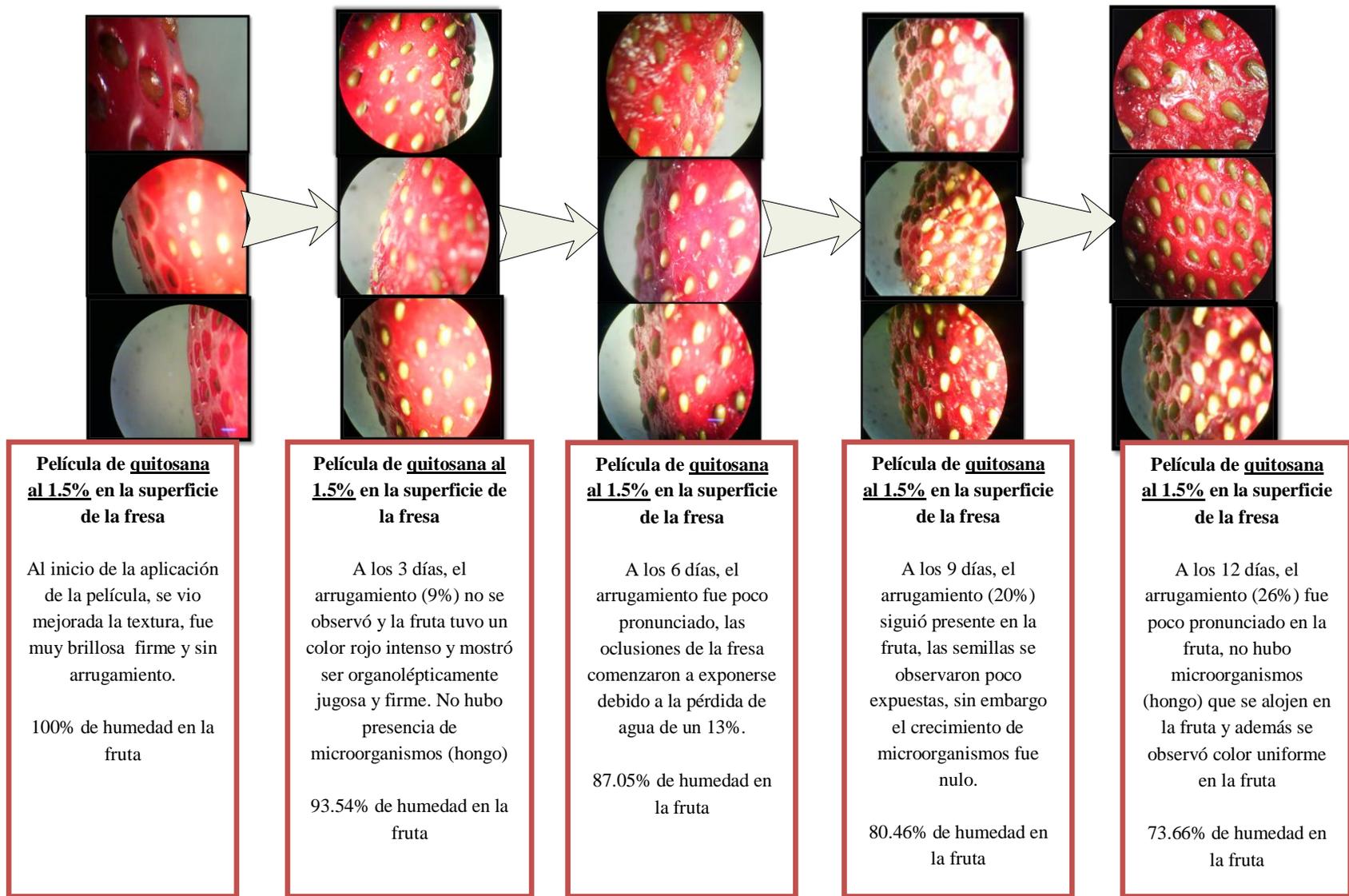
Anexo III. Lotes a temperatura refrigeración (Ácido ascórbico)



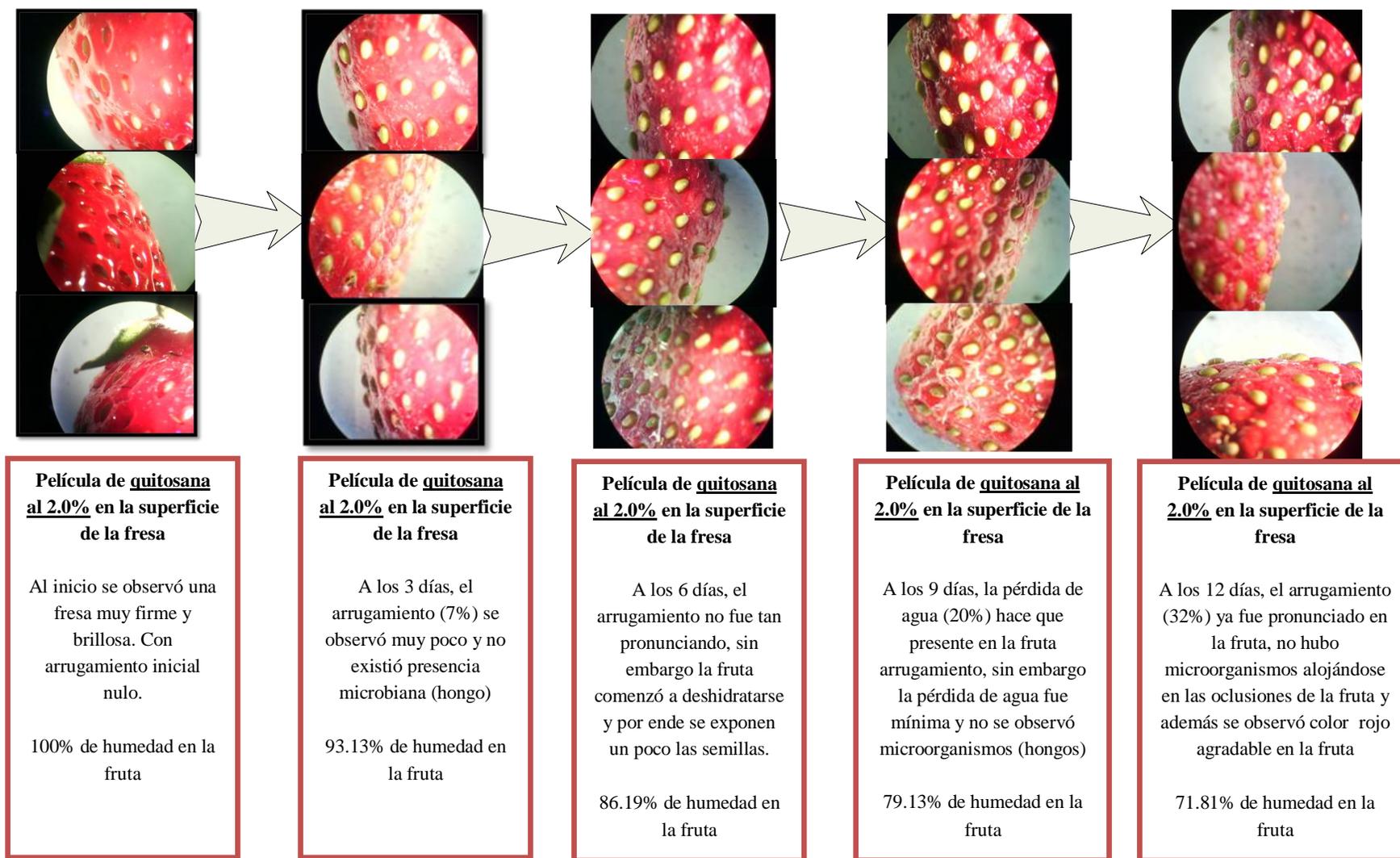
Esquema 1. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 0.5% a refrigeración (4°C)



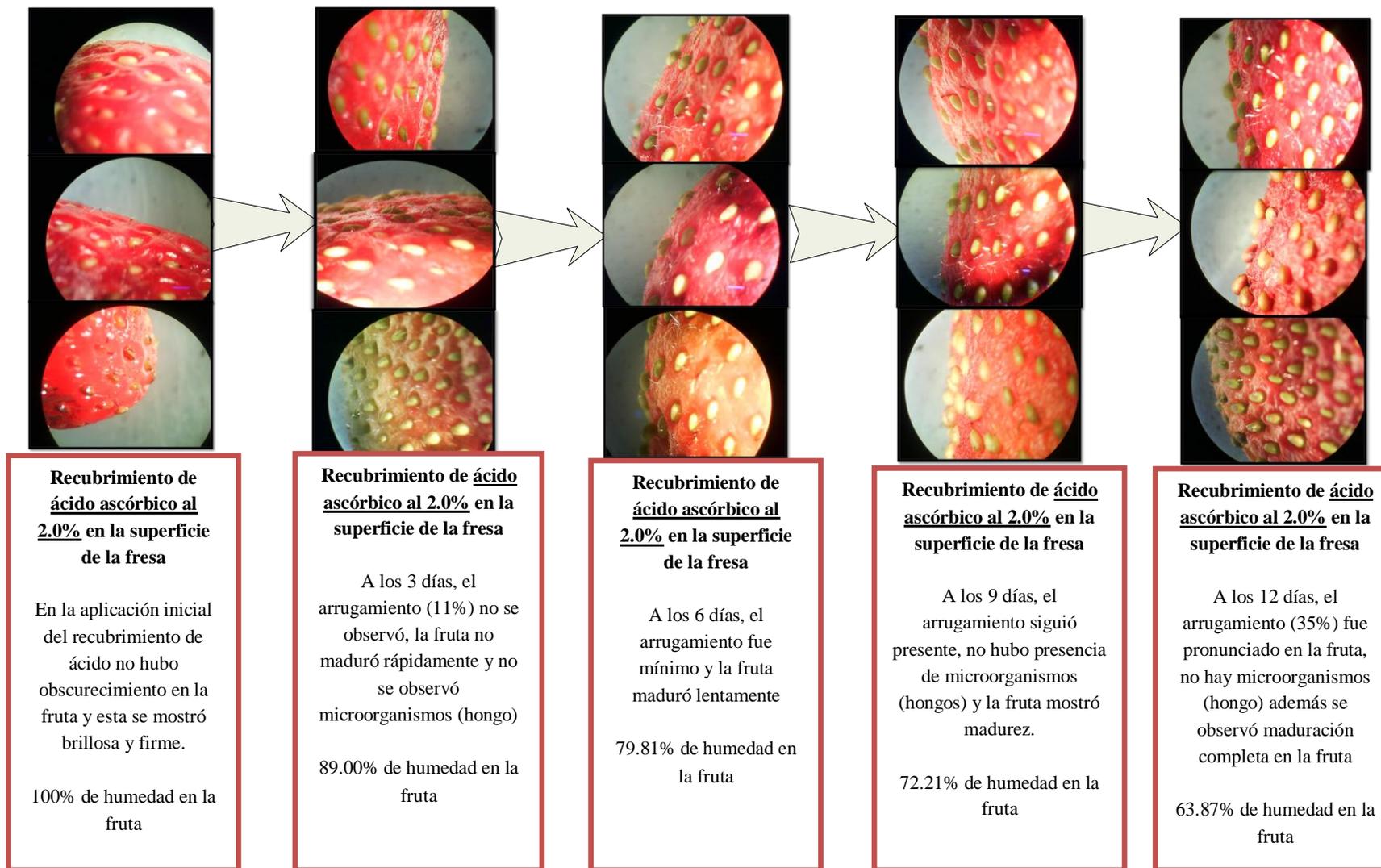
Esquema 2. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 1.0% a refrigeración (4°C)



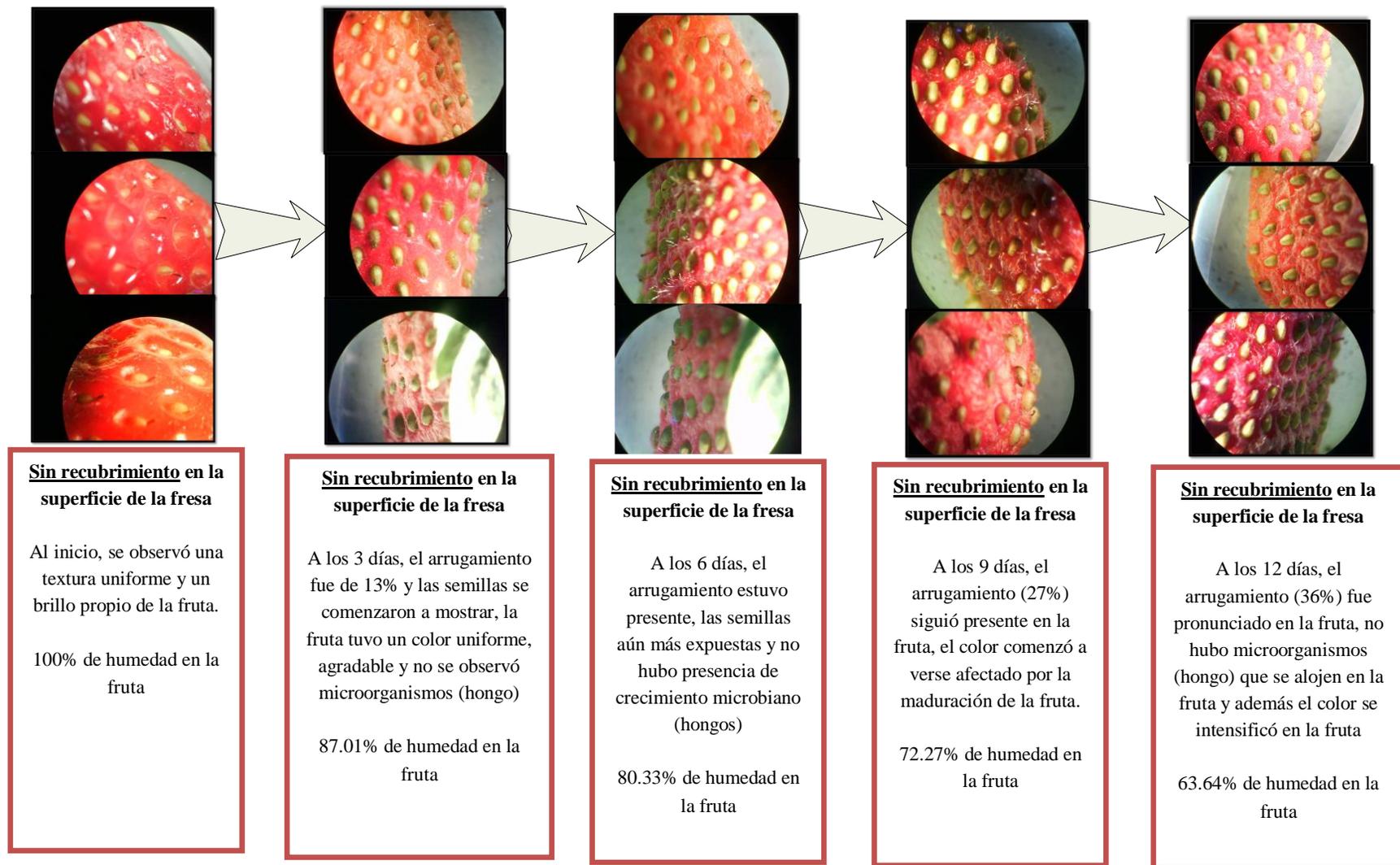
Esquema 3. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 1.5% a refrigeración (4°C)



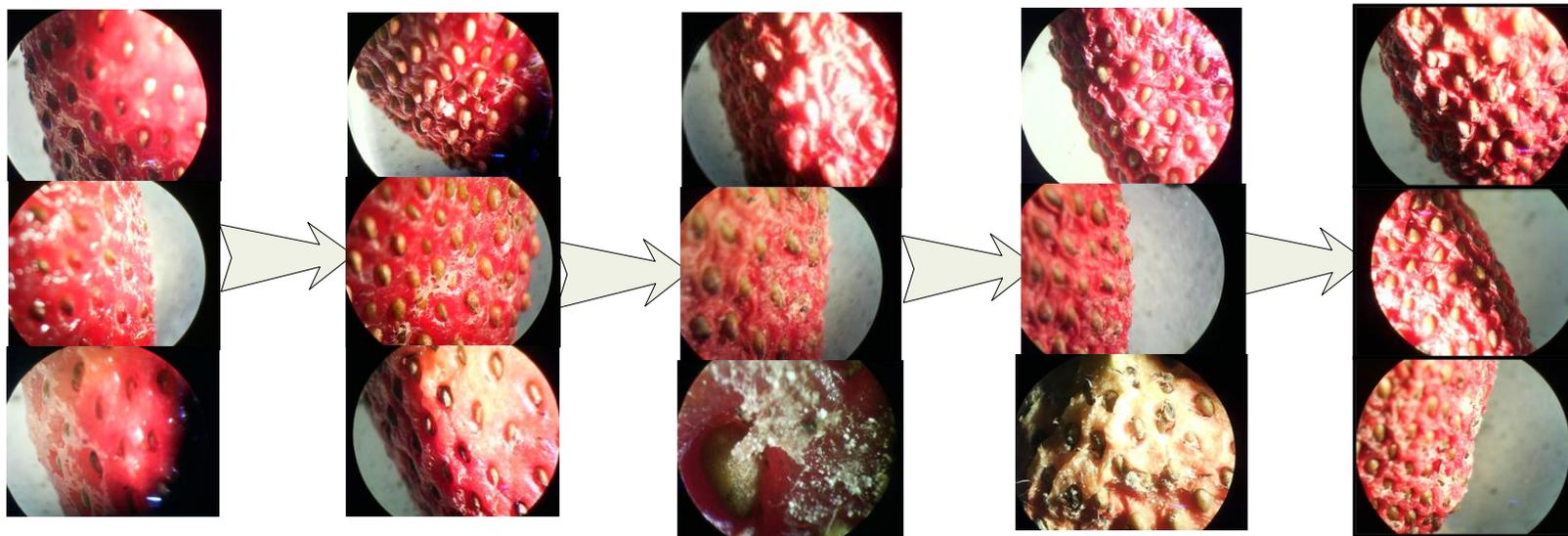
Esquema 4. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de 2.0% a refrigeración (4°C)



Esquema 5. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con un recubrimiento de ácido ascórbico al 2.0% a refrigeración (4°C)



Esquema 6. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas sin película (control) a refrigeración (4°C)



Película de quitina experimental en la superficie de la fresa

En la aplicación inicial de la película, se observó dispersión total de la misma en la fruta mejorando brillo y firmeza.

100% de humedad en la fruta

Película de quitina experimental en la superficie de la fresa

A los 3 días, el arrugamiento se observó por la deshidratación del calcio contenido en la película mejorando el brillo en la fruta y evitando maduración rápida.

88.83% de humedad en la fruta

Película de quitina experimental en la superficie de la fresa

A los 6 días, el arrugamiento fue mayor y se observó la cristalización del polímero en la superficie evitando crecimiento de microorganismos (hongos)

77.61% de humedad en la fruta

Película de quitina experimental en la superficie de la fresa

A los 9 días, el arrugamiento (32%) siguió muy presente en la fruta, pero en la fruta no se observó deterioro por crecimiento microbiano y la maduración no se vio favorecida.

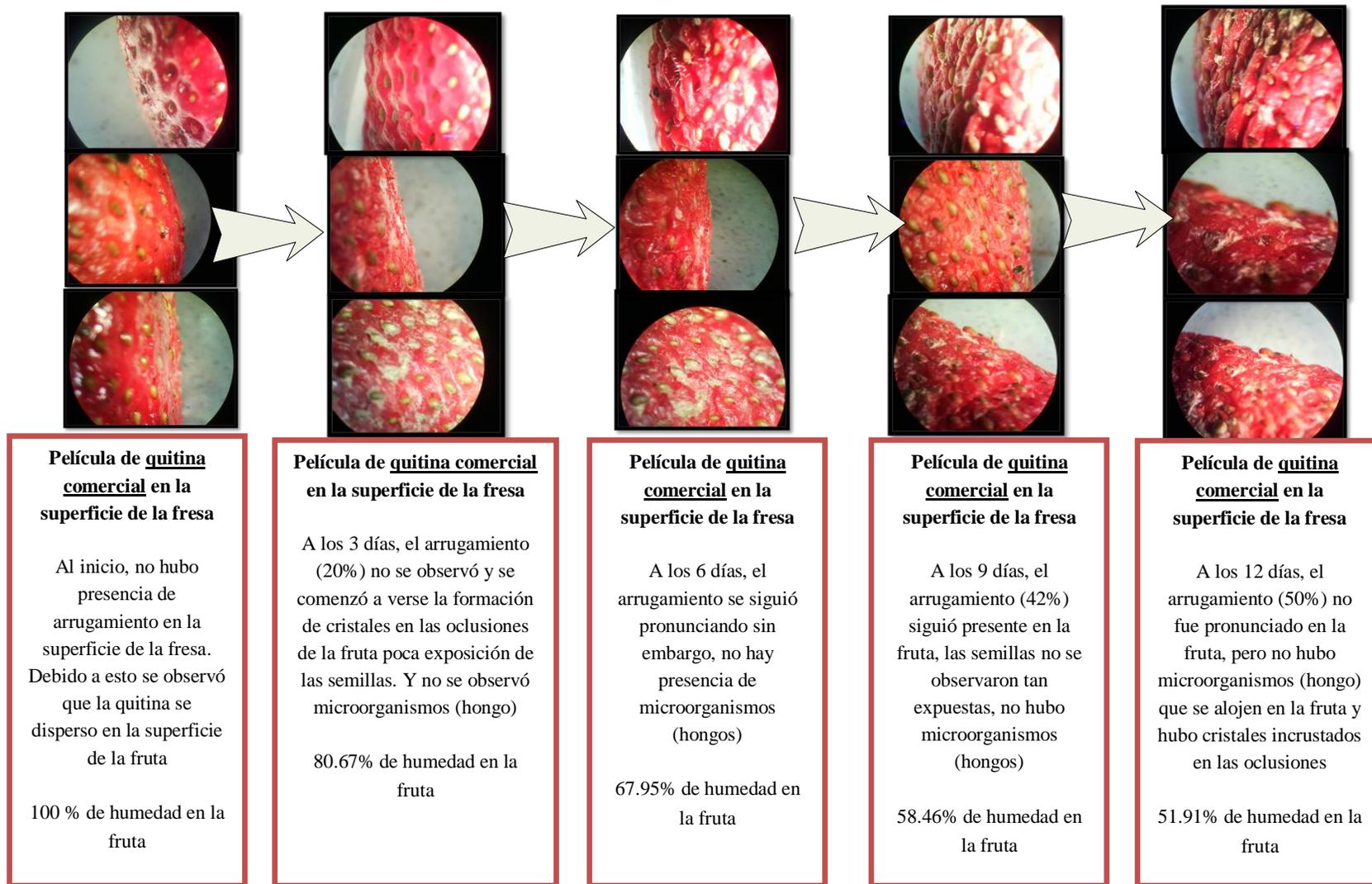
67.68% de humedad en la fruta

Película de quitina experimental en la superficie de la fresa

A los 12 días, el arrugamiento (41%) fue muy pronunciado en la fruta, no hubo microorganismos (hongo) y los cristales del polímero yacen en la superficie de la fruta.

58.47% de humedad en la fruta

Esquema 7. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de quitina experimental a refrigeración (4°C)



Esquema 8. Observaciones en el microscopio estereoscópico en fresas con película de quitina comercial a refrigeración (4°C)

Anexo IV. Datos experimentales

1. Temperatura refrigeración (4°C)

1.1. Pérdida de humedad medida en masa

Tabla 1. Datos del porcentaje de pérdida de humedad, medida en masa (g), en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]				Qn-S-AAs [%]				Blanco [%]	
			0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5		2.0
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
1	100	92.81±0.80	96.92±3.16	97.13±1.65	99.06±3.02	98.81±1.29	96.19±2.56	94.54±2.27	97.47±0.94	99.00±0.50	99.03±0.25	95.16±1.73
2	93.53±0.99	84.53±1.20	93.33±3.90	94.05±2.49	95.80±3.67	95.05±2.29	92.04±3.84	91.33±1.91	93.45±1.45	95.75±0.79	95.45±0.14	90.93±2.66
3	88.83±1.84	80.67±1.30	89.37±4.94	90.87±3.26	92.28±4.52	90.99±2.85	89.00±4.49	87.57±1.04	90.73±1.93	93.54±0.91	93.13±0.01	87.01±5.70
4	85.09±2.21	75.71±2.11	86.60±5.37	88.11±3.98	89.49±4.96	87.78±3.48	85.94±5.02	84.23±1.32	87.75±2.05	91.26±1.03	90.71±0.12	85.51±4.33
5	80.83±2.64	71.48±3.22	83.40±6.07	84.80±4.60	85.59±5.48	82.46±5.45	82.55±6.06	80.45±2.00	84.48±2.41	88.65±1.12	87.95±0.34	82.30±5.33
6	77.61±2.82	67.95±4.05	80.40±6.56	82.71±5.12	82.80±5.96	79.15±6.09	79.81±6.57	78.01±1.90	82.40±2.63	87.05±1.19	86.19±0.39	80.33±5.89
7	74.25±3.04	64.54±4.85	77.40±7.12	79.56±5.52	79.92±6.67	75.91±6.58	77.28±7.43	74.77±2.12	79.58±2.88	84.74±1.28	83.70±0.49	77.40±6.63
8	70.20±3.54	61.28±5.46	73.58±8.14	75.80±6.65	75.70±7.72	71.01±7.81	74.87±7.81	72.03±2.37	77.22±3.06	82.78±1.38	81.59±0.57	75.06±7.21
9	67.68±3.77	58.46±5.95	71.27±8.53	73.70±7.01	73.19±8.17	68.19±8.32	72.21±8.22	68.66±2.62	74.42±3.25	80.46±1.60	79.13±0.75	72.27±7.75
10	63.70±4.01	56.72±6.16	67.55±9.18	70.40±7.57	69.49±9.01	64.04±9.23	69.27±8.76	65.00±2.90	71.23±3.53	77.87±1.79	76.41±0.97	68.97±8.41
11	60.90±4.24	54.14±6.18	64.74±9.95	67.68±8.16	66.53±9.72	60.40±10.36	66.84±9.11	62.32±3.16	68.85±3.68	75.94±1.86	74.32±1.09	66.47±8.98
12	58.47±4.14	51.91±6.15	-	-	-	-	63.87±9.60	59.04±3.37	66.04±3.82	73.66±1.97	71.81±1.24	63.64±9.49

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

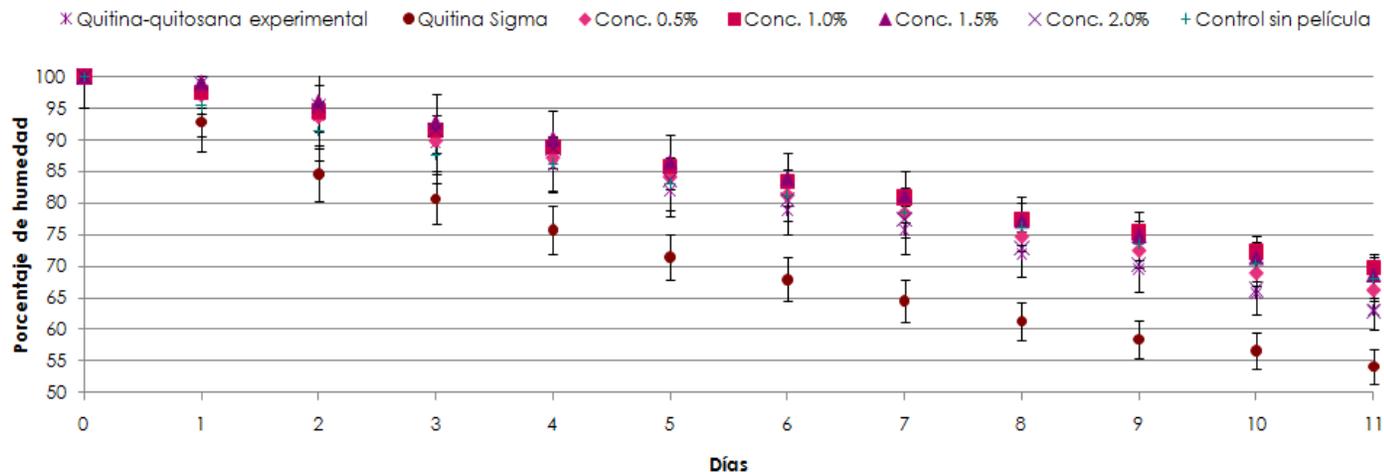


Gráfico 1. Pérdida de humedad, medida en masa (g) en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

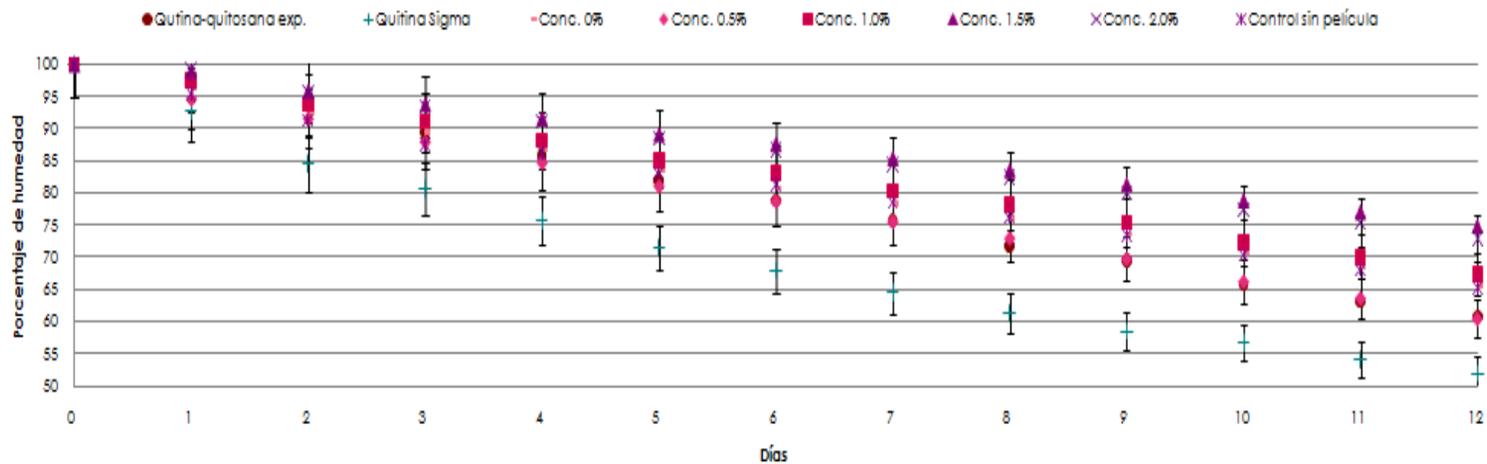


Gráfico 2. Pérdida de humedad, medida en masa (g) en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido ascórbico a diferentes concentraciones

1.2. Determinación de pH

Tabla 2. Datos de la variación de pH en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]				Qn-S-AAs [%]					Blanco [%]
			0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	3.71±0.00	3.38±0.01	3.56±0.06	3.54±0.03	3.50±0.00	3.50±0.00	3.01±0.02	3.02±0.01	2.93±0.01	3.12±0.02	3.06±0.01	3.07±0.02
1	4.14±0.03	3.38±0.02	3.85±0.04	4.16±0.03	4.14±0.05	4.20±0.06	3.51±0.03	3.32±0.05	3.33±0.02	3.32±0.03	3.56±0.03	3.20±0.04
2	3.78±0.12	3.41±0.00	3.53±0.01	3.49±0.00	3.51±0.00	3.51±0.00	3.39±0.05	3.34±0.04	3.23±0.01	3.39±0.02	3.34±0.01	3.25±0.18
3	3.80±0.04	3.3±0.05	3.68±0.06	3.68±0.05	3.59±0.02	3.47±0.00	3.27±0.04	3.15±0.05	3.24±0.03	3.36±0.02	3.19±0.01	3.35±0.04
4	4.00±0.03	3.39±0.02	2.99±0.27	3.26±0.02	3.40±0.03	3.34±0.01	3.34±0.01	3.26±0.03	3.28±0.00	3.39±0.02	3.35±0.01	3.21±0.06
5	3.82±0.02	3.44±0.01	3.30±0.09	3.41±0.01	3.44±0.01	3.43±0.01	3.36±0.01	3.11±0.05	3.29±0.01	3.20±0.05	3.37±0.05	3.31±0.01
6	3.71±0.02	3.36±0.04	3.18±0.06	3.21±0.02	3.21±0.05	3.24±0.02	3.37±0.02	3.39±0.03	3.37±0.03	3.32±0.04	3.34±0.01	3.21±0.02
7	3.67±0.02	3.35±0.03	3.17±0.03	3.13±0.05	3.24±0.03	3.31±0.01	3.31±0.02	3.36±0.03	3.34±0.01	3.24±0.02	3.280.03	3.24±0.06
8	3.78±0.01	3.32±0.02	3.33±0.03	3.19±0.05	3.28±0.02	3.37±0.01	3.32±0.05	3.28±0.02	3.50±0.05	3.42±0.04	3.45±0.05	3.32±0.05
9	3.79±0.00	3.57±0.01	3.41±0.21	3.43±0.02	3.38±0.00	3.47±0.01	3.36±0.03	3.36±0.01	3.38±0.03	3.37±0.01	3.40±0.03	3.32±0.00
10	3.77±0.00	3.29±0.01	3.46±0.02	3.42±0.03	3.57±0.01	3.55±0.03	3.57±0.01	3.23±0.04	3.41±0.07	3.35±0.02	3.49±0.02	3.10±0.02
11	3.77±0.02	3.44±0.00	3.37±0.00	3.39±0.06	3.51±0.00	3.40±0.00	3.50±0.03	3.26±0.06	3.33±0.02	3.31±0.04	3.46±0.03	3.47±0.03
12	3.84±0.01	3.33±0.00	-	-	-	-	3.44±0.01	3.28±0.02	3.38±0.02	3.40±0.00	3.33±0.02	3.17±0.01

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

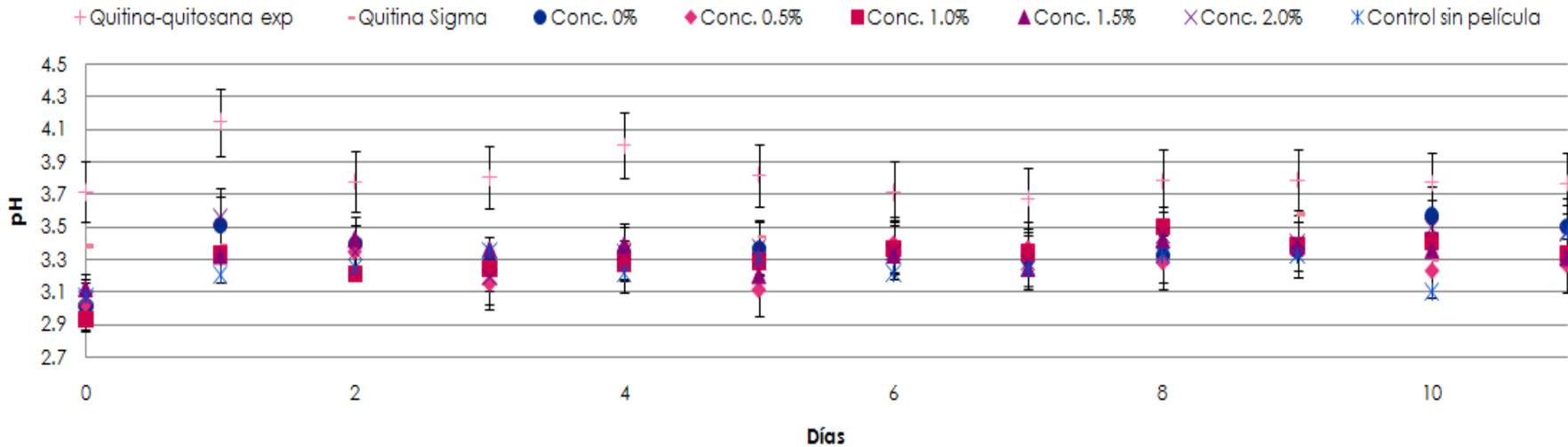


Gráfico 3. Variación de pH en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

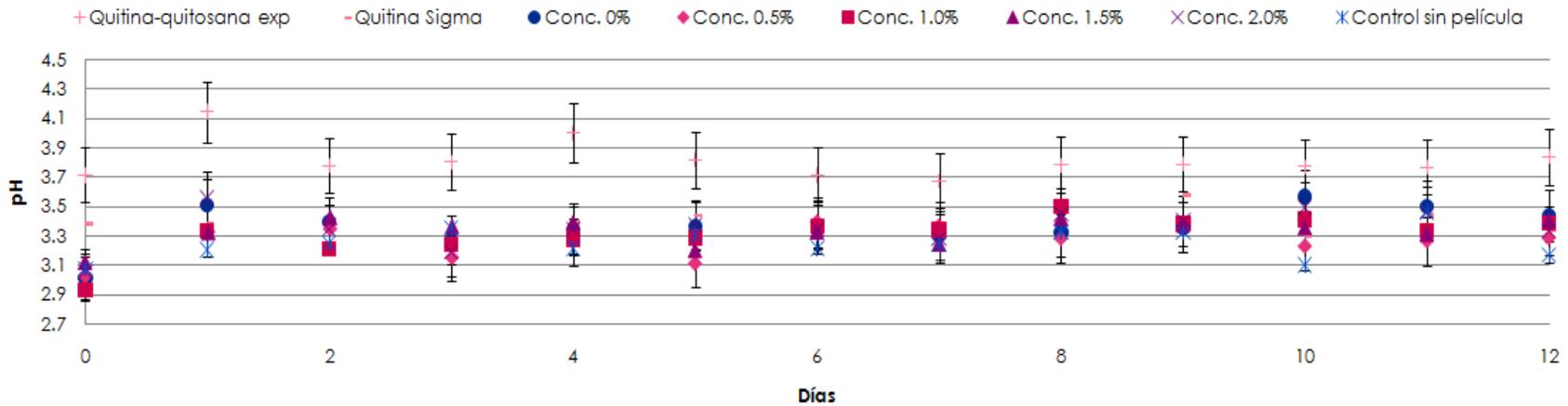


Gráfico 4. Variación de pH en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido ascórbico a diferentes concentraciones

1.3. Determinación de acidez titulable

Tabla 3. Datos de la variación del porcentaje de acidez, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]				Qn-S-AAs [%]					Blanco [%]
			0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	0.87±0.07	0.83±0.16	0.96±0.12	0.87±0.03	0.83±0.03	1.08±0.01	0.85±0.07	0.66±0.09	0.68±0.07	0.64±0.12	0.46±0.03	0.78±0.13
1	1.04±0.36	1.21±0.06	1.40±0.33	0.78±0.03	0.89±0.12	0.89±0.23	0.87±0.03	0.55±0.03	0.70±0.11	0.76±0.00	0.59±0.07	0.81±0.07
2	0.98±0.03	1.15±0.06	0.85±0.03	0.98±0.03	0.81±0.09	0.70±0.11	0.66±0.09	0.76±0.11	0.66±0.03	0.66±0.03	0.66±0.03	0.72±0.16
3	0.70±0.16	1.11±0.09	0.93±0.13	1.02±0.06	0.89±0.00	1.08±0.11	0.83±0.16	0.68±0.07	0.78±0.03	0.81±0.13	0.81±0.07	0.70±0.06
4	0.92±0.20	1.19±0.09	0.96±0.06	0.93±0.32	0.85±0.09	0.78±0.03	0.57±0.06	0.96±0.06	0.76±0.11	0.89±0.22	0.85±0.07	0.68±0.07
5	0.87±0.13	1.30±0.07	1.06±0.07	0.85±0.16	0.72±0.09	0.87±0.13	0.87±0.07	0.68±0.13	0.76±0.11	0.83±0.06	0.81±0.13	0.78±0.16
6	0.96±0.06	1.30±0.16	0.98±0.03	0.83±0.12	0.87±0.03	0.91±0.07	0.61±0.03	0.64±0.16	0.61±0.09	0.93±0.03	0.76±0.12	0.74±0.03
7	0.89±0.26	1.32±0.13	0.93±0.22	0.87±0.07	1.11±0.18	1.08±0.06	0.78±0.25	0.81±0.09	0.85±0.13	1.13±0.57	0.83±0.19	0.78±0.18
8	1.13±0.19	1.11±0.16	0.89±0.16	0.93±0.13	0.93±0.09	1.21±0.06	0.91±0.07	0.70±0.06	0.93±0.07	0.72±0.03	0.76±0.06	0.68±0.07
9	0.89±0.12	1.47±0.23	0.91±0.22	0.81±0.29	1.25±0.20	1.02±0.16	0.81±0.03	0.87±0.13	0.78±0.13	0.70±0.06	0.72±0.09	0.89±0.06
10	0.98±0.09	1.00±0.22	1.08±0.00	1.04±0.20	1.04±0.09	0.76±0.12	0.81±0.09	0.91±0.03	0.89±0.12	0.93±0.18	0.81±0.09	0.59±0.03
11	1.36±0.13	1.12±0.14	0.89±0.01	1.06±0.07	0.89±0.06	1.34±0.22	0.60±0.22	0.64±0.12	0.78±0.19	0.70±0.11	1.02±0.72	0.66±0.03
12	1.00±0.26	1.28±0.16		-			0.74±0.16	0.57±0.11	0.66±0.03	0.57±0.11	0.59±0.03	0.74±0.13

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

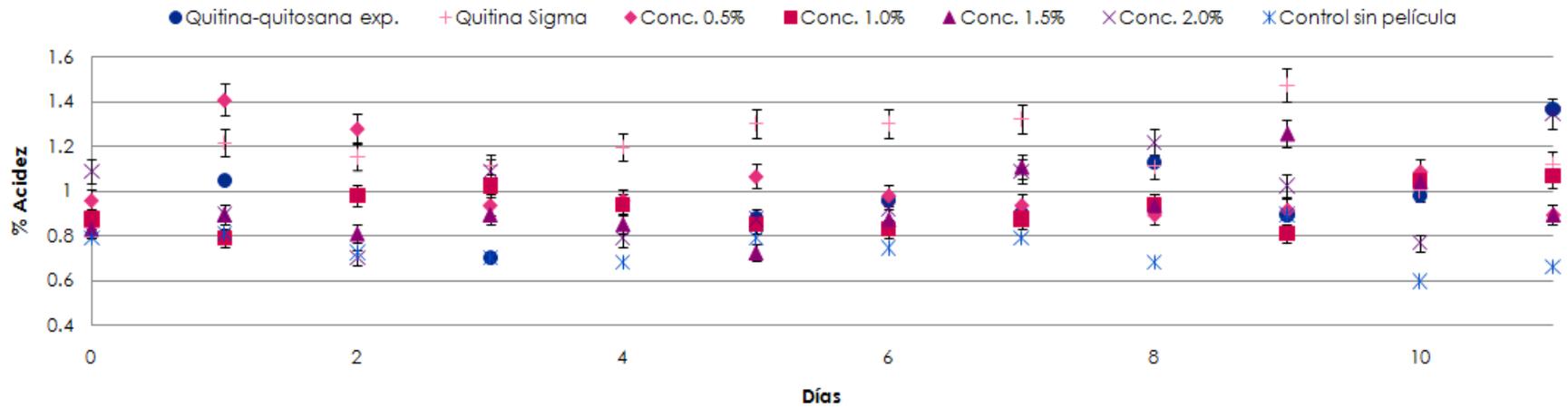


Gráfico 5. Variación del porcentaje de acidez en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

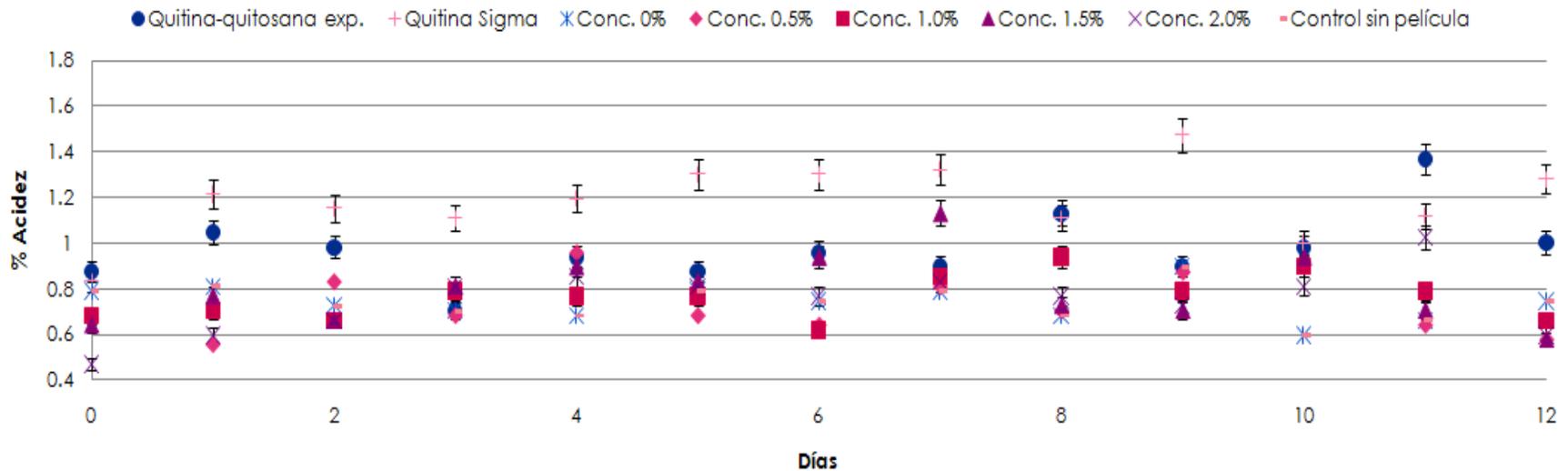


Gráfico 6. Variación del porcentaje de acidez en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido ascórbico a diferentes concentraciones

1.4. Determinación de grados Brix

Tabla 4. Datos de los °Bx, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]				Qn-S-AAs [%]					Blanco [%]
			0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	8.80±	11.25	6.00	7.20	7.20	9.50	11.21	8.01	9.01	11.26	9.28	9.33
1	10.20±	13.16	11.2	13.20	6.80	5.40	12.66	6.50	9.16	10.75	11.16	10.00
2	10.60±	15.23	11.9	10.10	6.90	7.00	13.53	11.20	9.06	13.13	9.26	9.40
3	11.70±	13.66	9.0	11.30	11.20	9.30	9.66	10.73	11.60	13.66	10.20	8.46
4	10.40±	18.93	8.1	7.20	9.80	9.60	10.86	10.80	10.66	12.93	10.66	11.13
5	12.00	18.16	9.2	9.10	8.00	11.00	13.24	12.92	13.75	15.21	13.04	11.61
6	14.40	19.00	8.46	10.46	10.26	9.20	13.66	13.88	14.72	16.03	13.77	12.07
7	16.40	21.66	9.00	10.30	11.70	11.40	13.06	11.13	12.46	13.53	12.73	10.73
8	16.30	23.50	10.54	11.98	12.93	19.10	13.06	16.66	19.73	15.93	17.66	16.06
9	16.40	25.83	10.33	14.33	11.73	11.40	15.53	16.60	17.53	16.40	12.66	14.73
10	16.70	27.90	11.11	12.77	13.01	15.62	15.34	14.33	19.66	23.60	17.06	12.53
11	19.80	27.60	9.66	13.90	16.15	21.00	16.33	19.33	14.86	17.80	16.66	11.93
12	18.21	30.12	-	-	-	-	16.18	19.62	20.53	20.96	18.16	14.82

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

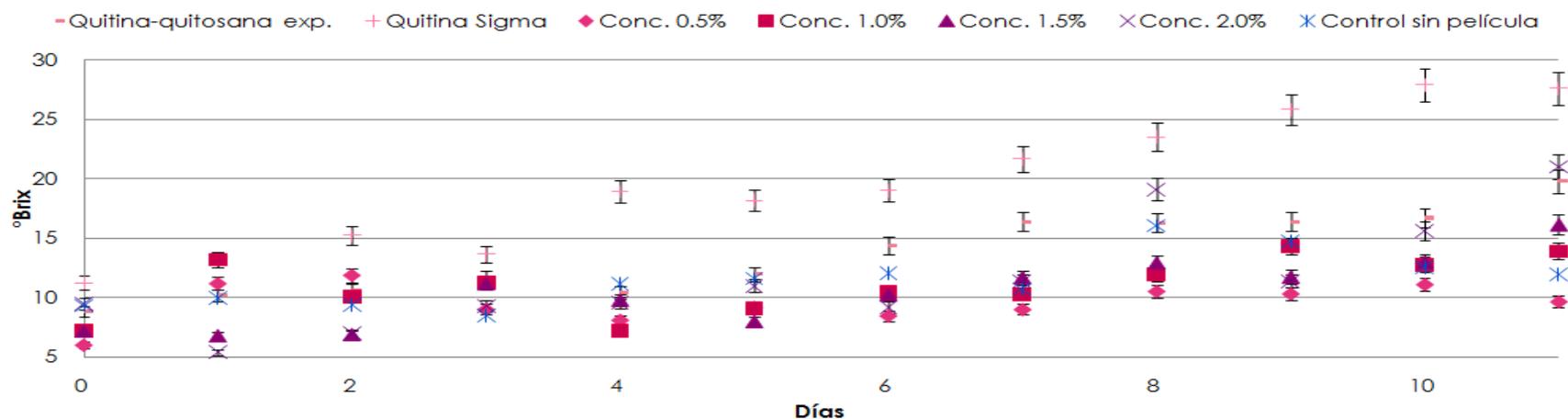


Gráfico 7. Variación de °Bx en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

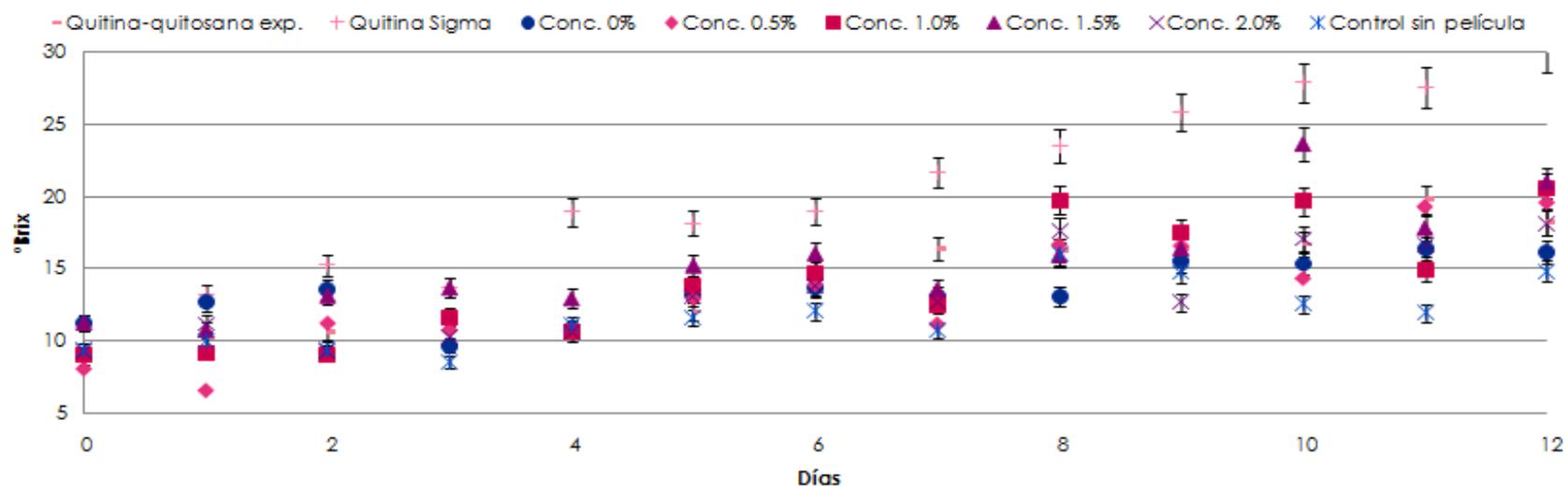


Gráfico 8. Variación de °Bx en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido ascórbico a diferentes concentraciones

1.5. Determinación de vitamina C

Tabla 4. Datos de la variación de la vitamina C, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido ascórbico (Qn-S-AAs) y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [mg AA/100g muestra]	Q-S [mg AA/100g muestra]	Qn-S-AAc [mg AA/100g muestra]				Qn-S-AAs [mg AA/100g muestra]					Blanco [mg AA/100g muestra]
			0.5	1.0	1.5	2.0	0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	76.77±22.70	57.03±9.87	63.75±17.18	59.51±6.44	87.79±35.58	69.72±11.76	102.93±16.17	96.52±31.89	116.28±16.44	108.03±20.64	144.21±4.16	105.03±20.07
1	50.04±14.71	70.95±6.64	60.68±8.69	66.67±6.59	48.89±9.40	55.26±5.52	78.29±18.87	83.42±3.28	105.40±59.83	109.55±35.07	88.07±30.51	66.20±6.55
2	63.29±5.75	106.46±31.98	51.79±5.75	64.71±8.47	53.10±11.84	42.55±3.20	68.92±17.23	68.53±12.22	68.16±18.78	87.42±15.42	68.58±11.43	70.87±11.96
3	63.74±8.34	68.08±8.91	65.98±22.85	59.81±5.43	53.65±6.40	59.50±5.40	63.39±9.98	59.00±3.29	70.60±21.21	69.97±15.42	51.04±6.80	70.15±8.68
4	60.53±3.27	89.38±22.07	65.41±12.01	61.40±5.58	57.03±5.70	51.45±0.00	70.42±14.37	65.88±21.38	51.56±5.79	100.47±32.90	74.59±17.99	45.99±11.49
5	56.25±5.62	84.83±41.03	68.81±8.52	46.77±11.23	39.88±0.00	56.64±14.98	80.60±11.51	63.91±14.19	87.34±11.64	75.21±20.04	77.25±8.63	48.47±13.43
6	76.47±17.09	71.30±6.67	78.30±14.73	66.82±11.13	60.09±17.21	60.65±13.31	62.27±5.66	55.49±11.95	63.33±0.00	68.33±3.38	74.41±26.23	76.37±17.62
7	66.90±11.93	100.08±15.57	69.14±6.47	85.71±8.53	67.13±3.32	56.83±0.00	57.13±6.82	66.61±14.37	58.71±11.74	60.79±18.91	69.58±14.19	69.90±11.65
8	69.20±30.09	80.62±20.76	55.18±31.44	45.71±11.42	45.09±15.34	75.09±0.00	64.55±5.86	66.05±18.73	78.80±39.35	86.38±34.42	87.94±20.31	77.86±14.69
9	70.69±13.23	72.43±8.97	61.70±16.82	90.31±11.28	57.40±8.11	46.58±3.95	43.63±3.28	43.44±3.27	78.11±25.77	60.67±8.96	55.98±8.84	56.31±9.75
10	53.94±8.82	75.60±8.66	43.74±3.29	70.37±13.17	61.07±12.14	45.62±0.00	88.03±15.52	60.70±6.78	84.77±17.65	96.09±27.24	86.48±5.76	68.09±8.91
11	49.25±3.28	62.57±14.76	49.16±6.55	59.49±6.64	61.47±16.30	59.25±3.92	50.11±8.83	66.58±6.78	78.22±17.48	76.17±13.19	70.70±5.89	53.39±6.60
12	40.71±6.41	85.46±5.69	-	-±	-±	-	56.88±5.68	76.32±8.74	89.50±16.49	101.62±13.54	82.80±12.02	79.61±6.72

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

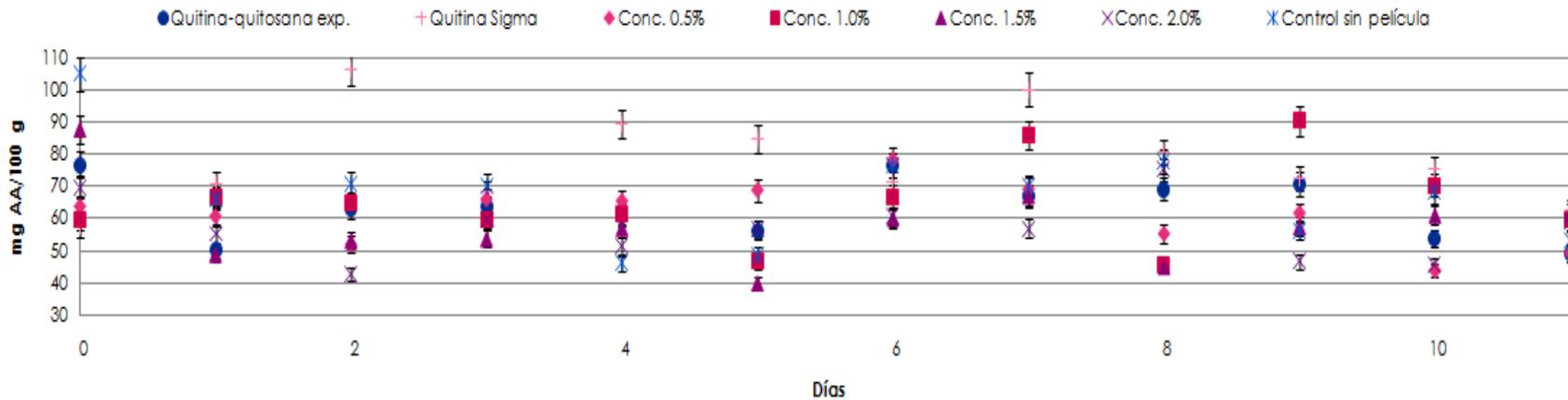


Gráfico 9. Variación de la vitamina C (mg/100g) en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

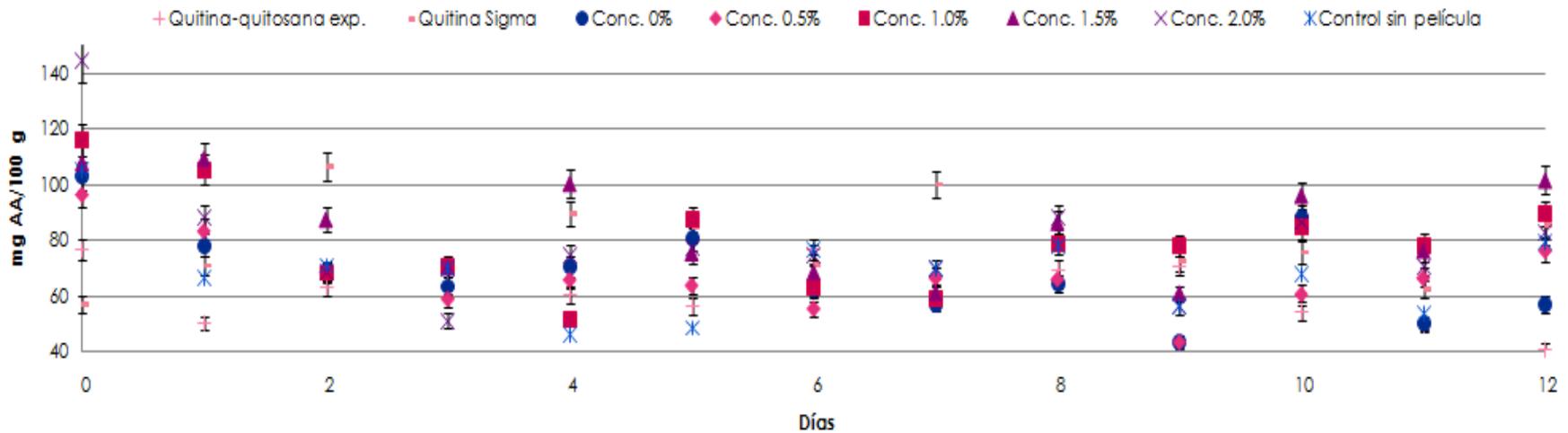


Gráfico 10. Variación de la vitamina C (mg/100g) en lotes de fresas a temperatura de refrigeración (~4°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

2. Temperatura ambiente ($20\pm 2^\circ\text{C}$)

2.1. Pérdida de humedad medida en masa

Tabla 5. Datos del porcentaje de pérdida de humedad, medida en masa (g), en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]					Blanco [%]
			0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	100	100	100	100	100	100	100	100
1	86.70 \pm 0.90	84.85 \pm 2.88	99.46 \pm 0.40	91.33 \pm 6.81	89.33 \pm 0.15	88.94 \pm 1.05	89.33 \pm 0.48	79.07 \pm 4.84
2	73.75 \pm 0.45	62.46 \pm 9.93	90.56 \pm 0.82	86.40 \pm 6.67	86.78 \pm 0.84	86.45 \pm 1.86	87.71 \pm 1.41	64.67 \pm 7.74
3	62.16 \pm 1.34	51.56 \pm 11.30	83.07 \pm 10.48	71.88 \pm 6.12	76.08 \pm 1.76	75.34 \pm 2.75	78.07 \pm 2.16	51.69 \pm 9.57
4	52.78 \pm 2.04	41.16 \pm 10.45	73.08 \pm 1.72	58.31 \pm 5.96	68.26 \pm 5.07	65.64 \pm 3.85	70.08 \pm 3.27	39.80 \pm 10.82

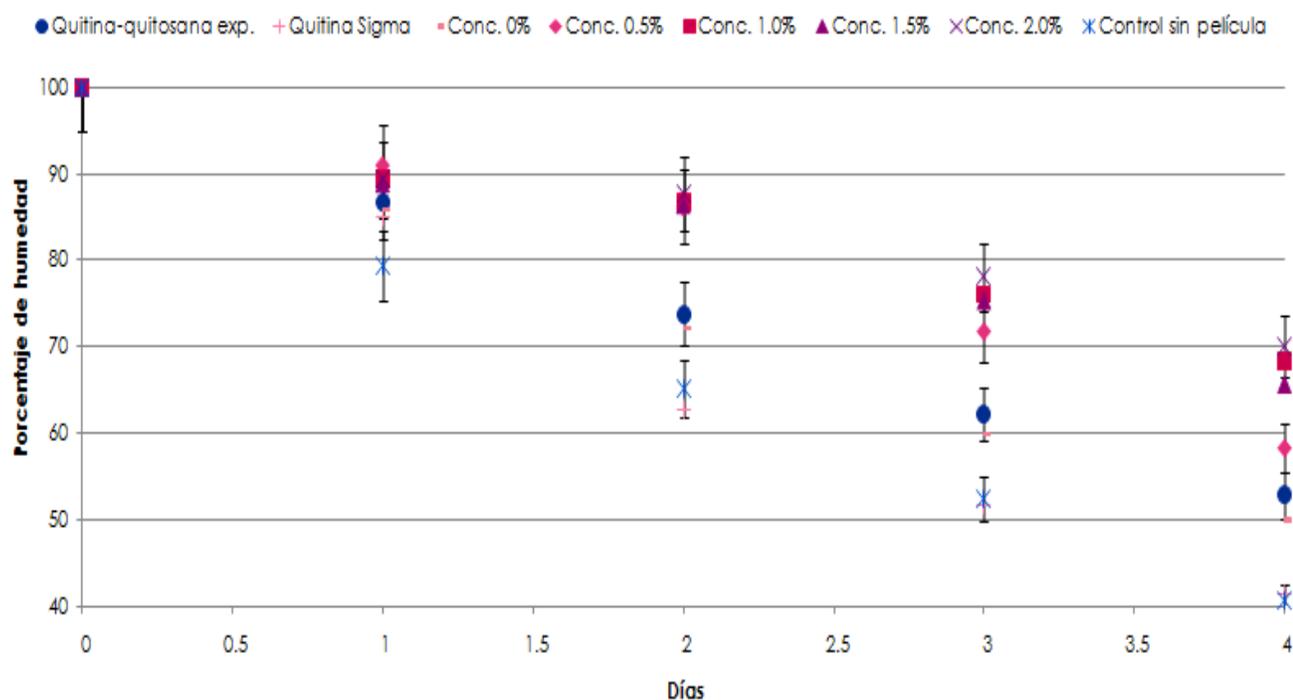


Gráfico 11. Pérdida de humedad, medida en masa (g) en lotes de fresas a temperatura ambiente ($20\pm 2^\circ\text{C}$) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

2.2. Determinación de pH

Tabla 6. Datos de la variación de pH, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]					Blanco [%]
			0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	3.81±0.02	3.40±0.02	3.49±0.07	3.74±0.02	3.55±0.01	3.64±0.03	3.76±0.02	3.55±0.03
1	4.34±0.04	3.47±0.02	3.39±0.01	3.45±0.03	3.60±0.02	3.63±0.03	3.66±0.02	3.32±0.02
2	3.63±0.04	3.57±0.01	3.15±0.05	3.40±0.17	3.41±0.01	3.44±0.04	3.44±0.00	3.41±0.03
3	3.78±0.04	3.34±0.04	3.40±0.02	3.36±0.02	3.51±0.03	3.50±0.00	3.43±0.02	3.53±0.04
4	3.95±0.01	3.25±0.01	3.51±0.03	3.59±0.07	3.55±0.04	3.60±0.00	3.67±0.03	-

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

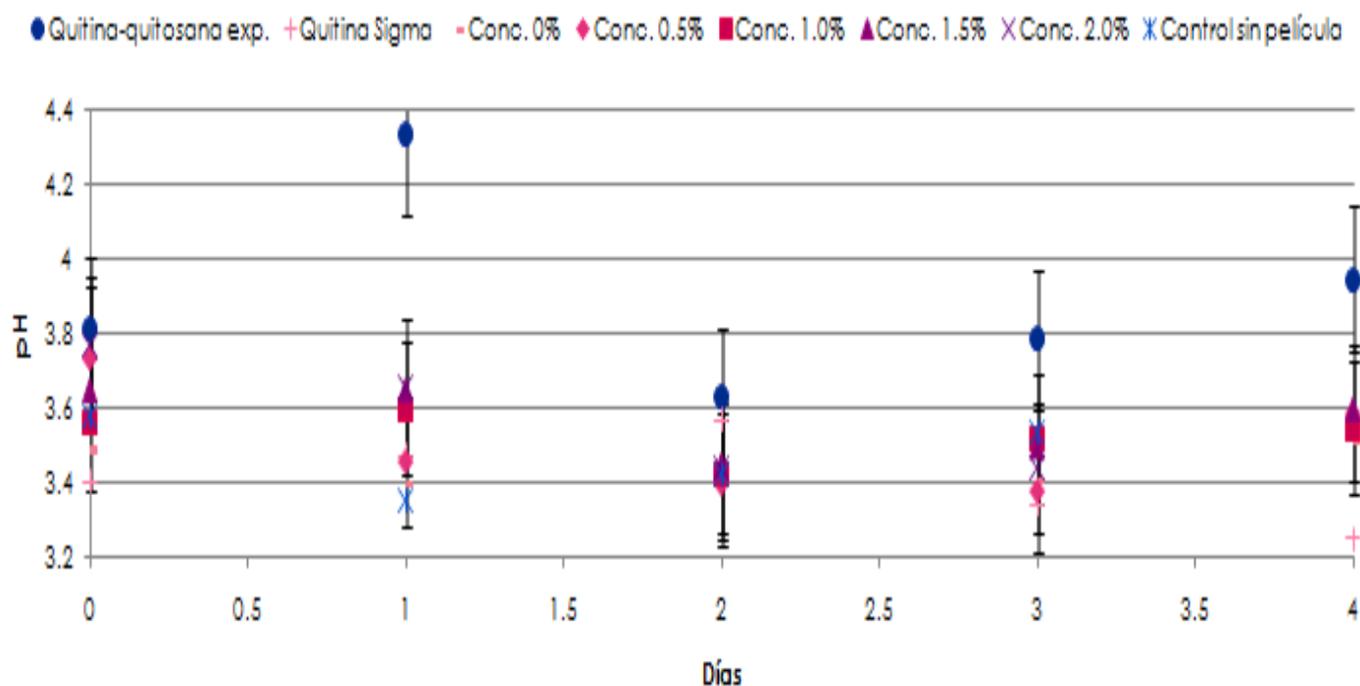


Gráfico 12. Variación de pH en lotes de fresas a temperatura ambiente ($20\pm 2^\circ\text{C}$) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

2.3. Determinación de acidez titulable

Tabla 7. Datos de la variación del porcentaje de acidez, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]					Blanco [%]
			0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	0.76±0.06	0.93±0.09	0.61±0.13	1.53±0.00	1.06±0.36	0.85±0.36	1.06±0.36	1.06±0.37
1	0.72±0.18	1.06±0.03	0.85±0.03	1.06±0.73	1.06±0.36	1.28±0.00	0.64±0.00	1.06±0.37
2	1.55±0.28	1.62±0.03	0.85±0.13	0.85±0.36	1.06±0.36	0.85±0.36	1.06±0.37	1.06±0.37
3	1.04±0.14	1.77±0.03	0.70±0.06	1.49±0.36	1.70±0.36	1.06±0.36	1.28±0.64	1.06±0.37
4	0.96±0.06	1.47±0.06	0.87±0.18	1.06±0.36	1.28±0.00	1.28±0.00	1.06±0.37	-

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

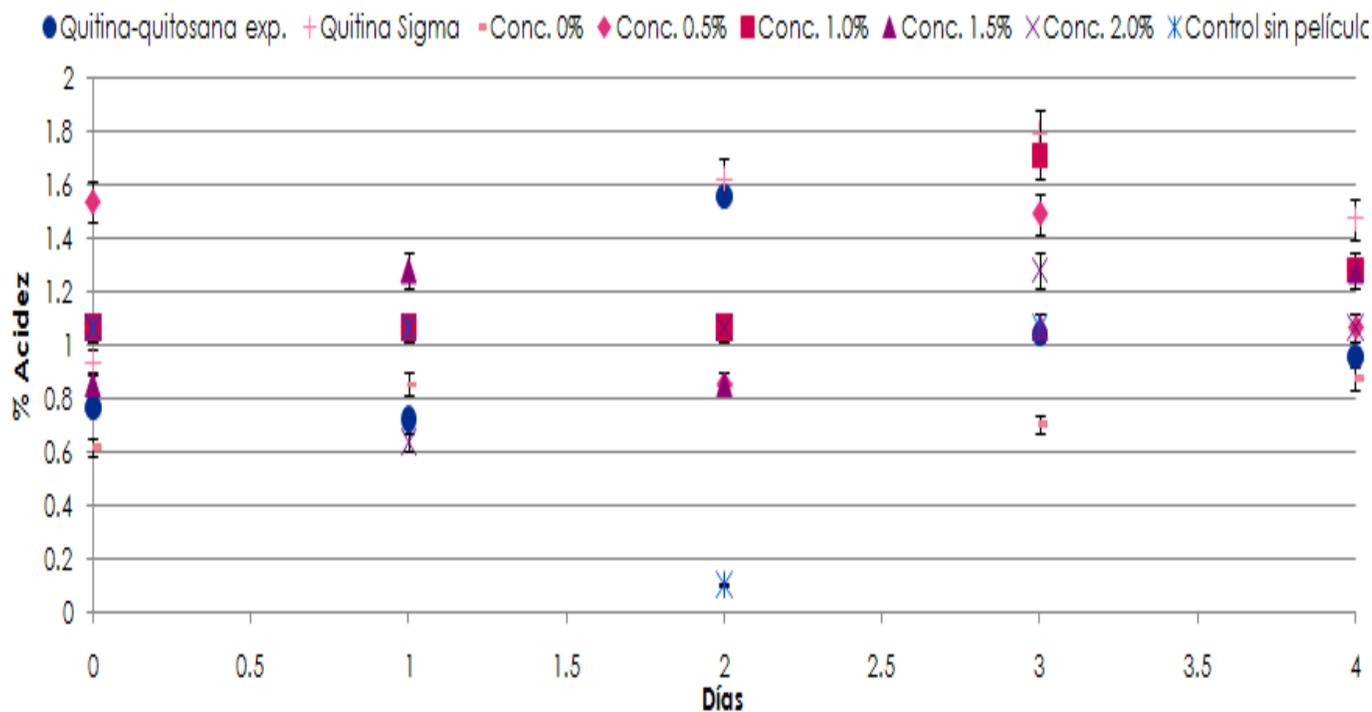


Gráfico 13. Variación del porcentaje de acidez en lotes de fresas a temperatura ambiente (20±2°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

2.4. Determinación de grados Brix

Tabla 8. Datos de los °Bx, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [%]	Q-S [%]	Qn-S-AAc [%]					Blanco [%]
			0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	9.40	10.83	11.75	6.50	7.70	8.20	9.40	7.80
1	8.00	16.66	11.52	9.20	8.10	9.20	8.80	7.50
2	13.50	22.16	10.73	11.80	10.40	9.90	9.80	10.60
3	17.90	22.75	10.31	15.00	10.50	12.80	10.60	9.20
4	12.90	23.33	*	15.00	11.00	11.30	8.90	*

(*) No se tomaron estos datos, debido a que la muestra se encontraba muy deshidratada como para que el equipo pudiera registrar la lectura

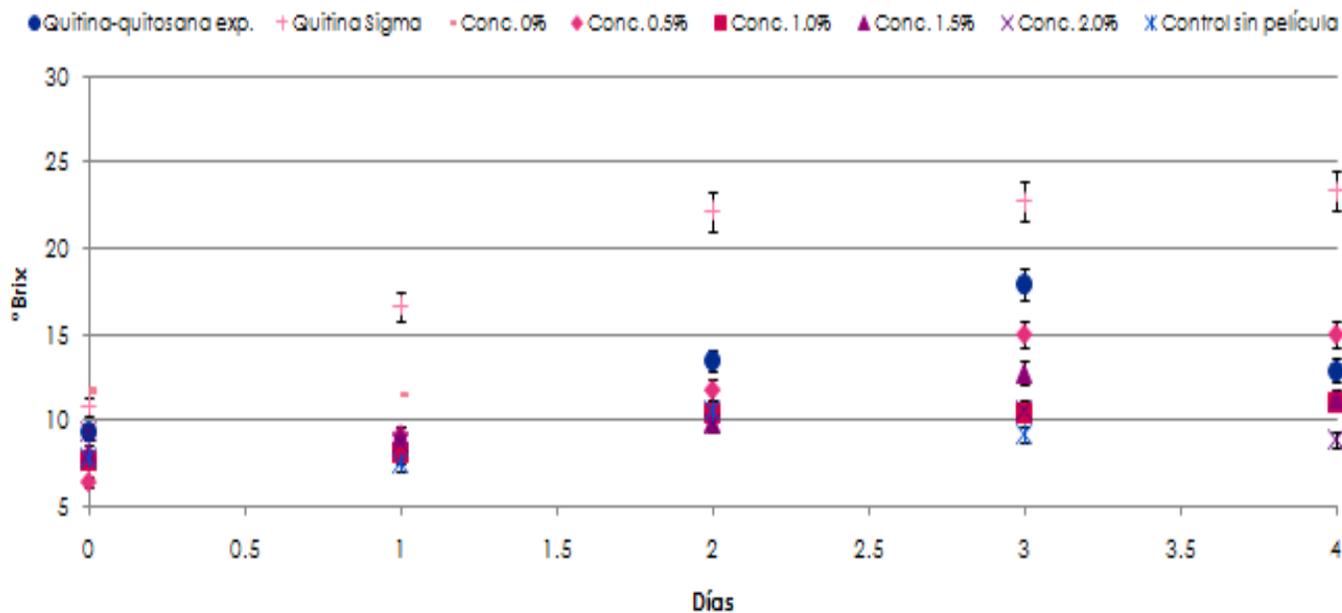


Gráfico 14. Variación de °Bx en lotes de fresas a temperatura ambiente (20±2°C) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

2.5. Determinación de vitamina C

Tabla 9. Datos de la variación de la vitamina C, en lotes de fresas con diferentes condiciones experimentales, mezcla quitina-quitosana obtenida experimentalmente (Q-Qn) y quitina Sigma disuelta con disolvente MAC-141 (Q-S), quitosana Sigma en solución acuosa acidulada con ácido acético (Qn-S-AAc), y un control sin película (Blanco)

Día	Q-Qn [mg AA/100g muestra]	Q-S [mg AA/100g muestra]	Qn-S-AAc [mg AA/100g muestra]					Blanco [mg AA/100g muestra]
			0	0.5	1.0	1.5	2.0	
0	65.47±3.3 3	64.80±8.73	70.86±23.2 2	147.55±3.0 1	103.00±12.1 3	94.08±10.1 8	101.47±6.6 3	79.00±9.5 2
1	67.11±3.3 2	69.91±6.54	60.21±8.90	85.26±10.5 4	80.76±0.00	82.03±12.8 0	79.98±10.6 5	71.16±3.6 2
2	53.89±5.9 8	134.46±10.1 2	59.25±3.31	70.98±3.61	96.96±9.66	81.38±.00	66.71±7.22	65.06±6.6 2
3	74.04±8.2 7	126.98±8.95	54.44±8.91	86.11±11.4 8	71.50±11.91	54.02±8.84	49.54±6.60	67.92±3.3 6
4	58.08±0.0 0	73.57±3.35	73.52±8.86	75.39±5.79	57.63±12.41	69.52±5.79	58.65±17.5 9	-

(*) AA = Ácido ascórbico

(-) No se tomaron estos datos, debido a que mostraban presencia de hongo en la superficie más del 75%

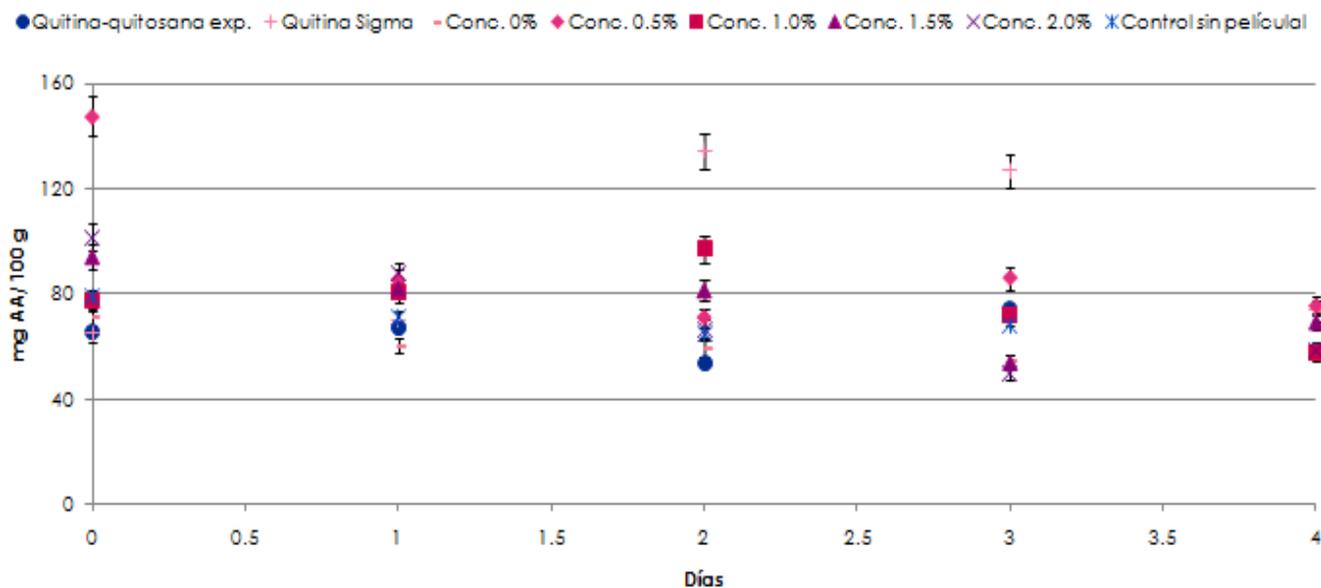


Gráfico 15. Variación de la vitamina C (mg/100g) en lotes de fresas a temperatura ambiente ($20\pm 2^\circ\text{C}$) con recubrimiento de quitina-quitosana experimental, quitina Sigma disuelta en MAC-141, quitosana disuelta en agua acidulada con ácido acético a diferentes concentraciones

Anexo V. Análisis estadísticos de los datos experimentales obtenidos

Las hipótesis propuestas son:

H₀ ($\mu = \mu_0$)	<i>Todas</i> las películas conservan de igual manera la fresa basado en los parámetros (pérdida de humedad, pH, acidez titulable, grados Brix, vitamina C)
H₁ ($\mu \neq \mu_0$)	<i>Al menos</i> una película es diferente en la conservación de la fresa basado en los parámetros (pérdida de humedad, pH, acidez titulable, grados Brix, vitamina C)

1. Comparación entre fresas con biopelícula de una mezcla de quitina-quitosana experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película a dos diferentes temperaturas (20±2 y ~4°C)

Tabla 1. Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de humedad de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	7473.81	3	2491.27	35.64	0.0000
Días	8973.84	4	2243.46	32.09	0.0000
Residuos	3635.26	52	69.9088		
Total (Corregido)	20082.9	59			

Tabla 2. Análisis de varianza para el pH de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	13.8071	3	4.60237	10.20	0.0000
Días	6.79076	4	1.69769	3.76	0.0092
Residuos	23.4689	52	0.451325		
Total (Corregido)	44.0668	59			

Tabla 3. Análisis de varianza para el porcentaje de acidez de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	0.562391	3	0.187464	1.94	0.1350
Días	1.19806	4	0.299516	3.09	0.0233
Residuos	5.03246	52	0.0967781		
Total (Corregido)	6.79292	59			

Tabla 4. Análisis de varianza para los °Bx de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	218.309	3	72.7698	12.41	0.0001
Días	104.153	4	26.0382	4.44	0.0037
Residuos	304.96	52	5.86462		
Total (Corregido)	627.422	59			

Tabla 5. Análisis de varianza para la vitamina C de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	593.479	3	197.826	0.54	0.6578
Días	7253.84	4	1813.46	4.94	0.0019
Residuos	19091.8	52	367.149		
Total (Corregido)	26939.1	59			

2. Comparación entre fresas con biopelículas de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a dos temperaturas (20±2 y ~4°C)

Tabla 6. Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de humedad de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control de quitina grado analítico disuelta en MAC-141©

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	5897.9	3	1965.97	32.11	0.0000
Días	10470.5	4	2617.62	42.76	0.0000
Residuos	3183.44	52	61.2201		
Total (Corregido)	19551.8.9	59			

Tabla 7. Análisis de varianza para el pH de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control de quitina grado analítico disuelta en MAC-141©

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	3.84487	3	1.28162	74..70	0.0000
Días	0.593568	4	0.148392	8.65	0.0000
Residuos	0.892188	52	0.0171575		
Total (Corregido)	5.33062	59			

Tabla 8. Análisis de varianza para el porcentaje de acidez de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control de quitina grado analítico disuelta en MAC-141©

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	1.81856	3	0.606186	11.57	0.0000
Días	1.50076	4	0.375189	7.16	0.0001
Residuos	2.72493	52	0.0524025		
Total (Corregido)	6.04425	59			

Tabla 9. Análisis de varianza para los °Bx de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control de quitina grado analítico disuelta en MAC-141©

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	642.503	3	214.168	46.45	0.0000
Días	399.611	4	99.9026	21.67	0.0000
Residuos	239.761	52	4.61079		
Total (Corregido)	1281.88	59			

Tabla 10. Análisis de varianza para la vitamina C de la comparación entre fresas con biopelícula (mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control de quitina grado analítico disuelta en MAC-141©

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	9664.72	3	3221.57	8.25	0.0001
Días	5880.57	4	1470.14	3.77	0.0092
Residuos	20296.2	52	390.312		
Total (Corregido)	35841.5	59			

3. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración

Tabla 11. Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de humedad de la comparación entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	2472.63	9	274.737	15.10	0.0000
Días	39962.1	11	3632.92	199.73	0.0000
Residuos	6166.13	339	18.1892		
Total (Corregido)	48600.9	359			

Tabla 12. Análisis de varianza para el pH de la comparación entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	7.92294	9	0.880326	41.50	0.0000
Días	4.77022	11	0.433657	20.44	0.0000
Residuos	7.19084	339	0.0212119		
Total (Corregido)	19.884	359			

Tabla 13. Análisis de varianza para el porcentaje de acidez de la comparación entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	3.41135	9	0.379039	11.43	0.0000
Días	1.00491	11	0.0913555	2.75	0.0020
Residuos	11.2423	339	0.0331631		
Total (Corregido)	15.6585	359			

Tabla 14. Análisis de varianza para los °Bx de la comparación entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	1192.77	9	132.53	20.98	0.0000
Días	1912.45	11	173.859	27.52	0.0000
Residuos	2141.44	339	6.31694		
Total (Corregido)	5246.67	359			

Tabla 15. Análisis de varianza para la vitamina C de la comparación entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	20050.2	9	2227.8	5.30	0.0000
Días	7961.25	11	723.75	1.72	0.0673
Residuos	142536.0	339	420.462		
Total (Corregido)	170548.0	359			

4. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20±2 y ~4°C) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Tabla 16. Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de humedad de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20±2 y ~4°C) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	3621.69	7	517.384	19.50	0.0000
Días	7950.29	4	1987.57	74.90	0.0000
Residuos	2866.03	108	26.5373		
Total (Corregido)	14438.0	119			

Tabla 17. Análisis de varianza para el pH de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20±2 y ~4°C) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	0.253803	7	0.0362576	1.18	0.3682
Días	2.52921	4	0.632302	19.19	0.0000
Residuos	3.55884	108	0.0329522		
Total (Corregido)	6.34185	119			

Tabla 18. Análisis de varianza para el porcentaje de acidez de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	1.94574	7	0.277963	3.17	0.0044
Días	1.01944	4	0.25486	2.90	0.0251
Residuos	9.47724	108	0.00877523		
Total (Corregido)	12.4424	119			

Tabla 19. Análisis de varianza para los $^{\circ}\text{Bx}$ de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	117.093	7	16.7275	5.54	0.0000
Días	163.551	4	40.8878	13.55	0.0000
Residuos	325.975	108	3.01829		
Total (Corregido)	606.619	119			

Tabla 20. Análisis de varianza para la vitamina C de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	17201.9	7	2457.42	10.99	0.0000
Días	13670.3	4	3417.56	15.29	0.0000
Residuos	24145.2	108	223.567		
Total (Corregido)	55017.4	119			

5. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Tabla 21. Análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de humedad de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	2101.72	8	262.715	13.94	0.0000
Días	34190.7	11	3108.25	164.97	0.0000
Residuos	5727.77	304	18.8414		
Total (Corregido)	42020.2	323			

Tabla 22. Análisis de varianza para el pH de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	1.86491	8	0.233114	10.32	0.0000
Días	4.51045	11	0.410041	18.16	0.0000
Residuos	6.86467	304	0.0225811		
Total (Corregido)	13.24	323			

Tabla 23. Análisis de varianza para el porcentaje de acidez de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	2.9759	8	0.371988	11.69	0.0000
Días	0.941087	11	0.0855534	2.69	0.0026
Residuos	9.67244	304	0.0318172		
Total (Corregido)	13.5894	323			

Tabla 24. Análisis de varianza para los °Bx de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	1106.08	8	138.26	20.64	0.0000
Días	1622.91	11	147.537	22.03	0.0000
Residuos	2035.91	304	6.69708		
Total (Corregido)	4764.9	323			

Tabla 25. Análisis de varianza para la vitamina C de la comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Fuente	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	Cociente F	Valor P
Efectos principales					
Recubrimiento	19542.7	8	2442.84	5.55	0.0000
Días	8894.65	11	808.605	1.84	0.0472
Residuos	133717.0	304	439.858		
Total (Corregido)	162154.0	323			

Anexo VI. Gráficos de comparación de medias por el método de DMS

Este anexo presenta los gráficos de comparación de medias por el método de DMS para los diferentes diseños realizados con los datos experimentales obtenidos.

1. Comparación entre fresas con una biopelícula de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y un control sin película (blanco) a dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$)

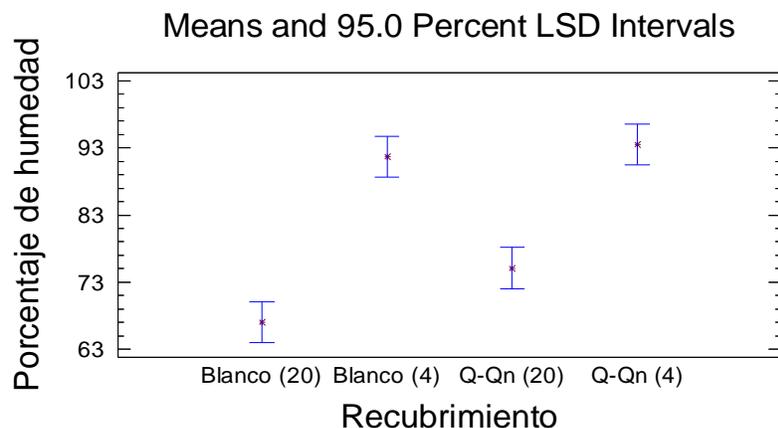


Gráfico 1. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pérdida de humedad, medida en masa (g) entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película (blanco) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$)

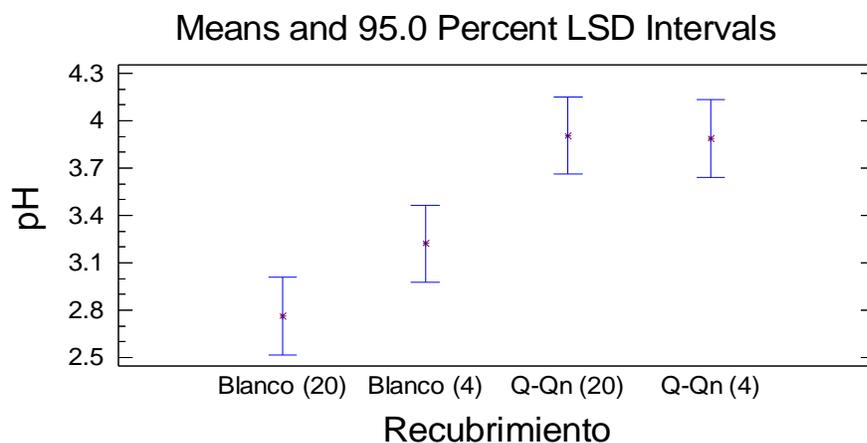


Gráfico 2. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pH entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película (blanco) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^\circ\text{C}$)

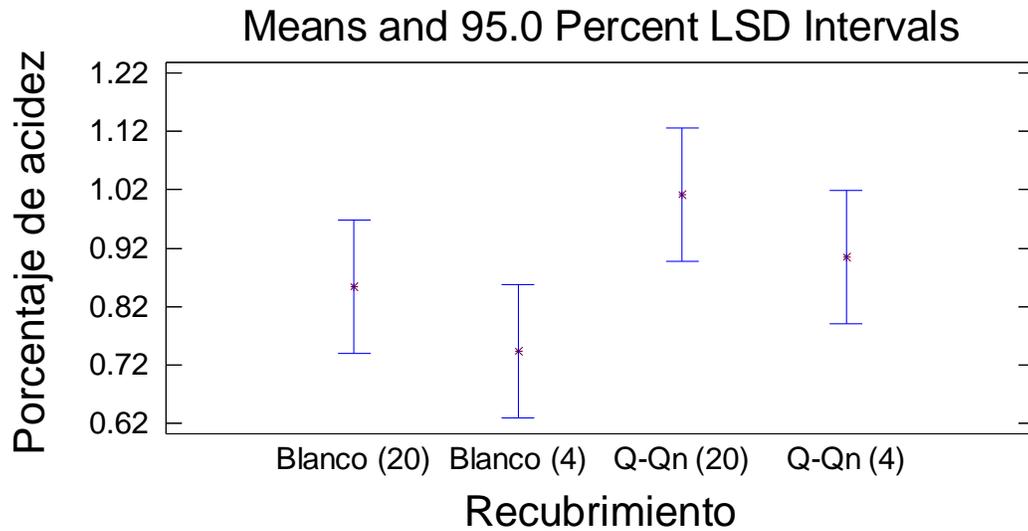


Gráfico 3. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en porcentaje de acidez entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película (blanco) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

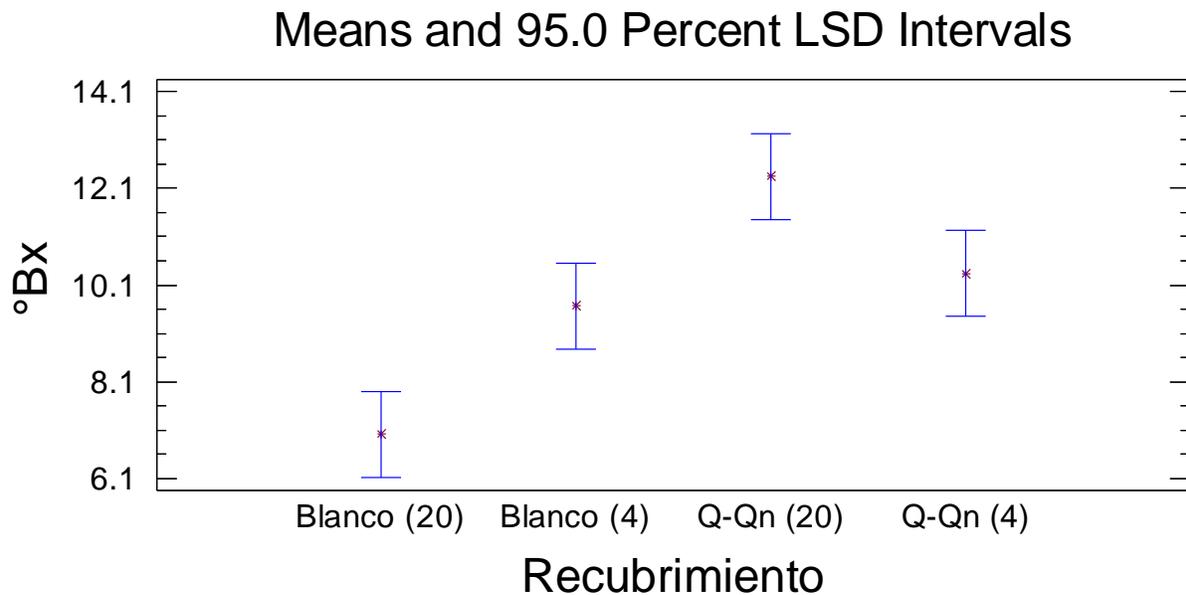


Gráfico 4. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en los °Bx entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película (blanco) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

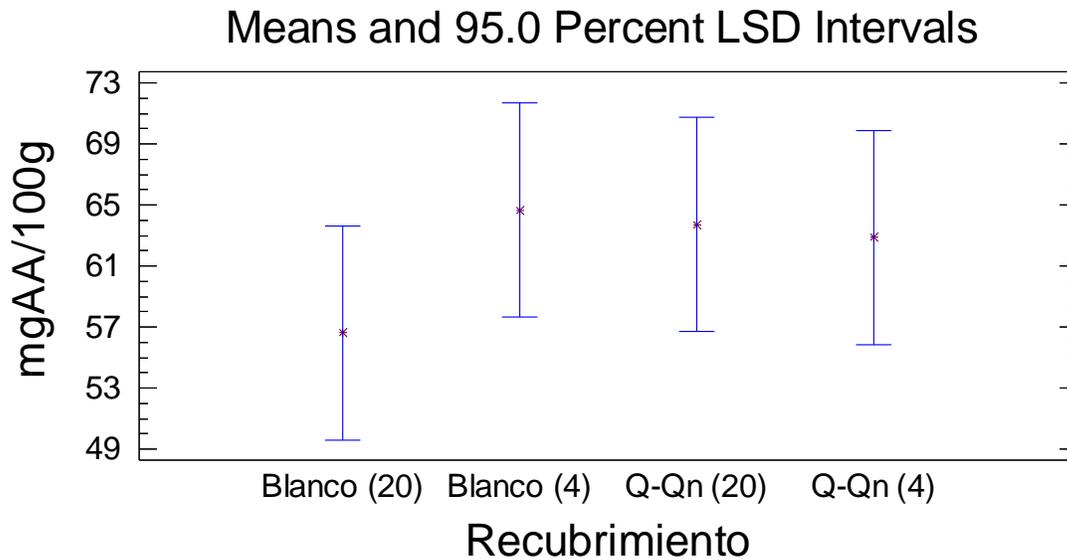


Gráfico 5. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en la vitamina C entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y un control sin película (blanco) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

2. Comparación entre lotes de fresas con biopelículas de la mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente del cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a dos temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

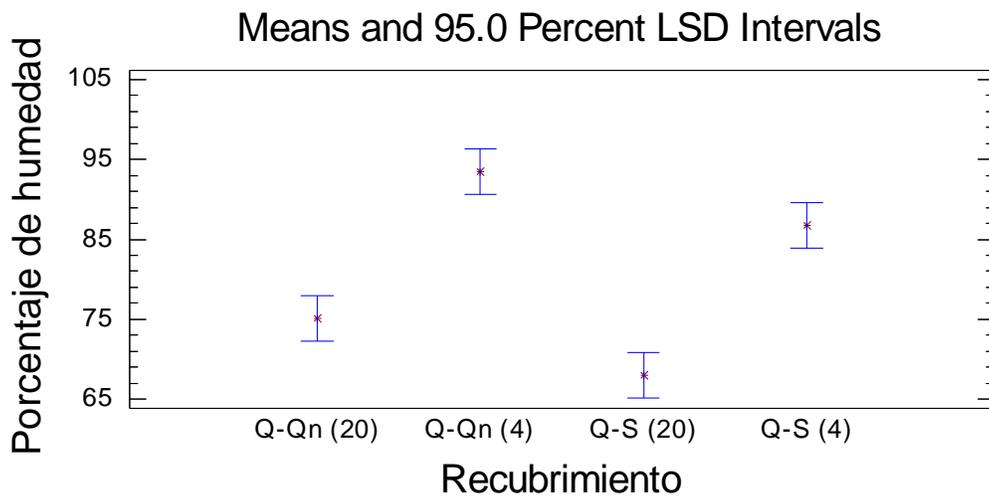


Gráfico 6. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pérdida de humedad, medida en masa (g) entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

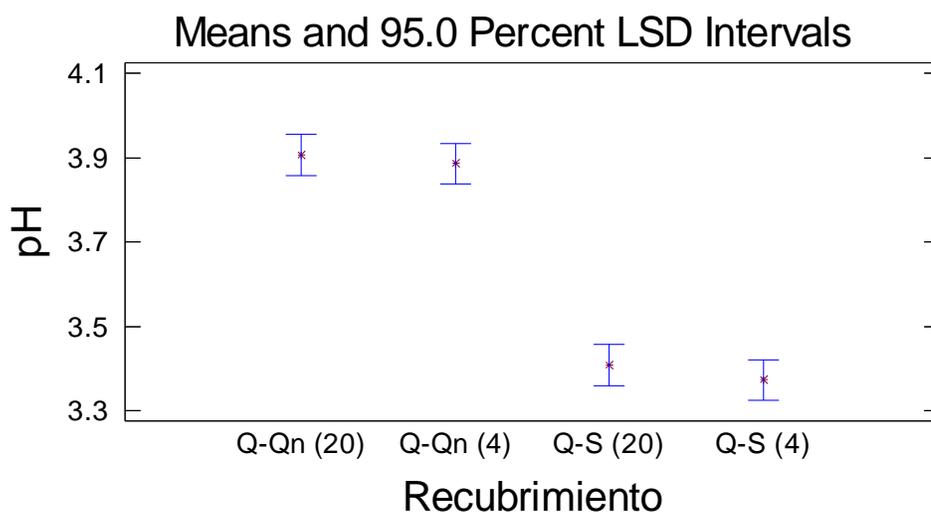


Gráfico 7. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pH entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

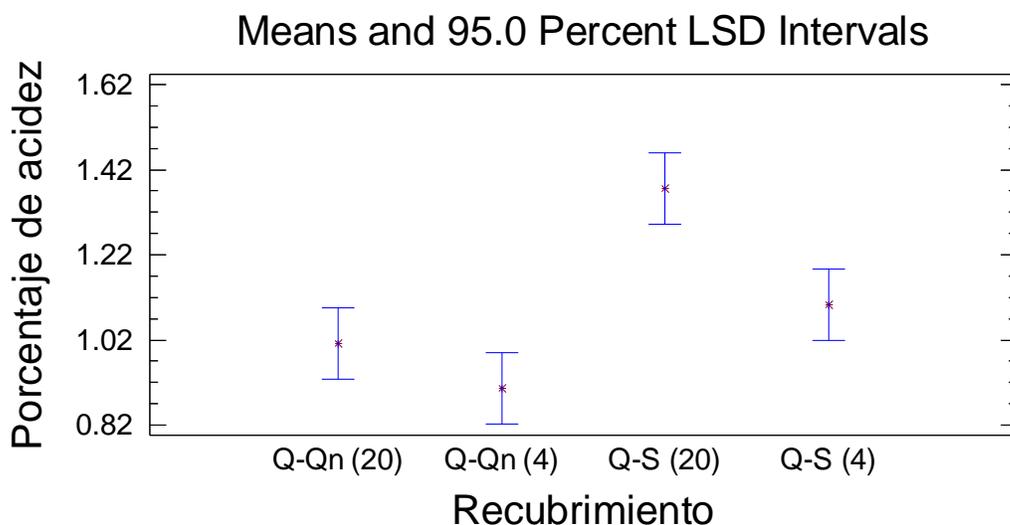


Gráfico 8. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en porcentaje de acidez entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosana) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

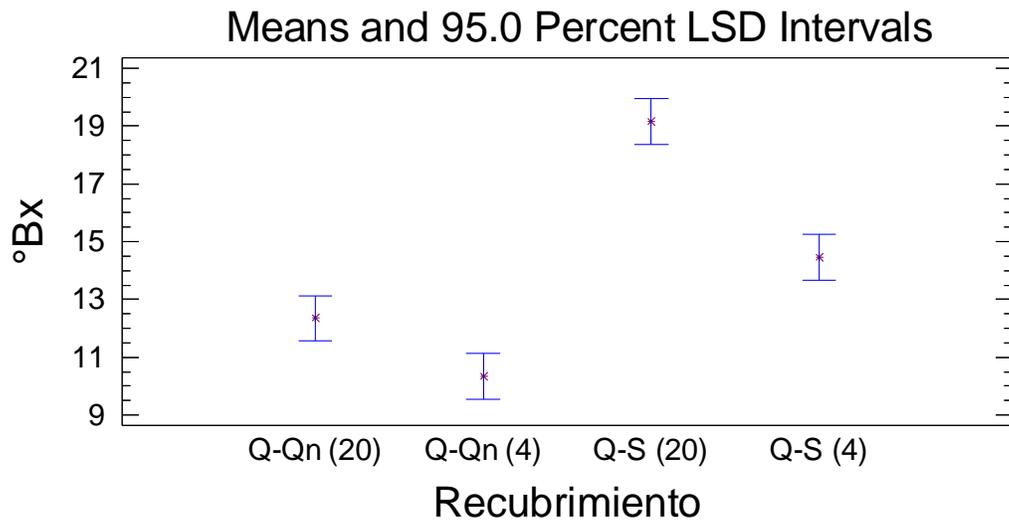


Gráfico 9. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en los °Bx entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosa) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

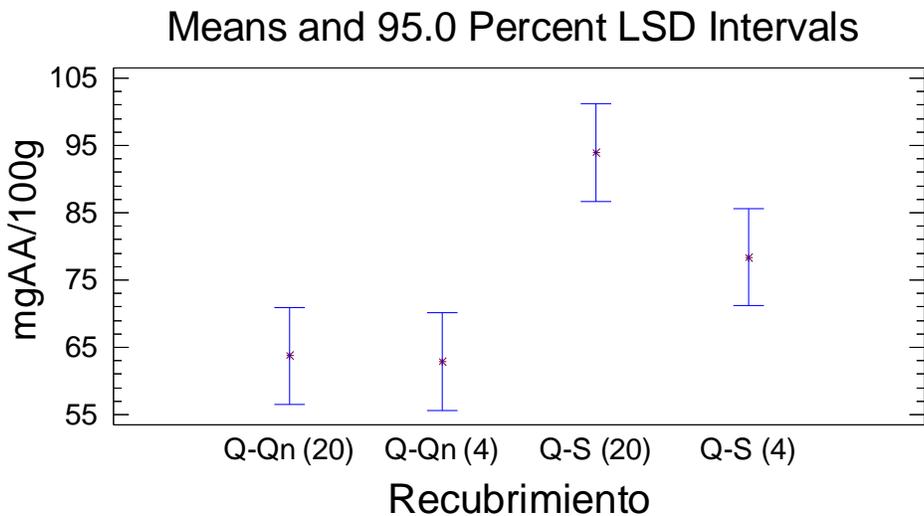


Gráfico 10. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en la vitamina C entre fresas con biopelícula (Q-Qn, mezcla de quitina-quitosa) obtenida experimentalmente de una extraída de cefalotórax y exoesqueleto de camarón y quitina Sigma con disolvente MAC-141© (Q-S) a diferentes temperaturas (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$)

3. Comparación entre lotes de fresas con biopelículas de quitosana acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana²⁰ con respecto de las biopelículas obtenidas experimentalmente en esta investigación (Q-Qn) a temperatura de refrigeración

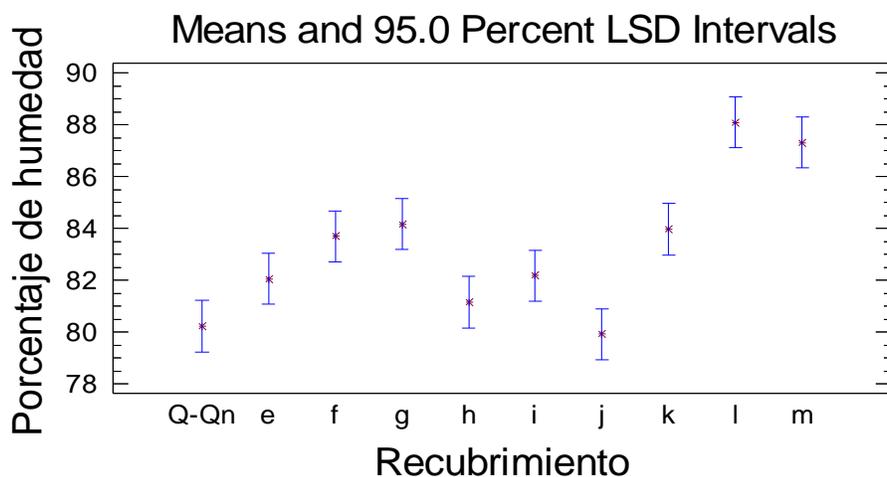


Gráfico 11. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pérdida de humedad, medida en masa (g) entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

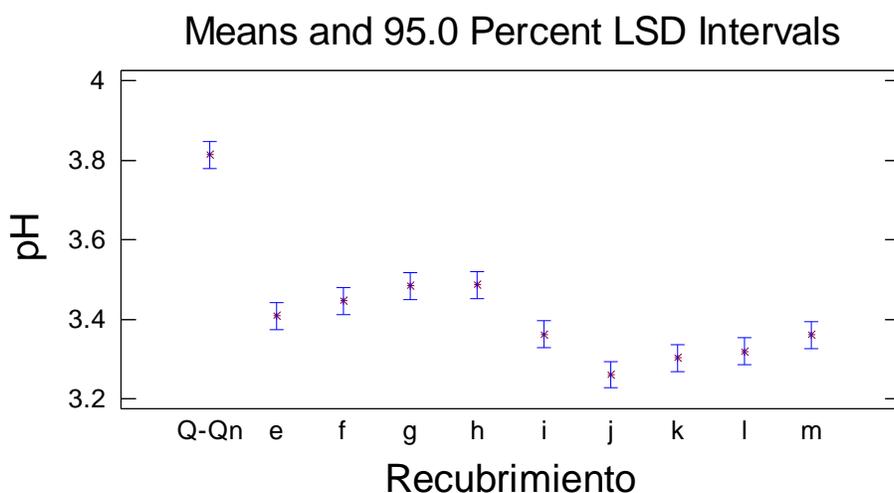


Gráfico 12. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pH entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

²⁰ Tipos de recubrimientos: e) Qn-S-AAc-0.5%, f) Qn-S-AAc-1.0%, g) Qn-S-AAc-1.5%, h) Qn-S-AAc-2.0%, i) Qn-S-AAs-0%, j) Qn-S-AAs-0.5%, k) Qn-S-AAs-1.0%, l) Qn-S-AAs-1.5% y m) Qn-S-AAs-2.0%

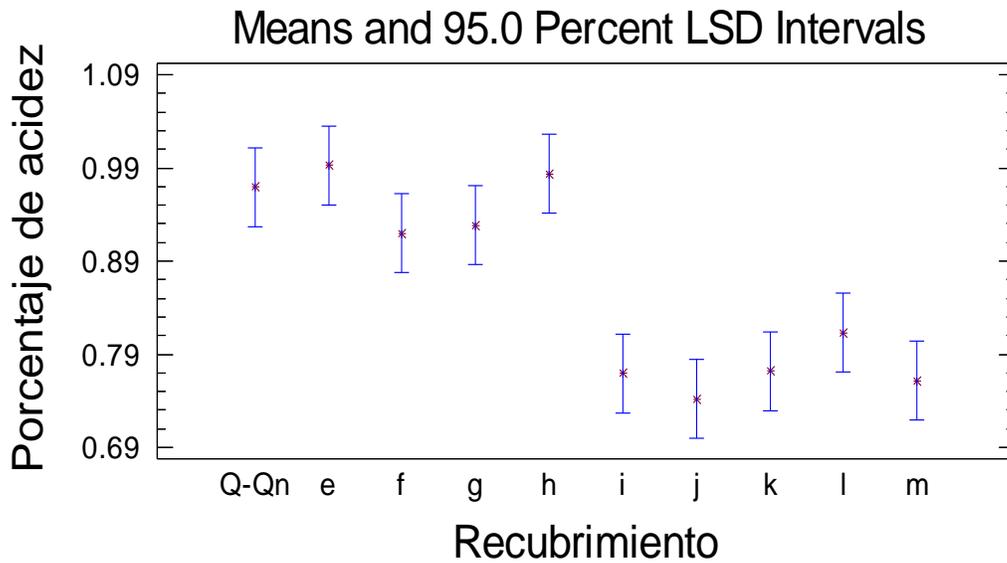


Gráfico 13. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en porcentaje de acidez entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

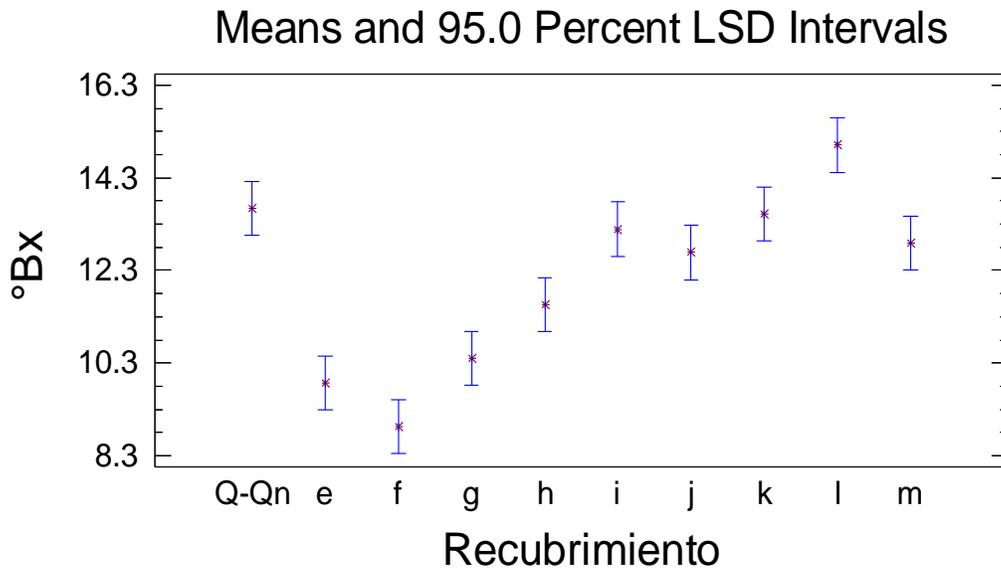


Gráfico 14. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en los °Bx entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura (~4°C)

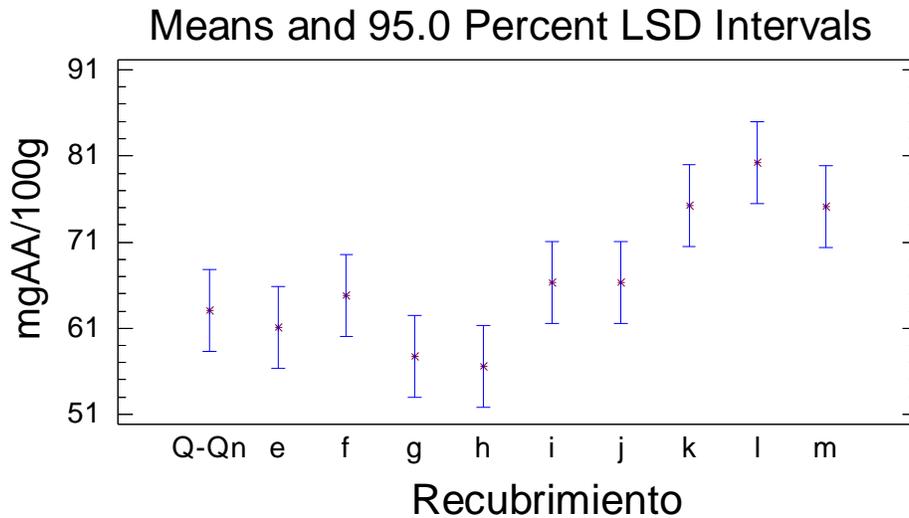


Gráfico 15. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en la vitamina C entre fresas con biopelícula quitosana (Qn) acidulada con los dos diferentes ácidos a diferentes concentraciones de quitosana con respecto a una mezcla de quitina-quitosana obtenida experimentalmente de cefalotórax y exoesqueleto de camarón (Q-Qn) a temperatura ($\sim 4^{\circ}\text{C}$)

4. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana²¹

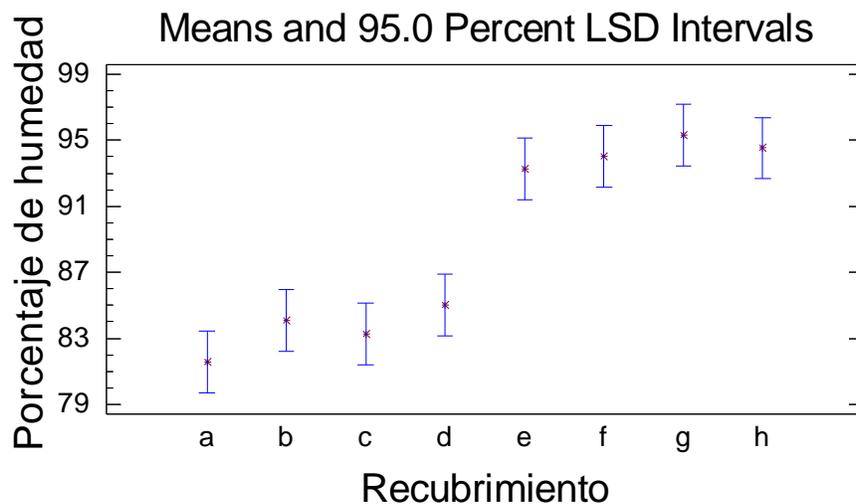


Gráfico 16. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pérdida de humedad, medida en masa (g) entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

²¹ Tipos de recubrimientos: A temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$; a) Qn-S-0.5%, b) Qn-S-1.0%, c) Qn-S-1.5%, d) Qn-S-2.0%. A temperatura de $\sim 4^{\circ}\text{C}$; e) Qn-S-AAc-0.5%, f) Qn-S-AAc-1.0%, g) Qn-S-AAc-1.5% y h) Qn-S-AAc-2.0%

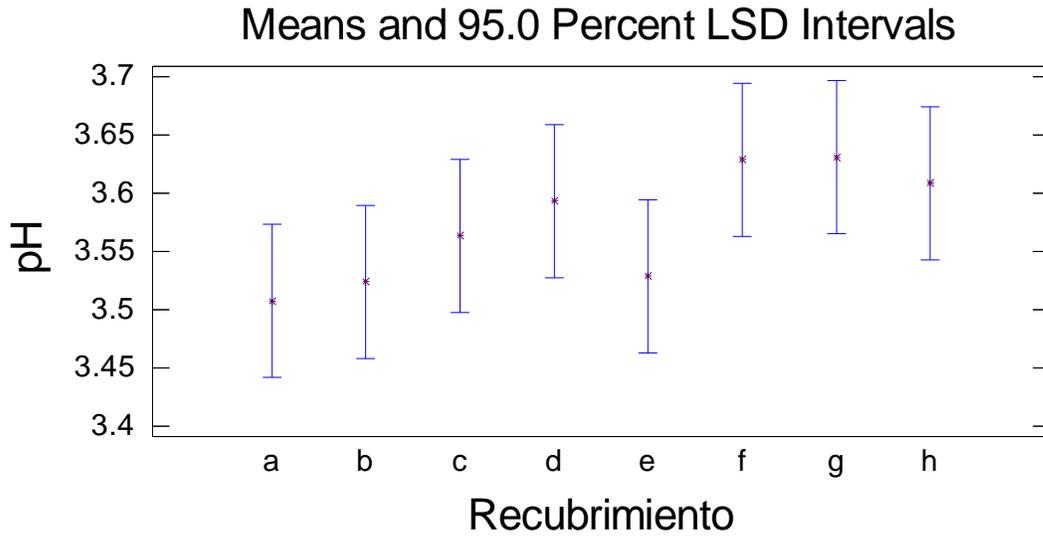


Gráfico 17. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pH entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

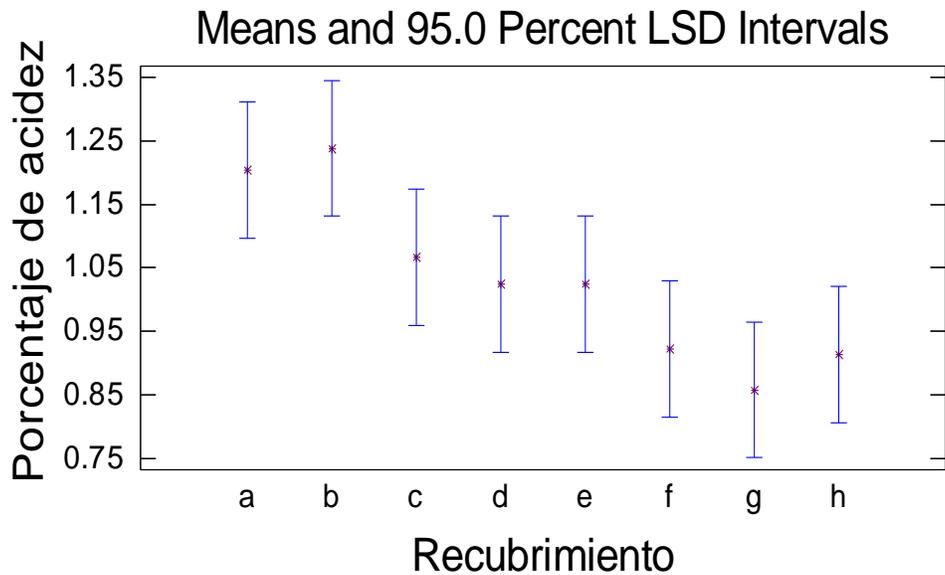


Gráfico 18. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en porcentaje de acidez entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

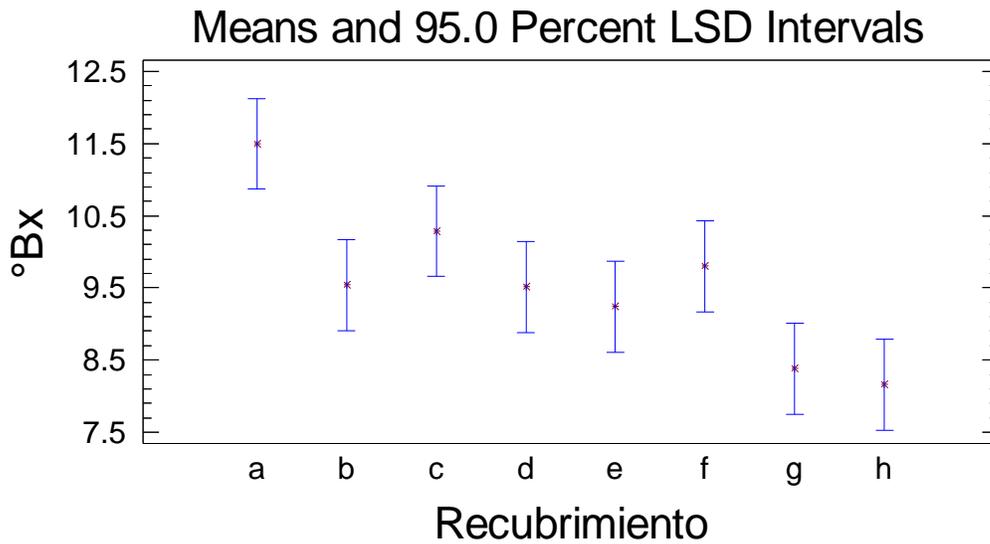


Gráfico 19. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en los °Bx entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

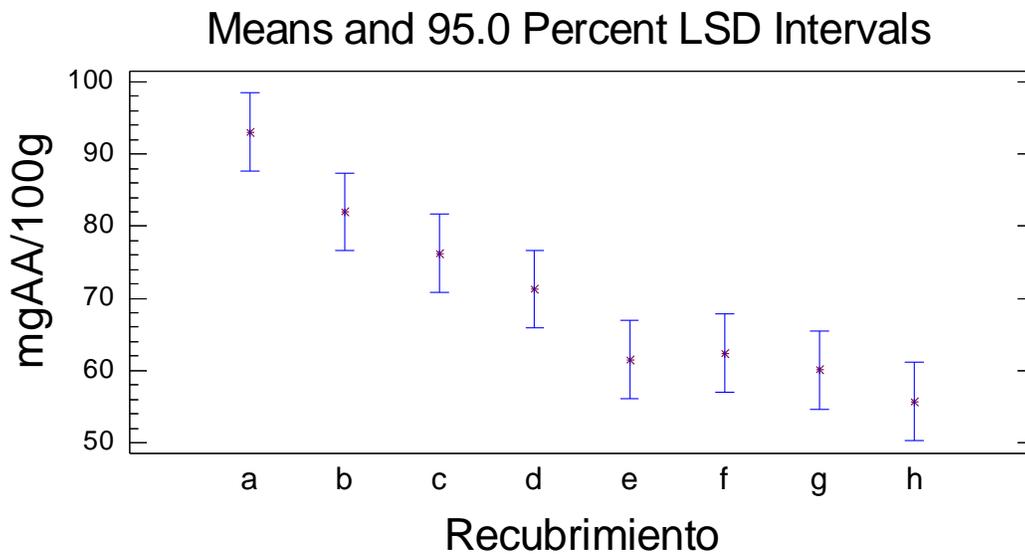


Gráfico 20. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en la vitamina C entre fresas con biopelículas de quitosana disuelta en una solución acidulada con ácido acético a temperatura ambiente y a refrigeración (20 ± 2 y $\sim 4^{\circ}\text{C}$) respectivamente, a diferentes concentraciones de quitosana

5. Comparación entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana²²

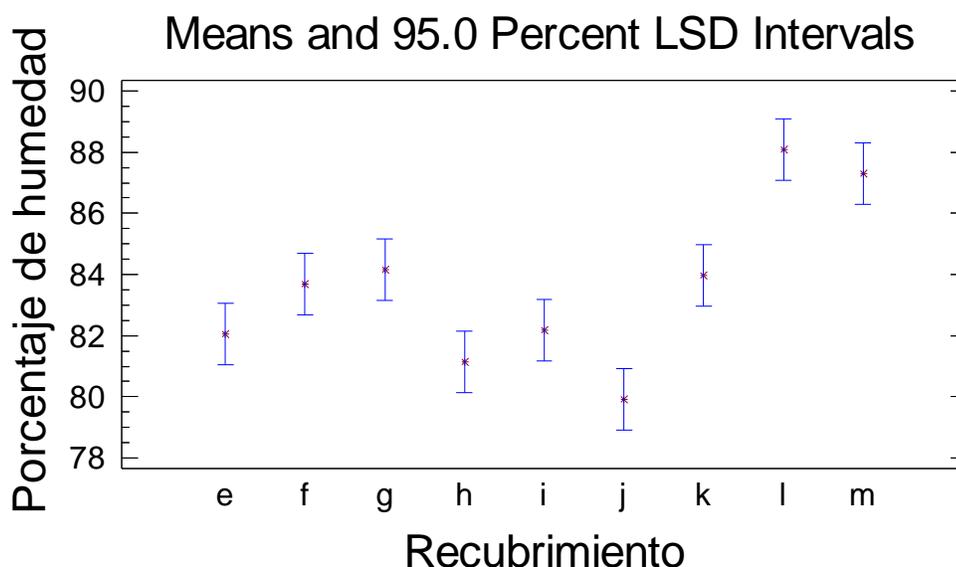


Gráfico 21. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pérdida de humedad, medida en masa (g) entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

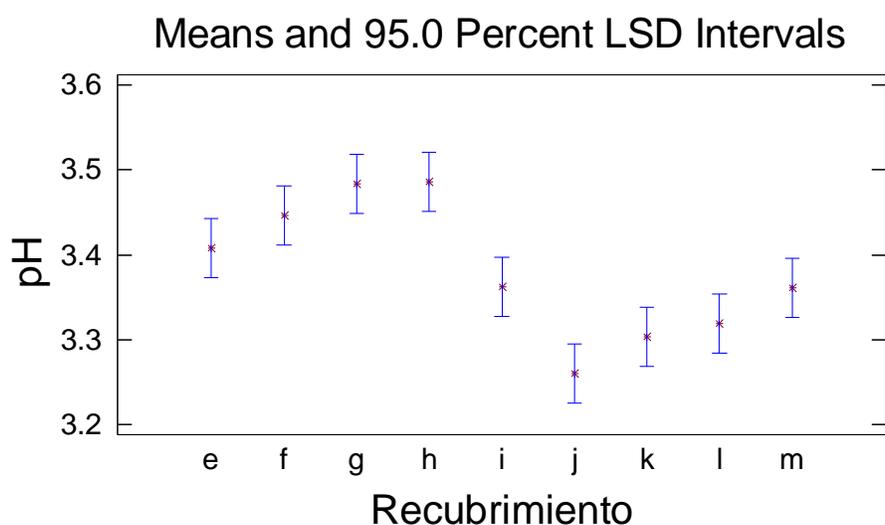


Gráfico 22. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en pH entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

²² Tipos de recubrimientos: e) Qn-S-AAc-0.5%, f) Qn-S-AAc-1.0%, g) Qn-S-AAc-1.5%, h) Qn-S-AAc-2.0%, i) Qn-S-AAc-0%, j) Qn-S-AAs-0.5%, k) Qn-S-AAs-1.0%, l) Qn-S-AAs-1.5% y m) Qn-S-AAs-2.0%

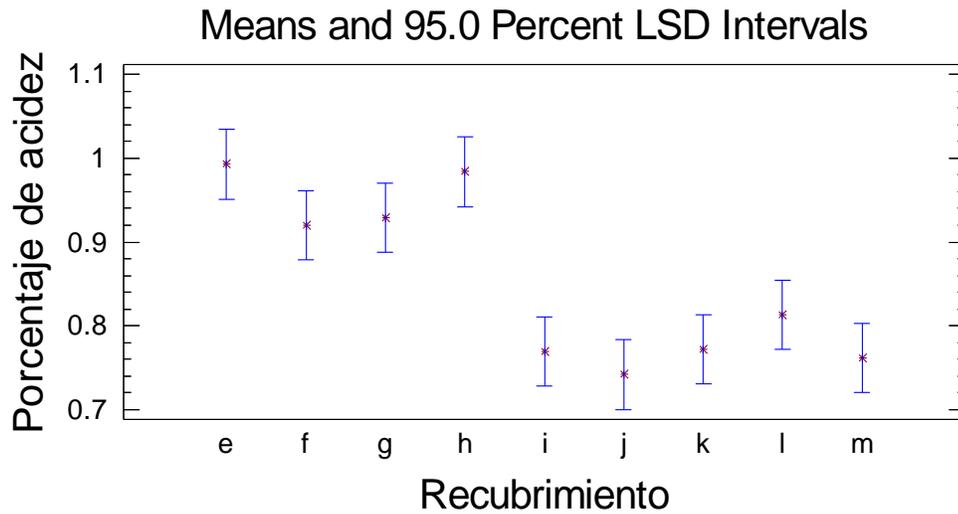


Gráfico 23. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en porcentaje de acidez entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

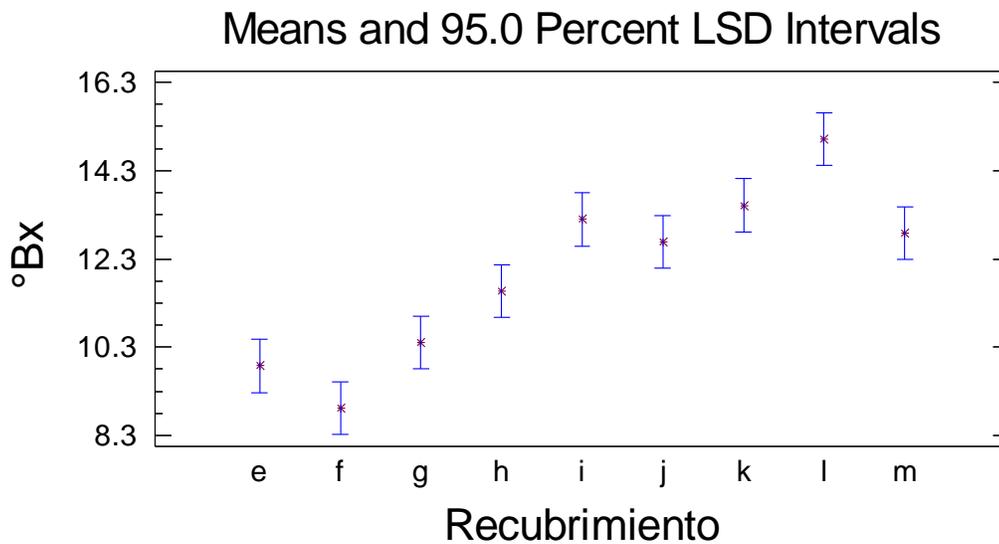


Gráfico 24. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en los °Bx entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

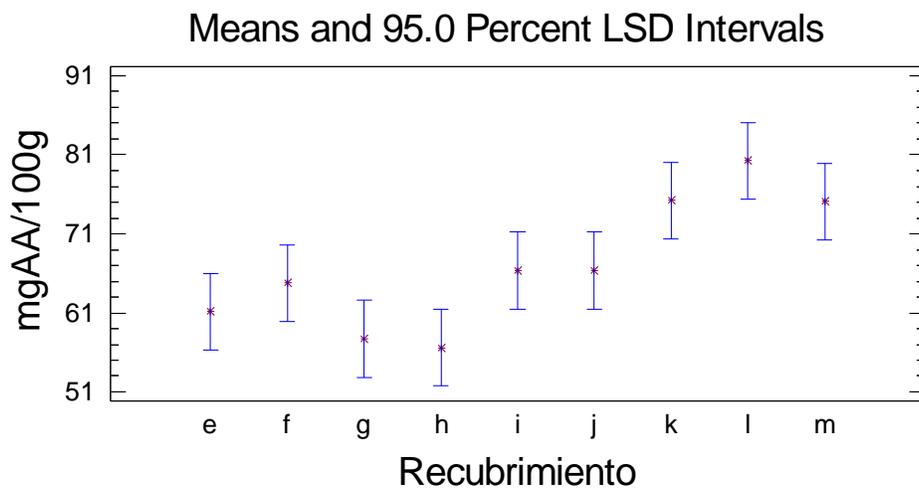


Gráfico 25. Comparación de medias por método de DMS, para diferentes recubrimientos en la vitamina C entre fresas con biopelículas de quitosana acidulada con dos diferentes ácidos, acético y ascórbico, a temperatura de refrigeración (~4°C), a diferentes concentraciones de quitosana

Anexo VII. Tratamiento de residuos

1. Tratamiento para el residuo de acidez.

Para la determinación de acidez, en la titulación se usó NaOH para valorar la acidez de cada muestra. Para este residuo se determinó el valor del pH con ayuda de un potenciómetro modelo Orion 720-A7 y se recurrió a la neutralización. Debido a que el indicador usado era fenolftaleína, se decoloró dicha solución con un filtro de carbón activado (Figura 1) se usó este debido a que es un buen adsorbente y por lo tanto es buen decolorando sustancias), al principio y al final del filtrado se aseguró de eliminar residuos orgánicos y se midió el pH antes de desechar el filtrado asegurándose que este fuera 7.0 o lo más aproximado.



Figura 1. Filtro de carbon activado

2. Tratamiento para el residuo de 2,6-diclorofenol-indofenol

En la literatura no se ha reportado una metodología para el tratamiento de este residuo, sin embargo como en la reacción (Figura 2) se reduce el ácido ascórbico para quedar en su forma como ácido dehidroascórbico reaccionando con el 2,6-diclorofenol-indofenol este pasa a estar ácido por lo tanto el pH baja (en su forma colorida azul, tiene un pH básico). Se ajusta posteriormente el pH de la solución con ayuda de un potenciómetro modelo Orion 720-A7 y se recurrió a la neutralización y se decolora con carbón activado montando un equipo de filtración al vacío con un matraz Kitasato como se muestra en la Figura 3 y se midió el pH antes de desechar el filtrado asegurándose que este fuera 7.0 o lo más aproximado.

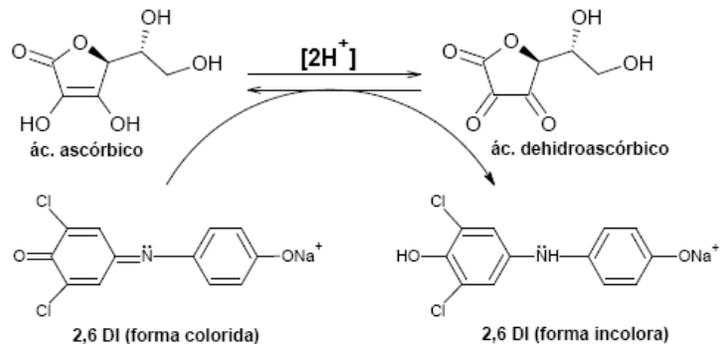


Figura tomada del Manual de Laboratorio de alimentos II.

Figura 2. Reducción de ácido ascórbico



Figura 3. Equipo de filtración y tratamiento de residuos (residuo de color rosa a incoloro)

3. Tratamiento para el residuo de carbón activado

Para el residuo de carbón activado (Figura 4) que se generó a lo largo de los tratamientos anteriores, se separó con una espátula y se junto con el papel filtro y se colocó en bolsas de plásticos con su respectiva etiqueta (Figura 5) y se dispone a incineración.



Figura 4. Residuos de carbón activado con papel filtro



Figura 5. Residuos de carbón activado con etiqueta correspondiente

4. Tratamiento para los residuos orgánicos

Para los residuos orgánicos (fresas molidas o trozos de fresas) se desecharon en los botes de basura de residuos orgánicos u otra opción es usarlos como composta, debido a que pueden ser los nutrimentos o como un fertilizante natural orgánico para las plantas.

Bibliografía

- AAC. *Química del ácido ascórbico*. 2011. Disponible en internet: [http://www.acidoascorbico.com/quimica_del_cido_ascrbico].
- Agnieszka C., Andrzej L. 2010. *Rehydration and sorption properties of osmotically pretreated freeze-dried strawberries*. *Journal of Food Engineering*, 97:267-274.
- Aliste A. J., Del Mastro N.L. 2004. *Ascorbic acid as radiation protector on polysaccharides used in food industry*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 249:131-133.
- Almenar R. E. M. 2005. *Envasado activo de fresas silvestres*. Tesis Doctoral, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC, Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. España.
- Ali-Sahari M., Boostani M., Hamidi E. Z. 2004. *Effect of low temperature on the ascorbic acid content and quality characteristics of frozen strawberry*. *Food Chemistry*, 86:357-363.
- AOAC. 2006. Official Method. 967.21. Association of Official Analytical Chemists. Ascorbic acid in vitamin preparations and juices. 2,6-Dichloroindophenol Titrimetric Method. 45.1.14. Washington, DC. EEUU.
- Arvanitoyannis I., Nakayama A., Aiba S. 1998. *Edible films made from hydroxypropyl starch and gelatin and plasticized by polyols and water*. *Carbohydrate Polymers*, 36:105-119.
- Bautista-Baños S., Hernández M., Bosquez E., Wilson C. 2004. *Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22:178-186.
- Blanda G., Cerretani L., Cardinali A., Barbieri S., Bendini A., Lercker G. 2009. *Osmotic dehydrofreezing of strawberries: Polyphenolic content, volatile profile and consumer acceptance*. *Food Science and Technology*, 42:30-36.
- Bourtoom T. 2008. *Edible films and coatings: characteristics and properties*. *International Food Research Journal*, 15:1-15.
- Campos-Juárez, O. J., Ortega-Granados, J. A. 2010. Informe final del Programa de Estancias Cortas. Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.
- Changrue V., Orsat V., Raghavan G. S. V., Lyew D. 2008. *Effect of osmotic dehydration on the dielectric properties of carrots and strawberries*. *Journal of Food Engineering*, 88:280-286.

- Chen F., Liu H., Yang H., Lai S., Cheng X., Xin Y., Yang B., Hou H., Yao Y., Zhang S., Bu G., Deng Y. 2011. *Quality attributes and cell wall properties of strawberries (Fragaria annanassa Duch.) under calcium chloride treatment. Food Chemistry*, 126:450-459.
- Chien P-J., Sheu F., Yang F-H. 2007. *Effects of edible chitosan coating on quality and help life of sliced mano fruit. Journal of Food Engineering*, 78:225-229.
- CODEX. 2011. *Código Internacional Recomendado de Prácticas. Principios Generales de Higiene de los Alimentos*. Codex Alimentarius. Pp. 1-58. Disponible en internet : [ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/w8088s/w8088s01.pdf]
- CONAFRESA. 2008. *Variedades de fresa utilizadas en México*. Consejo Nacional de la Fresa A. C. Febrero. Disponible en internet: [http://conafresa.com/index.php?option=com_content&task=view&id=64&Itemid=205]
- CONAPESCA. 2010. **COMISIÓN NACIONAL DE ACUACULTURA Y PESCA**. Disponible en las Redes Internacionales (*internet*). Consulta: Noviembre 2010. Dirección electrónica: [http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/anuario_2009_capitulo_i_preliminar]
- Contreras C., Martín-Esparza M. E., Chiralt A., Martínez-Navarrete N. 2008. *Influence of microwave application on convective drying: Effects on drying Kinetics, and optical and mechanical properties of apple and strawberry. Journal of Food Engineering*, 88:55-64.
- Cordenunsi B. R., Nascimento J. R. O., Lajlo F.M. 2003. *Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage. Food Chemistry*, 83:167-173.
- Derossi A., Pilli T. D., Fiore A. G. 2010. *Vitamin C kinetic degradation of strawberry juice stored under non-isothermal conditions. LWT-Food Science and Technology*, 43:590-595.
- DOF. 2009. Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. Secretaría de Economía. Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial (Primera Sección). Jueves 24 de septiembre de 2009. México D.F. México.
- DOF. 1982. **NMX-F-103-1982**. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.

- DOF. 1978. **NMX-F-317-S-1978**. Determinación de pH en alimentos. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas. Diario Oficial de la Federación. Poder Ejecutivo Federal. México D.F. México.
- Doyle M. P., Beuchat L. R., Montville T. J. 2000. *Microbiología de los alimentos: Fundamentos y fronteras*. Edit. Acribia. 799 pp. ISBN: 84-200-0933-4. Zaragoza, España.
- Draye M., Cutsem P. V. 2008. *Pectin methylesterases induce an abrupt increase of acidic pectin during strawberry fruit ripening*. *Journal of Plant Physiology*, 165:1152-1160.
- 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-Beltagy A., Gamea G. R., Amer Essa A. H. 2007. *Solar drying characteristics of strawberry*. *Journal of Food Engineering*, 78:456-464.
- ElMasry G., Wang N., Vigneault C. 2009. *Detecting chilling injury in Red Delicious apple using hyperspectral imaging and neural networks*. *Postharvest Biology and Technology*, 52:1-8.
- Fajardo P., Martins J. T., Fuciños C., Pastrana L., Texeira J. A., Vicente A. A. 2010. *Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese*. *Journal of Food Engineering*, 101:349-356.
- FAO. 1993. United Nations Food and Agriculture Organization. *Preservación de pérdidas de alimentos poscosecha: frutas, hortalizas, raíces y tubérculos*. 113 pp. ISSN: 1014-3807.
- Fenemma O. R. 2000. *Química de los alimentos*. Ed. Zaragoza Acribia. 1166 pp. ISBN: 84-200-0914-8.
- Ferreira C. O., Nunes C. A., Delgadillo I., Lopes-da-Silva J. A. 2009. *Characterization of chitosan-whey protein films at acid pH*. *Food Research International*, 42:807-813.
- FICEDA. 2011. Fideicomiso para la Construcción y Operación de la Central de Abasto de la Ciudad de México. Disponible en internet: [<http://ficeda.com.mx/>].
- Flores R. A. 2004. *Bioplástico de quitina: Formación de películas de quitina a partir de desechos de camarón por métodos ecológicos*. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM, Facultad de Química. México, D. F. México.
- Flores R.A. 2008. *Obtención y caracterización de esponja de quitina a partir de cefalotórax de camarón*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Programa de Maestría y

Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM, Facultad de Química. México, D. F. México.

- Fraeye I., Duvetter T., Verlent I., sila D. N., Hendrickx M., Loey A. V. 2007. ***Comparison of enzymatic de-esterification of strawberry and apple pectin at elevated pressure by fungal pectinmethylesterase.*** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8:93-101.
- Fraeye I., Knockaert G., Van Buggenhout S., Duvetter T., Hendrickx M., Van Loey A. 2010. ***Enzyme infusion prior to thermal/high pressure processing of strawberries: Mechanistic insight into firmness evolution.*** *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11:23-31.
- Frazier W. C., Westhoff D. C. 1993. ***Microbiología de los alimentos.*** Ed. Zaragoza Acibia. 681 pp. ISBN: 84-200-0734-X.
- GECH. 2002. ***Estudio del potencial agroindustrial de fresa en Chihuahua.*** Gobierno del Estado de Chihuahua. Agosto. *Disponible en internet:* [<http://201.131.19.30/estudios/agroindustria/FRESA.pdf>]
- González-L. R., Sánchez-C. A., García-S. V., Beas-R. J. A., Aguilar-N. J. A., Acatzi-S. A. I. 2009. ***Manual de Laboratorio de Alimentos II.*** Semestre 2009-02. Pub. Facultad de Química, UNAM. Pp. 48-70. México D.F. México.
- Gössinger M., Moritz S., Hermes M., Wendelin S., Scherbichler H., Halbwirth H., Stich K., Berghofer E. 2009. ***Effects of processing parameters on color stability of strawberry nectar from puree.*** *Journal of Food Engineering*, 90:171-178.
- Gutiérrez-Vite L., Pérez Morán A. L., García-Gómez R.S., Durán-de-Bazúa C. 2009. ***Tortillas azules ¿Color natural o sintético? / Blue tortilla, natural or synthetic color? Industria Alimentaria,*** 31(4):23-30.
- Hernández-Muñoz P., Almenar E., Del Valle V., Vélez D., Gavara R. 2008. ***Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (Fragaria x ananassa) quality during refrigerated storage postharvest shelf life extension of strawberries using a biodegradable package.*** *Food Chemistry*, 110(2):428-435.
- Holcroft D. M., Kader A. A. 1999. ***Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit.*** *Postharvest Biology and Technology*, 17:19-32.
- Huang L., Zhang M., Yan W., Mujumdar A., Sun D. 2009. ***Effect of coating on post-drying of freeze-dried strawberry pieces.*** *Journal of Food Engineering*, 92:107-111.
- ICMSF. 1980. ***Ecología microbiana de los alimentos 1: Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos.*** *International Commission*

on Microbiological Specifications for Foods (en inglés). Editorial Acribia. Volumen 1. ISBN: 84200-0519-3. Zaragoza, España.

- Jiang Y., Li Y. 2001. *Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit*. *Food Chemistry*, 73:139-143.
- Jiang Y., Pen L., Li J. 2004. *Use of citric acid for shelf life and quality maintenance of fresh-cut Chinese water chestnut*. *Journal of Food Engineering*, 63:325-328.
- Jianming D., Hiroshi G., Shuichi I. 1997. *Effects of chitosan coating on the storage of peach, Japanese pear, and Kiwifruit*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci*, 66(1):15-22.
- Kafkas E., Kosar M., Paydas S., Kafkas S., Baser K. H. C. 2007. *Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages*. *Food Chemistry*, 100:1229-1236.
- Kokoszka S., Lenart A. 2007. *Edible coatings-formation, characteristics and use. A review*. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57:399-404.
- Kono M., Matsui T., Shimizu C. 1986. *Effect of chitin, chitosan, and cellulose as diet supplements on the growth of cultured fish*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53:125-129.
- Luna-Rodríguez, A. 2003. *Extracción con lípidos de los pigmentos carotenoides del cefalotórax de camarón y su evaluación como ingrediente de dietas en larvicultivos de Litopenaeus vannamei*. Tesis de Licenciatura, UNAM, Facultad de Química. México, D. F. México.
- Mastrocola D., Dalla Rosa M., Massini R. 1998. *Freeze-dried strawberries rehydrated in sugar solutions: mass transfers and characteristics of final products*. *Food Research International*, 30:359-364.
- Montero T. M., Mollá E. M., Esteban R. M., Andreáu F. J. L. 1996. *Quality attributes of strawberry during ripening*. *Scientia Horticulture*, 65:239-250.
- Monzón C. C. 2006. *Influencia del método de secado en parámetros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresas deshidratadas*. Tesis Doctoral, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos. CSIC. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Mora O. O. 2008. *Influencia de tratamientos térmicos en la calidad y estabilidad del puré de fresa (Fragaria x ananassa, cv Camarosa)*. Tesis Doctoral, Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Muzzarelli R. A. A., Tanfani F., Emanuelli M. 1984. *Chelating derivatives of chitosan obtained by reaction with ascorbic acid*. *Carbohydrate Polymers*, 4:137-151.

- Odriozola-Serrano I., Hernández-Jover T., Martín-Belloso O. 2007. *Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits*. *Food Chemistry*, 105:1151-1158.
- Ortega-Granados J. A. 2010. Informe final de la asignatura Estancia Estudiantil. Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.
- Özcan M. M., Haciseferogullari H. 2007. *The “strawberry” (Arbutus unedo L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents*. *Journal of Food Engineering*, 78:1022-1028.
- Özkan M., Kirca A., Cemeroglu B. 2004. *Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices*. *Food Chemistry*, 88:591-597.
- Ozdemir M., Floros J. D. 2008. *Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties*. *Journal of Food Engineering*, 34:116-123.
- Park S., Stan S. D, Daeschel M. A., Zhao Y. 2005. *Antifungal coatings on fresh strawberries (Fragaria x ananassa) to control mold growth during cold storage*. *Journal of Food Science*, 70(4):202–207.
- Pérez A. G., Luaces P., Oliva J., Ríos J. J., Sanz C. 2005. *Changes in vitamin C and flavor components of mandarin juice due to curing of fruits*. *Food Chemistry*, 91:19-24.
- PROFEPA. 2010. **PROCUDARÍA FEDERAL DE PROTECCIÓN AL AMBIENTE**. con información de las Delegaciones de la SEMARNAT. Disponible en las Redes Internacionales (*internet*). Consulta: Noviembre de 2010. Dirección electrónica: [http://www.profepa.gob.mx/innovaportal/v/3274/1/mx.wap/lista_flota_camaronera_mexicana_para_exportar_a_estados_unidos.html]
- Ramírez-G. R. M., Millán-L. B., Chávez-M. A., Madrazo-V. O., Reyes-T. G., García-V. L., Gómez-H. L., Rodríguez-M. I., Cruz-C. A., Hernández-U. M. C. 2008. *Manual de Prácticas de Microbiología General*. Facultad de Química, UNAM. Pp. 37, 105. México D. F. México.
- Saari N., Osma A., Selamart J., Fujita S. 1999. *Ascorbate oxidase from starfruit (Averrhoa carambola): preparation and its application in the determination of ascorbic acid from fruit juices*. *Food Chemistry*, 66:57-61.
- SAGARPA. 2010. *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP)* con información de las Delegaciones de la SAGARPA. Disponible en las Redes Internacionales (*internet*). Consulta: Junio de 2010. Dirección electrónica: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=197]

- Sansal Ü., Somer G. 1997. *The kinetics of photosensitized decomposition of ascorbic acid and the determination of hydrogen peroxide as a reaction product*. *Food Chemistry*, 1:81-86.
- Sarabia-Bañuelos, P. 2011. *Aprovechamiento integral de residuos de crustáceos: obtención de quitina y quitosana del cefalotórax de camarón por métodos ecológicos*. Tesis de Maestría en Ciencias. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, UNAM, Facultad de Química. México, D. F. México.
- SENASICA. 2010. *Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria*. Disponible en las Redes Internacionales (*internet*). Consulta: Noviembre 2010. Dirección electrónica: [<http://www.senasica.gob.mx/?idnot=660>]
- Shin Y., Liu R. H., Nock J. F., Holliday D., Watkins C. B. 2007. *Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity strawberry*. *Postharvest Biology and Technology*, 45: 349-357.
- Shin Y., Ryu J-A., Liu R. H., Nock J. F., Watkins C. B. 2008. *Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit*. *Postharvest Biology and Technology*, 49: 201-209.
- Skjak-Braek G., Anthonsen T., Sandford P. 1989. *Chitin and chitosan: Sources, chemistry, biochemistry, physical properties and applications*. Elsevier Applied Science. 835 pp. ISBN: 1-85166-395-9. Ciudad, país de edición.
- Sobral P. J. A., Menegalli F. C., Hubinger M. D., Roques M. A. 2001. *Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films*. *Food Hydrocolloids*, 15:423-432.
- Tanada-Palmu P., Helén H., Hyvönen L. 2000. *Preparation, properties and applications of wheat gluten edible films*. *Agricultural and Food Science in Finland*, 9:23-35.
- Tee E. S., Young S. I., Ho S. K., Mizura S. S. 1988. *Determination of vitamin C in fresh fruits and vegetables using the dye-titration and microfluorometric methods*. *Pertanika*, 11:39-44.
- Terefe N. S., Matthies K., Simons L., Versteeg C. 2009. *Combined high pressure-mild temperature processing for optimal retention physical and nutritional quality of strawberries (Fragaria x ananassa)*. *Innovative Food Science and Emerging Technology*, 10:297-307.
- Vásconez M. B., Flores S. K., Campos C. A., Alvarado J., Gerschenson L. N. 2009. *Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings*. *Food Research International*, 42:762-769.

- Vaz C. M., Fossen M., Van Tuil R. F., De Graaf L. A., Reis R. L., Cunha A. M. 2003. *Casein and soybean protein-based thermoplastics and composites as alternative biodegradable polymers for biomedical applications*. *Casein and soybean protein Polymers*, Wiley Periodicals, 59-70.
- Velázquez M. A., Machuca J. L., Pimentel E. 2008. *Agronomía de la fresa. Principios y nuevas tecnologías*. Instituto Politécnico Nacional, Primera edición. ISBN: 978-607-414-000-2. pp- 220. México., D.F.
- Vu K. D., Hollingsworth R. G., Leroux E., Salmieri S., Lacroix M. 2011. *Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries*. *Food Research International*, 44:198-203.
- Waliszewski K. N., Pardo V. T., Ramírez M. 2002. *Effect of chitin on color during osmotic dehydration*. *Drying Technology*, 20:719-726.
- Zoldners J., Kiseleva T., Kaiminsh I. 2005. *Influence of ascorbic acid on the stability of chitosan solution*. *Carbohydrate Polymers*, 60:215-218.